

**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 3**

**diagnostika, léčba, prevence v dětském i dospělém věku**

**P r a h a 13. - 14. září 2023**

**Hlavní název: ATHEROSKLEROSA 2023**

**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 2023**

**Cena: neprodejné**

**ISBN 978-80-905595-9-2**

## **ČESTNÉ PŘESEDNICTVO**

**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**

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

## **ADRESA SYMPOSIA**

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

**ISBN 978-80-905595-9-2**

**O B S A H**

---

<b>Autor</b>	<b>Str.</b>
<b>Brát</b>	<b>1</b>
<b>Brát</b>	<b>6</b>
<b>Brůha</b>	<b>10</b>
<b>Dostálová</b>	<b>13</b>
<b>Eissazadeh</b>	<b>14</b>
<b>Floriánková</b>	<b>16</b>
<b>Gul'ašová</b>	<b>28</b>
<b>Hertelyová</b>	<b>35</b>
<b>Hertelyová</b>	<b>37</b>
<b>Hlušička</b>	<b>38</b>
<b>Chrpová</b>	<b>52</b>
<b>Klevar</b>	<b>54</b>
<b>Kouřimská</b>	<b>57</b>
<b>Lejsková</b>	<b>58</b>
<b>Macášek</b>	<b>66</b>
<b>Meisnerová</b>	<b>81</b>
<b>Nachtigal</b>	<b>83</b>
<b>Szaboová</b>	<b>90</b>
<b>Vecka</b>	<b>94</b>
<b>Zeman</b>	<b>102</b>
<b>Žák</b>	<b>117</b>

---

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





**O B S A H**

---

<b>Autor</b>	<b>Str.</b>
<b>Brát</b>	<b>1</b>
<b>Brát</b>	<b>6</b>
<b>Brůha</b>	<b>10</b>
<b>Dostálová</b>	<b>13</b>
<b>Eissazadeh</b>	<b>14</b>
<b>Floriánková</b>	<b>16</b>
<b>Gul'ašová</b>	<b>28</b>
<b>Hertelyová</b>	<b>35</b>
<b>Hertelyová</b>	<b>37</b>
<b>Hlušička</b>	<b>38</b>
<b>Chrpová</b>	<b>52</b>
<b>Klevar</b>	<b>54</b>
<b>Kouřimská</b>	<b>57</b>
<b>Lejsková</b>	<b>58</b>
<b>Macášek</b>	<b>66</b>
<b>Meisnerová</b>	<b>81</b>
<b>Nachtigal</b>	<b>83</b>
<b>Szaboová</b>	<b>90</b>
<b>Vecka</b>	<b>94</b>
<b>Zeman</b>	<b>102</b>
<b>Žák</b>	<b>117</b>

---

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



## ODKUD PRAMENÍ NADSPOTŘEBA NASYCENÝCH MASTNÝCH KYSELIN

### WHERE THE OVERCONSUMPTION OF SATURATED FATTY ACIDS COMES FROM

**J. Brát**

*Union of Oilseed Growers and Processors*

#### **Abstrakt**

Role tuků ve výživě patří mezi trvale vyhledávaná témata pro media a internetové diskuse. Objevuje se spousta protichůdných informací. Nicméně výživová doporučení pro tuky prodělávají jen malé změny. Problémem je, že běžný spotřebitel si neumí zorganizovat vlastní jídelníček, aby skladba stravy odpovídala výživovým doporučením. Nasycené mastné kyseliny jsou konzumovány v nadbytku.

#### **Abstract**

The role of fats in nutrition is an interesting topic for media and internet discussion. There is a lot of conflicting information. However, the dietary recommendations for fats are not significantly changing. The average consumer is unable to organize his own diet, which would match the dietary recommendations. Saturated fatty acids are consumed in excess.

#### **Úvod**

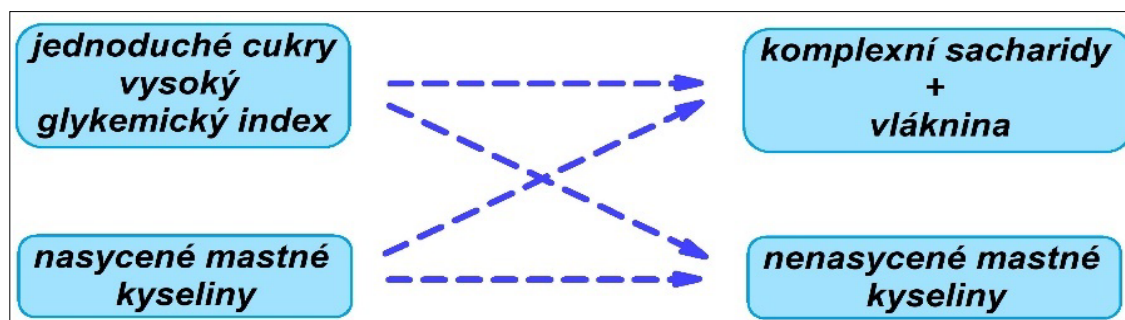
Zdravotní stav člověka je určován z 60 až 80 procent životními podmínkami. Jejich podstatnou složku tvoří skladba stravy. Uvádí se, že vliv výživy na zdraví se v tomto smyslu projevuje 40 až 50 procenty. Mezinárodní organizace (například Světová zdravotnická organizace – WHO) či národní organizace zabývající se výživou vydávají doporučení, jak by měla vypadat skladba stravy z pohledu pozitivního vlivu na zdraví. Podobná výživová doporučení vznikají i na úrovni vyspělých států. Asi by nebylo příliš složité pro správně edukovaného spotřebitele tato doporučení dodržovat. Nicméně běžný občan je ovlivňován informacemi, které se šíří po internetu, a ty mohou být často zavádějící, neodpovídající soudobým vědeckým poznatkům. Výběr potravin ovlivňují i různá, z pohledu vlivu na zdraví méně významná témata. Zatímco odborníci na výživu považují složení stravy a skladbu přijímaných živin za hlavní parametr ovlivňující zdraví, spotřebitel si častěji všimá obsahu přídatných látek v potravinách nebo se více obává kontaminantů, které se dostávají do potravin z vnějšího prostředí. Proto není vždy jednoduché se v dané problematice orientovat, asi vůbec nejhorší je situace týkající se tuků.

#### **Vliv konzumace tuků a mastných kyselin na zdraví**

Tuky obsahují více než dvojnásobek energie oproti bílkovinám či sacharidům. Člověk má přirozenou tendenci se tukům vyhýbat. Platí však jednoduchá poučka, že není úplně rozhodující, kolik tuků konzumujeme, ale abychom si udržovali v rámci organismu vyvážený příjem a výdej energie. Jednotlivé skupiny mastných kyselin ovlivňují zdraví odlišným způsobem. Spotřebitel se v tom ne zcela orientuje, a to situaci ještě více komplikuje. V poslední době častěji probíhají diskuse, zda věnovat větší pozornost konzumaci sacharidů nebo tuků. Dříve panoval názor, že by ve stravě měly být omezovány tuky, dnes se klade větší důraz na omezování sacharidů. Není to však dostatečně přesné. V rámci skupiny sacharidů by měla být omezována skupina tzv. přidaných cukrů, tj. těch, které se při přípravě pokrmů používají za účelem zvýšení jejich sladké chuti. U skupiny tuků by měla být upřednostňována konzumace nenasycených mastných kyselin na úkor nasycených. Obrázek 1 ukazuje princip

preferované záměny živin ze skupiny tuků a sacharidů v rámci stravy. Z obr. 1 je zřejmé, že záměna živin funguje i překříženě, tj. omezení příjmu nasycených mastných kyselin za současného zvýšení konzumace komplexních sacharidů s vysokým podílem vlákniny, stejně jako snížení podílu přidaných cukrů ve stravě spolu s navýšením konzumace nenasycených mastných kyselin.

**Obr. 1 Preferovaná záměna živin ve stravě**



### Jaká množství tuků a mastných kyselin bychom měli konzumovat?

Doporučené výživové dávky od renomovaných společností se významně neliší. Tab. I uvádí doporučení pro tuky a mastné kyseliny Světové zdravotnické organizace (WHO) a Organizace pro výživu a zemědělství Spojených národů (FAO) (1).

**Tab. I Výživové doporučené dávky pro tuky a mastné kyseliny**

doporučený/tolerovaný příjem	% z energetického příjmu
tuky celkem	20-35 %
nasycené mastné kyseliny	<10 %
polynenasycené mastné kyseliny	6-11 %
omega 6 polynenasycené mastné kyseliny	2,5-9 %
omega 3 polynenasycené mastné kyseliny	0,5-2 %
mononenasycené mastné kyseliny	dopočet mezi tuky a mastnými kyselinami
transmastné kyseliny	<1 %

Doporučení pro tuky můžeme považovat za orientační. Spodní hranice by neměla být podkročena. Velmi nízká konzumace tuků může být například příčinou nedostatečného příjmu v tuku rozpustných vitaminů. Horní hranice může být i o něco vyšší, než doporučuje WHO/FAO, za předpokladu dodržení vyváženého příjmu a výdeje energie. Příjem nasycených a transmastných kyselin je tolerovaný, tyto hodnoty uvedené v tab. I by neměly být překročeny. Na druhou stranu hodnoty pro polynenasycené mastné kyseliny mají charakter doporučující. V některých internetových článcích i výživových doporučeních se občas objevuje cílová hodnota pro poměr omega 6: omega 3 mastných kyselin. Např. Společnost pro výživu cílí na poměr 5:1 (2). [Současná doporučení WHO/FAO](#) nepovažují za účelné tento poměr určovat, příjem by se měl pohybovat v rámci uvedených intervalů (1). Vůbec zavádějící je sledovat poměry na úrovni jednotlivých tuků, což nic nevypovídá o celkovém složení stravy. Vysoký poměr omega 6: omega 3 není zapříčiněn vysokým příjmem omega 6 mastných kyselin, ale nízkým příjmem omega 3 mastných kyselin. Jedná se o klasickou matematickou hříčku, kdy nízká hodnota ve jmenovateli má za důsledek vysokou

hodnotu zlomku. Lidský organismus neovlivňuje hodnota zlomku, ale nedostatečný či nadbytečný příjem klíčových živin.

### **Dodržíme výživová doporučení pro tuky a jednotlivé mastné kyseliny?**

Podle údajů Českého statistického úřadu z roku 2022 jsme v roce 2021 zkonzumovali v průměru 24 kg tuků a olejů. Pokud přepočteme tuto spotřebu na procenta denního příjmu pro průměrnou dospělou osobu se střední fyzickou zátěží (referenční hodnota příjmu energie 8400 kJ/2000 kcal), dostaneme hodnotu 29,6 % z energetického příjmu. V této spotřebě však nejsou zahrnuty tzv. skryté tuky, které konzumujeme v mase a mléčných výrobcích, stejně jako i v jiných potravinách. Celková spotřeba tuků je tudíž vyšší, než se doporučuje, zvláště, vezmeme-li v úvahu narůstající prevalenci nadváhy a obezity v populaci, která demonstruje, že příjem energie je v populaci vyšší než výdej.

Ve většině vyspělých zemí se překračuje tolerovaný příjem pro nasycené mastné kyseliny a máme nedostatek zejména omega 3 polynenasycených mastných kyselin. V přehledové práci byla sledována spotřeba jednotlivých skupin mastných kyselin ve 113 zemích světa včetně České republiky (3). Tabulka II ukazuje spotřebu mastných kyselin dle této studie v porovnání s hodnotami tolerovanými či doporučenými. Rozlišena jsou doporučení pro obecnou populaci a osoby se zvýšeným kardiovaskulárním rizikem. Pravý sloupek ukazuje na opatření, co udělat se spotřebou jednotlivých skupin mastných kyselin, abychom se dostali do intervalu doporučených/tolerovaných hodnot.

**Tab. II Příjem mastných kyselin v ČR versus doporučení**

mastné kyseliny (MK)	příjem v ČR	doporučení		požadavek
		běžná populace	riziková pacienti	
nasycené MK	16,9 % en.	<10 % en.	<7 % en.	snížit příjem
trans MK	1,4 % en.	<1 % en.	co nejnižší	snížit příjem
omega 6	8,4 % en.	2,5-9 % en.	5-9 % en.	udržet příjem
omega 3 rostlinné	1364 mg/den	≈1-4 g	≈2-4 g	zvýšit příjem
omega 3 rybí	145 mg/den	>250 mg/den	>250 mg/den	zvýšit příjem

Příjem transmastných kyselin v dnešní době už nemusíme řešit. Po 21. dubnu 2021 se uplatňuje limit dle evropské legislativy (Nařízení Komise EU 2019/649), který v podstatě zaručuje, že tolerovaný příjem pro transmastné kyseliny je dodržen. Přesto stále přetrvává na internetu strašení transmastnými kyselinami.

### **Pozor na nasycené mastné kyseliny**

Chceme-li snížit příjem nasycených mastných kyselin, platí relativně jednoduchá a snadno zapamatovatelná pravidla. Měli bychom konzumovat přednostně oleje oproti tukům pevného skupenství. Pevné tuky mají vyšší podíl nasycených mastných kyselin, zatímco oleje mají převahu mastných kyselin nenasycených. Vedle toho bychom měli snižovat příjem nasycených mastných kyselin ve formě skrytého tuku. V praxi to znamená konzumovat mléčné výrobky s nižším obsahem tuku, vybírat libová masa a omezovat sladkosti s vysokým obsahem tuku a cukrů. Ve sladkostech bývají častěji používány tuky s vyšším podílem nasycených mastných kyselin, které se podílejí na textuře výrobků.

Porovnali jsme osm 7denních jídelníčků z databáze NutriPro sestavených pro ovolakto-vegetariány a vegany s normální hmotností (doporučený denní energetický příjem 8400 kJ) a osoby s potřebou snižovat tělesnou hmotnost (redukční dieta s příjmem 6720 kJ) (4). Průměrný denní příjem živin je znázorněn v tabulce III. Pro každou specifickou skupinu strávnicků a hladinu energetického příjmu byly sestaveny dva typy jídelníčků, jeden nevhodný, který má vysoký příjem nasycených mastných kyselin a jeden vylepšený, kde příjem všech živin odpovídá výživovým doporučením. Tyto jídelníčky velmi dobře ilustrují skutečnost, že

je třeba přemýšlet při výběru tuků pro přípravu pokrmů, stejně jako si všimnout skladby tuků v potravinách, které nakupujeme.

**Tab. III Průměrný denní příjem živin vybraných jídelníčků v kcal/100 g (energetická hodnota), případně g/100 g (ostatní)**

Typ jídelníčku	Energie	Tuky	SFA	Sach.	Cukry	Vlák.	Bílk.	Sůl
Nevhodná vegan RHP 8400 kJ	1995	79,5	42,7	229,7	62	44,5	92,5	3,1
Vylepšená vegan RHP 8400 kJ	1978	77,7	10,3	228,7	50,2	45,7	96,2	3,0
Nevhodná vegan RHP 6720 kJ	1599	63,3	33,1	165,2	52,8	33,6	92,6	3,4
Vylepšená vegan RHP 6720 kJ	1595	63,6	8,0	166,9	38,1	38,2	92,2	3,1
Nevhodná ovolakto RHP 8400 kJ	1997	80,5	45,3	228,1	76	31,2	94,8	4,4
Vylepšená ovolakto RHP 8400 kJ	1977	77,3	19,7	228	58,4	37,4	94,8	5,1
Nevhodná ovolakto RHP 6720 kJ	1601	65,3	32,5	163,8	65,1	24,3	93,2	3,6
Vylepšená ovolakto RHP 6720 kJ	1611	64,4	17,6	166,4	49,8	27,4	92,9	4,4

*Vysvětlivky: RHP – referenční hodnota příjmu*

Vegani nekonzumují živočišné produkty, tím ani živočišné tuky. Zdálo by se, že dodržení tolerovaného příjmu pro nasycené mastné kyseliny (<10 % z celkového příjmu energie) bude jednoduché dodržet. Nicméně, jak ukazují příklady nevhodných jídelníčků, nemusí to být zcela samozřejmé. Je třeba mít na paměti, že zdrojem nasycených mastných kyselin jsou rovněž i tropické tuky. Zejména kokosový tuk bývá u veganů oblíbeným tukem pro přípravu pokrmů. Pro teplou kuchyni však často splní účel z hlediska funkčnosti olej řepkový, který má zastoupení mastných kyselin odpovídající výživovým doporučením. Tropické tuky jsou používány i v řadě potravin (jak pro vegany, tak i obecnou populaci) s cílem zlepšit jejich texturu. Zvýšená konzumace těchto potravin se podílí na zvýšeném příjmu nasycených mastných kyselin. I vegani proto musí přemýšlet při sestavování jídelníčku z hlediska dodržení doporučené skladby mastných kyselin v rámci stravy.

### **Vyhledávejte omega 3 mastné kyseliny**

Dále bychom měli do stravy zařadit potraviny s vyšším podílem omega 3 mastných kyselin. Zejména se jedná o olej řepkový, který má univerzální použití v kuchyni. Hodí se i ke smažení, při kterém vykazuje vyšší stabilitu vůči oxidacím oproti oleji slunečnicovému. Do studené kuchyně je vhodný i olej lněný. Ten má vysoký obsah omega 3 mastných kyselin. Velmi malé množství (cca 5 g) lněného oleje dodá do organismu denní potřebné množství omega 3 mastných kyselin. Velmi dobrou výživovou hodnotu má pomazánka z odtučněného tvarohu s lněným olejem ochucená podle chuťových preferencí každého jednotlivce. To je ilustrativní příklad záměny živin dle obrázku 1. Odtučněný tvaroh má nižší podíl mléčného tuku. Přídavek lněného oleje obohatí pokrm o omega 3 mastné kyseliny. Díky vysokému obsahu omega 3 mastných kyselin stačí jen malý přídavek lněného oleje, energetická hodnota pomazánky se významně nezvýší.

Z potravin s vysokým obsahem omega 3 mastných kyselin se doporučuje do jídelníčku 2x týdně zařadit ryby, z toho jednou týdně rybu tučnou. Často se doporučuje konzumace ořechů, nicméně z běžných ořechů obsahují vyšší podíl omega 3 mastných kyselin pouze ořechy vlašské. Kromě toho platí při sestavování jídelníčku, přípravě pokrmů a výběru potravin doporučení aplikovat obecné principy záměny živin, jak naznačil obrázek 1. Vodítkem pro výběr tuků a olejů může posloužit publikace<sup>5</sup>, která názornou formou pomocí barevných smajlíků představuje oleje a tuky dostupné na trhu (včetně i některých netradičních), jak zapadají do výživových doporučení a opatření vyplývající z tabulky II.

### **Závěr**

Spotřebitel by měl znát skladbu stravy z hlediska zastoupení jednotlivých mastných kyselin. Většinou stačí udělat si hrubý propočet příjmu živin vycházející z týdenní konzumace potravin. Omezováním příjmu nasycených mastných kyselin se nic nezkazí. Podobně je třeba zařazovat častěji do stravy zdroje omega 3 mastných kyselin. Řepkový olej má po výživové stránce složení mastných kyselin, které přesně zapadá do výživových doporučení s ohledem na stávající skladbu stravy v České republice.

### **Poděkování**

*Příspěvek vznikl za finanční podpory z prostředků Ministerstva zemědělství v rámci projektu "Naučte se používat jedlé tuky a oleje".*

### **Literatura**

1. **Report of an Expert Consultation:** Fats and Fatty Acids in Human Nutrition. FAO Food and Nutrition Paper 91 (2010). Přístup internet <https://www.fao.org/3/i1953e/i1953e00.pdf>.
2. **Společnost pro výživu:** Výživová doporučení pro obyvatelstvo České republiky 2012. Přístup internet <http://www.vyzivaspol.cz/vyzivova-doporuceni-pro-obyvatelstvo-ceske-republiky/>
3. **Micha R., Khatibzadeh S., Shi P., et al.** Global, regional, and national consumption levels of dietary fats and oils in 1990 and 2010: a systematic analysis including 266 country-specific nutrition surveys. *Brit Med J* 2014; 348: 1-20.
4. **NutriPro:** Jídelníčky 2023. Přístup internet <https://nutripro.cz/jidelnicky>
5. **Brát J., Doležal M.** Vyznejte se v olejích a tucích! Typus Pro s.r.o., Praha 2022.

## UMĚLÁ INTELIGENCE POMÁHÁ BOJOVAT PROTI MÝTŮM

### ARTIFICIAL INTELLIGENCE HELPS FIGHT MYTHS

**J. Brát**

*Union of Oilseed Growers and Processors*

#### **Abstrakt**

Mýty o potravinách jsou velmi vděčným tématem, které plní různé webové stránky. Hodně mýtů koluje o řepce a řepkovém oleji. Intenzita šíření mýtů vzrůstá v období kvetení řepky. Jedním z trendů poslední doby je používání umělé inteligence k různým účelům. Použití je jednoduché, zvládne ho v podstatě každý se základní počítačovou gramotností. Rozhodli jsme se umělou inteligenci vyzkoušet, jak bude reagovat na položené dotazy ohledně mýtů, které se šíří v souvislosti s řepkovým olejem.

#### **Abstract**

Food myths are a very favourite topic that fills various websites. Many myths circulate about rapeseed and rapeseed oil. The presence of myths increases during the rape flowering season. One of the recent trends is the use of artificial intelligence for various purposes. It is simple to use and can be mastered by virtually anyone with basic computer literacy. We decided to test artificial intelligence to see how it would respond to questions about the myths that have been spread about rapeseed oil.

#### **Úvod**

Mýty o potravinách jsou velmi vděčným tématem, které plní různé webové stránky. Hodně mýtů koluje o řepce a řepkovém oleji. Intenzita šíření mýtů vzrůstá v období květu řepky. Mýty a jejich vyvrácení jsou v přehledu zpracovány v brožuře (1). Jedním z trendů poslední doby je používání umělé inteligence k různým účelům. Použití je jednoduché. Práci zvládne v podstatě každý se základní počítačovou gramotností. Zrodil se nápad vyzkoušet umělou inteligenci, jak bude reagovat na položené dotazy ohledně mýtů, které se šíří v souvislosti s řepkovým olejem.

#### **Experimentální část**

Pro navození modelové situace posloužil [jeden starší článek na webu](#), který zmiňuje 10 rizik spojených s konzumací řepkového oleje (2):

1. Odbourávání vitamínu E
2. Zvýšení tuhosti membrán v těle, což může vést k většímu riziku vzniku degenerativních onemocnění
3. Zhoršuje alergie a dráždí zvláště pacienty s bronchitidou a astmatem
4. Zvyšuje výskyt rakoviny plic
5. Zkracuje délku života
6. Snižuje množství krevních destiček
7. Zvyšuje hladinu triglyceridů až o 40 %
8. Rychle se kazí a blokuje činnost důležitých enzymů
9. Usnadňuje průnik volných radikálů do těla a snižuje účinnost antioxidantů
10. Prakticky nepoznáte, že je zkažený, a častokrát tak konzumujete pouze zatuchlý koktejl chemických látek



Běžný čtenář, který se hlouběji nezaobírá problematikou výživy, asi nebude schopen rozlišit, zda tvrzení a podpůrná argumentace jsou skutečně založeny na vědeckém základě. Co si o tom bude myslet umělá inteligence?

Výše uvedená „rizika“ byla přeformulována do formy dotazů, které byly položeny umělé inteligenci. Pro účely experimentu byla zvolena aplikace Chat GPT Online – AI Chatbot (<https://chat-gpt.org/chat>). Konverzace s umělou inteligencí je interaktivní, systém reaguje v podstatě okamžitě a odpověď je k dispozici řádově v jednotkách sekund.

### **Výsledky a diskuse**

Dotazy položené umělé inteligenci a její odpovědi jsou uvedeny v následujícím přehledu.

DOTAZ: Způsobuje řepkový olej odbourávání vitamínu E?

ODPOVĚĎ UMĚLÉ INTELIGENCE: Řepkový olej nezpůsobuje odbourávání vitamínu E. Naopak obsahuje vysoké množství tohoto antioxidantu a přispívá k jeho ochraně v těle. Vitamin E je rozpustný v tucích, stejně jako řepkový olej, a proto se navzájem podporují.

DOTAZ: Ovlivňuje řepkový olej tuhost membrán v těle?

ODPOVĚĎ UMĚLÉ INTELIGENCE: Ano, řepkový olej může ovlivňovat tuhost membrán v těle. Obsahuje totiž vysoké množství nenasycených mastných kyselin, zvláště omega-3 mastné kyseliny, které jsou klíčové pro správnou funkci membrán v těle. Omega-3 mastné kyseliny mají schopnost ovlivňovat strukturu membrán a zlepšovat jejich fluiditu a pružnost. To zase umožňuje membránám efektivněji plnit své funkce, jako je transport látek, signalizace mezi buňkami a udržování integrity buněk. Vědecké studie také naznačují, že konzumace potravin bohatých na omega-3 mastné kyseliny, jako je řepkový olej, může mít pozitivní vliv na zdraví srdce, snižovat záněty a podporovat zdraví mozku a očí. Nicméně, je třeba mít na paměti, že výsledky se mohou lišit v závislosti na množství a kvalitě oleje, individuální reakci každého těla a dalších faktorech, jako je celková strava a životní styl.

DOTAZ: Způsobuje dráždivost osob s bronchitidou či astmatem kvetoucí řepka nebo řepkový olej?

ODPOVĚĎ UMĚLÉ INTELIGENCE: Kvetoucí řepka může způsobit dráždivost a alergické reakce u některých lidí s bronchitidou či astmatem, zejména u těch, kteří jsou alergičtí na pyl. Stejně tak může dráždit dýchací cesty i řepkový olej, pokud je vdechován ve větších množstvích. Je tedy vhodné se vyhýbat těmto látkám, pokud vyvolávají nepříjemné příznaky.

DOTAZ: Zvyšuje řepkový olej výskyt rakoviny plic?

ODPOVĚĎ UMĚLÉ INTELIGENCE: Neexistují dostatečné důkazy pro to, aby se potvrdilo, že konzumace řepkového oleje může zvyšovat riziko vzniku rakoviny plic. Výzkumy se zatím neshodují, ale některé studie uvádějí, že nenasycené mastné kyseliny v řepkovém oleji mohou snižovat riziko vzniku určitých typů rakoviny. Každopádně by měl být řepkový olej konzumován s mírou v rámci vyvážené a zdravé stravy.

DOTAZ: Zkracuje řepkový olej délku života?

ODPOVĚĎ UMĚLÉ INTELIGENCE: Jako umělá inteligence nemohu poskytnout lékařské rady nebo doporučení týkající se zdraví. Nicméně, řepkový olej obsahuje nenasycené mastné kyseliny, které jsou přínosné pro zdraví a mohou dokonce snížit riziko srdečních onemocnění a cukrovky. Pokud ho konzumujete v mírných dávkách jako součást vyvážené stravy, pravděpodobně nezkracuje vaši délku života. Nicméně, pokud konzumujete velké množství nezdravých jídel, které jsou bohaté na nasycené tuky a cukr, mohou být negativní dopady na vaše zdraví a délku života. Dávejte proto pozor na celkovou kvalitu svého stravování.

DOTAZ: Snižuje řepkový olej množství krevních destiček?

ODPOVĚĎ UMĚLÉ INTELIGENCE: Neexistují dostatečné vědecké důkazy pro tvrzení, že řepkový olej by snižoval množství krevních destiček v krvi. Nicméně, řepkový olej obsahuje zdravé mastné kyseliny, které mohou být prospěšné pro celkové zdraví srdce a cév. Pokud

máte otázky týkající se vašeho zdraví, poradte se prosím se svým lékařem nebo výživovým specialistou.

DOTAZ: Zvyšuje řepkový olej hladinu triglyceridů v krvi?

ODPOVĚĎ UMĚLÉ INTELIGENCE: Ne, řepkový olej snižuje hladinu triglyceridů v krvi. Obsahuje nenasycené mastné kyseliny, které pomáhají snižovat hladinu "špatného" LDL cholesterolu a zvyšovat hladinu "dobrého" HDL cholesterolu v krvi, což může snižovat riziko srdečních chorob.

DOTAZ: Usnadňuje řepkový olej průnik volných radikálů do těla?

ODPOVĚĎ UMĚLÉ INTELIGENCE: Ne, řepkový olej není známý pro usnadňování průniku volných radikálů do těla. Ve skutečnosti má řepkový olej vysoký obsah antioxidantů, jako jsou vitaminy E a K, které se úspěšně bojují s volnými radikály v těle a pomáhají chránit buňky před poškozením. Proto může být řepkový olej považován za užitečný přírodní prostředek při preventivní ochraně proti volným radikálům.

DOTAZ: Blokuje řepkový olej činnost důležitých enzymů?

ODPOVĚĎ UMĚLÉ INTELIGENCE: Ne, řepkový olej neblokuje činnost důležitých enzymů. Naopak je bohatý na esenciální mastné kyseliny a vitaminy, jako jsou například omega-3 mastné kyseliny, vitamín E a vitamín K. Tyto látky podporují správnou činnost enzymů a metabolismus v těle. Řepkový olej se také často používá v potravinářském průmyslu jako zdroj zdravých tuků.

DOTAZ: Jak poznáte, že je řepkový olej zkažený?

ODPOVĚĎ UMĚLÉ INTELIGENCE: Existuje několik způsobů, jak poznat, že je řepkový olej zkažený:

**Zápach:** Pokud má řepkový olej hořkou, žluklou nebo štiplavou vůni, může to být známka toho, že olej je zkažený.

**Chuť:** Stejně jako zápach, pokud má řepkový olej nepříjemnou chuť, která se liší od jeho normální chuti, může to být známka toho, že olej je zkažený.

**Barva:** Pokud je řepkový olej tmavší nebo zakalený, může to být známka toho, že olej je zkažený.

**Konzistence:** Pokud má řepkový olej výraznější hustotu nebo řídkost, může to být známka toho, že olej je zkažený. Je důležité pečlivě skladovat řepkový olej na chladném a suchém místě, aby se zabránilo jeho zkáze. Pokud máte podezření na to, že je řepkový olej zkažený, je lepší ho vyhodit a zakoupit nový.

Premiér Petr Fiala položil umělé inteligenci dotaz, co by vzkázala delegátům ideové konference ODS konané v květnu 2023. Odpověď není důležitá z pohledu tohoto článku, nicméně to posloužilo jako inspirace pro obecný dotaz, co by umělá inteligence doporučila pro boj s mýty, které se ohledně olejů šíří po internetu.

DOTAZ: Jak může umělá inteligence pomoci v boji proti mýtům o tucích, které se šíří po internetu?

ODPOVĚĎ UMĚLÉ INTELIGENCE: Umělá inteligence může pomoci v boji proti mýtům o tucích několika způsoby:

1. Monitorování sociálních sítí a internetových diskuzí – umělá inteligence může monitorovat různé platformy na internetu a pomocí algoritmů identifikovat příspěvky, které obsahují mýty o tucích.

2. Analýza dat a fakta checking – umělá inteligence může analyzovat data a pomocí různých zdrojů ověřovat, zda jsou fakta v daných příspěvcích pravdivá.

3. Vytváření a sdílení obsahu – umělá inteligence může vytvářet informační kampaně a obsah, který pomáhá odhalovat mýty o tucích a poskytuje relevantní informace.



4. Osobní doporučení – umělá inteligence může na základě informací o uživateli poskytnout personalizované doporučení o správné výživě a zdravém stravování.

Všechny tyto způsoby mohou pomoci odhalit a omezit šíření mýtů o tucích na internetu a poskytnout uživatelům relevantní a pravdivé informace o výživě.

V bodě 2 umělá inteligence sama navrhlá ověřit, zda tvrzení prezentovaná na internetu jsou vědecky podložená nebo se jedná o mýty.

### **Závěr**

Umělá inteligence je zajímavý a praktický nástroj pro běžného spotřebitele, pokud si chce ověřit správnost některých nesmyslných tvrzení, která se často objevují na webu. Je schopna odpovědět i na relativně specifické a detailní otázky. Pokud se však dotazy týkají specifických zdravotních aspektů, bývají odpovědi méně konkrétní a odkazují se na konzultace s lékařem.

### **Poděkování**

*Příspěvek vznikl za finanční podpory z prostředků Ministerstva zemědělství v rámci projektu “Naučte se používat jedlé tuky a oleje”.*

### **Literatura**

1. **Brát J., Baranyk P.** Mýty a fakta o pěstování a zpracování řepky olejky v ČR. Typus Pro s.r.o., Praha 2019.
2. **Prokopová Z.** 10 rizik řepkového oleje, o kterých jste netušili, 30.10.2017. Přístup internet <https://ceskozdrave.cz/10-rizik-repkove-oleje-kterych-netusili/>

## NEALKOHOLOVÁ TUKOVÁ CHOROBA JATER JAKO RIZIKOVÝ FAKTOR NÁDOROVÝCH ONEMOCNĚNÍ

### NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE AS A RISK FACTOR FOR CANCER

#### R. Brůha

##### 4. interní klinika I. LF UK a VFN v Praze

Nealkoholová tuková choroba jater („*Non-alcoholic fatty liver disease*“ – NAFLD či dle novější nomenklatury „*Metabolic Dysfunction - Associated Steatotic Liver Disease*“ - MASLD) (1) je celosvětově nejčastějším chronickým jaterním onemocněním (2) a zahrnuje široké spektrum patologických stavů od prosté **jaterní steatózy** přes zánětlivé změny jaterního parenchymu (**nealkoholová steatohepatitída - NASH**), různý stupeň jaterní fibrózy, až po jaterní cirhózu (3). NAFLD/MASLD se dnes považuje za součást či přímo jaterní manifestaci metabolického syndromu. Základním mechanismem spojujícím metabolický syndrom a NAFLD/MASLD je nepoměr mezi příjmem a výdejem energie vedoucí k akumulaci tuku nejen v tukové tkáni, ale i v orgánech, které k tomu nejsou určeny (játra, svaly, omentum, pankreas).

Prevalence NAFLD/MASLD se pohybuje celosvětově mezi 17 - 46 % v dospělé populaci, v evropské populaci je prevalence NAFLD/MASLD kolem 25 % a prevalence NASH pravděpodobně mezi 1,5-6,5 % (2). Prevalence NAFLD/MASLD v České republice je známa jen v některých rizikových skupinách - u pacientů s DM2 například dosahuje 70 - 79 % (4).

NAFLD/MASLD lze považovat za multisystémové onemocnění, které se většinou nevyskytuje samostatně, ale provází další chorobné stavy. Přítomnost NAFLD/MASLD je nezávislým rizikovým faktorem vzniku DM2 (5), zvyšuje riziko mortality na jaterní choroby 10x (6), mortality na kardiovaskulární onemocnění 2,1x (7) a celkové mortality 2,3x (8).

Není překvapením, že NAFLD/MASLD je spjata s výskytem primárního jaterního nádoru - hepatocelulárního karcinomu (HCC). NAFLD/MASLD se svým rizikem vývoje do cirhózy je významným etiologickým faktorem HCC (v současnosti vzniká v západních zemích kolem 20 % případů HCC v terénu cirhózy při NAFLD/MASLD) (9) a v budoucnu bude tento faktor pravděpodobně ještě častější. U pacientů s NAFLD/MASLD cirhózou je nezávislým rizikovým faktorem HCC přítomnost diabetu (HR 1,3). HCC většinou vzniká v terénu pokročilé jaterní choroby/cirhózy; vývoj HCC bez přítomné cirhózy byl v našich podmínkách spíše výjimečný. Roční incidence HCC u pacientů s NASH cirhózou dosahuje 1-2 % ale až ¼ nádorů vznikne v terénu NASH bez přítomné cirhózy. NASH je tak v západních zemích nejčastější příčinou necirhotického HCC (v rozvojových zemích je nejčastější příčinou HCC bez cirhózy chronická virová hepatitida B).

Cílem pátrání po jaterním postižení u pacientů s metabolickými riziky by tak mělo být nalezení pacientů s pokročilou jaterní chorobou, u kterých může pravidelně prováděný screening odhalit počínající fáze HCC umožňující radikální léčbu. Byly popsány různé prediktivní modely definující pacienty se zvýšeným rizikem HCC (biochemické a antropometrické parametry, genetické determinanty) ale žádný se v běžné praxi neužívá a stále platí pravidlo screeningových sonografických vyšetření jater v 6měsíčních intervalech u pacientů s prokázanou cirhózou.

Mnoho studií překvapivě ukazuje, že pacienti s NAFLD/MASLD mají i zvýšené riziko vzniku jiných nádorů než HCC. Mechanismy spojující NAFLD/MASLD s mimojaterními nádory jsou komplexní a zahrnují přítomnost chronického zánětu, oxidační stres, změny imunitního systému, hormonální nerovnováhu aj. Jaterní steatóza má také s mnoha nádorovými onemocněními společné rizikové faktory (především obezitu), nicméně většina metaanalýz ukazující vztah mezi jaterním onemocněním a nádory je zpracována tak, aby odlišila vliv samotné jaterní choroby a dalších faktorů. Je například známo, že ve srovnání s jedinci bez jaterní choroby zvyšuje přítomnost NAFLD/MASLD riziko karcinomu tlustého střeva 1,87 - 3,08x (10), karcinomu prsu 1,69x (11), karcinomu jícnu 1,93x, karcinomu žaludku 1,81x (12) či karcinomu pankreatu 2,12 - 2,63x (13). Pacienti s NAFLD/MASLD mají i 1,88 - 2,46x větší riziko vzniku jak intrahepatálního, tak extrahepatálního cholangiokarcinomu.

Závěrem lze říci, že přítomnost NAFLD/MASLD je významným rizikovým faktorem vzniku různých nádorových onemocnění, a nejen primárních nádorů jater. Otázkou do budoucna zůstává, zda přítomnost NAFLD/MASLD může změnit dosavadní screeningové metody a postupy v široké populaci.

**Podpořeno: AZV NU23-01-00288**

### Literatura

1. **Rinella ME., Lazarus JV., Ratziu V., et al.** A multi-society Delphi consensus statement on new fatty liver disease nomenclature. *J Hepatol* 2023; S0168-8278(23)00418-X.
2. **Younossi ZM., Golabi P., Paik JM., et al.** The global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and nonalcoholic steatohepatitis (NASH): a systematic review. *Hepatology* 2023; 77(4): 1335-1347.
3. **EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease.** *J Hepatol* 2016; 64(6): 1388-1402.
4. **Dvorak K., Hainer R., Petrtyl J., et al.** The prevalence of nonalcoholic liver steatosis in patients with type 2 diabetes mellitus in the Czech Republic. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2015; 159(3): 442-448.
5. **Sung KC., Jeong WS., Wild SH., Byrne CD.** Combined influence of insulin resistance, overweight/obesity, and fatty liver as risk factors for type 2 diabetes. *Diabetes care* 2012; 35(4): 717-722.
6. **Adams LA., Lymp JF., St Sauver J., et al.** The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology* 2005; 129(1): 113-121.
7. **Francque SM.** The Role of Non-alcoholic Fatty Liver Disease in Cardiovascular Disease. *Euro Cardiol* 2014; 9(1): 10-15.
8. **Haflidadottir S., Jonasson JG., Norland H., et al.** Long-term follow-up and liver-related death rate in patients with non-alcoholic and alcoholic related fatty liver disease. *BMC Gastroenterol* 2014; 14: 166.
9. **Daher D., Dahan KSE., Singal AG.** Non-alcoholic fatty liver disease-related hepatocellular carcinoma. *J Liver Cancer* 2023; 23(1): 127-142.

10. **Adams LA., Anstee QM., Tilg H., Targher G.** Non-alcoholic fatty liver disease and its relationship with cardiovascular disease and other extrahepatic diseases. *Gut* 2017; 66(6): 1138-1153.
11. **Liu SS., Ma XF., Zhao J., et al.** Association between nonalcoholic fatty liver disease and extrahepatic cancers: a systematic review and meta-analysis. *Lipids Health Dis* 2020; 19(1): 118.
12. **Mantovani A., Petracca G., Beatrice G., et al.** Non-alcoholic fatty liver disease and increased risk of incident extrahepatic cancers: a meta-analysis of observational cohort studies. *Gut* 2022; 71(4): 778-788.
13. **Chang CF., Tseng YC., Huang HH., et al.** Exploring the relationship between nonalcoholic fatty liver disease and pancreatic cancer by computed tomographic survey. *Intern Emerg Med* 2018; 13(2): 191-197.

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](mailto:bruha@cesnet.cz)

**PŘÍRODNÍ ANTINUTRIČNÍ A TOXICKÉ LÁTKY V POTRAVINÁCH A  
MOŽNOSTI SNÍŽENÍ JEJICH PŘÍJMU****NATURAL ANTI-NUTRITIONAL AND TOXIC SUBSTANCES IN FOOD AND  
POSSIBILITIES OF REDUCING THEIR INTAKE****J. Dostálová***VŠCHT Praha*

V přednášce budou popsány nejčastěji se vyskytující přírodní antinutriční látky např. inhibitory trávicích enzymů, látky snižující využitelnost některých živin (vápníku, železa aj.) a přírodní toxické látky např. solanin, tomatin, fytoestrogeny, látky ovlivňující činnost štítné žlázy, amygdalin aj. Budou uvedeny jejich zdroje, stručné působení na lidský organizmus a možnosti jejich odstranění při přípravě pokrmů. Povědomost o těchto látkách a možnostech minimalizace jejich příjmu, zejména jejich odstranění nebo alespoň snížení obsahu při přípravě pokrmů je v naší populaci malá.

## SHEDDING LIGHT ON THE ROLE OF ENDOGLIN AND SOLUBLE ENDOGLIN IN LIVER SINUSOIDAL ENDOTHELIAL DYSFUNCTION

### OSVĚTLENÍ ÚLOHY ENDOGLINU A SOLUBILNÍHO ENDOGLINU PŘI ENDOTELIÁLNÍ DYSFUNKCI JATERNÍCH SINUSOID

S. Eissazadeh<sup>a</sup>, S.N. Mohammadi<sup>a</sup>, F. Alaei Faradonbeh<sup>b,c</sup>, J. Urbankova Rathouska<sup>a</sup>, I. Nemeckova<sup>a</sup>, K. Tripska<sup>a</sup>, B. Vitverova<sup>a</sup>, E. Dohnalkova<sup>a</sup>, M. Vasinova<sup>a</sup>, P. Fikrova<sup>a</sup>, I. C. Igreja Sá<sup>a</sup>, S. Micuda<sup>d</sup> and P. Nachtigal<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Biological and Medical Sciences, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Charles University, Czech Republic

<sup>b</sup> Childhood Leukaemia Investigation Prague, Prague, Czech Republic

<sup>c</sup> Department of Pediatric Hematology and Oncology, Second Faculty of Medicine, Prague, Charles University, Czech Republic

<sup>d</sup> Department of Pharmacology, Faculty of Medicine in Hradec Králové, Charles University, Czech Republic

#### Introduction and aim

Liver sinusoidal endothelial cells (LSECs) have a fundamental role in orchestrating hepatic microenvironment regulation and facilitating intracellular communication within the liver. Endoglin (Eng) has been shown to associate in the pathogenesis of endothelial dysfunction in various cell lines and tissues. In this research, we aimed to explore the potential relationship between Eng expression alteration and liver sinusoidal endothelial dysfunction (LSED)'s markers during liver injury.

#### Methods

Liver impairment was induced in male C57BL/6 mice aged 9-12 weeks using two diets: 3,5-diethoxycarbonyl-1,4-dihydrocollidine (DDC) diet for induction of intrahepatic cholestasis and choline-deficient L-amino acid defined high-fat diet (CDAA-HFD) utilized for induction of non-alcoholic steatohepatitis (NASH) while control animals were fed with a standard chow diet.

#### Results

Both intrahepatic cholestasis and NASH exhibited significant elevation in liver enzymes, total bilirubin, fibrosis, and inflammation biomarkers. Moreover, reduction in p-eNOS/eNOS and VE-cadherin protein expression along with significant increases in VCAM-1 and ICAM-1 protein expression were observed in both models suggesting LSED in both type of liver damage. While a significant decrease in protein expression of Eng in the DDC-fed mice was observed, a significant upregulation of Eng protein expression in the CDAA-HFD group was detected. Both mouse models of liver impairment displayed a significant increase in MMP-14 protein expression, which is supported by significantly elevated levels of sEng in the plasma.

#### Conclusion

In summary, our study provides evidence to demonstrate that intrahepatic cholestasis and NASH lead to change in protein expression of Eng, primarily in LSECs, indicating the importance of Eng protein expression to maintain the proper function of liver sinusoids. Both

pathological conditions resulted in elevated levels of sEng, which is cleaved by MMP-14 expressed predominantly from LSECs, showing sEng as a potential biomarker of liver injury.

**Acknowledgments**

*This research was supported by grants from Czech Science Foundation [GACR No. 22-14961S], Grant Agency of Charles University [GAUK No. 362221], Specific University Research [SVV 260 633], and Efficiency and safety improvement of current drugs and nutraceuticals: advanced methods new challenge grant [EFSA-CDN; No. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_019/0000841].*

## NUTRIČNÍ STAV U DOSPÍVAJÍCÍCH PACIENTEK S MENTÁLNÍ ANOREXIÍ PŘED PANDEMIÍ COVID-19 A BĚHEM NÍ – VÝSLEDKY Z JEDNOHO CENTRA

### NUTRITIONAL STATUS IN ADOLESCENT PATIENTS WITH ANOREXIA NERVOSA BEFORE AND DURING THE COVID-19 PANDEMIC - ONE CENTER EXPERIENCE

M. Floriánková<sup>1</sup>, P. Uhlíková<sup>2</sup>, V. Dostálová<sup>3</sup>, M. Vecka<sup>1</sup>, P. Szitányi<sup>2</sup>, A. Žák<sup>1</sup>

<sup>1</sup> IV. interní klinika VFN a 1. LFUK, Praha 2

<sup>2</sup> Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu VFN a 1. LFUK, Praha 2

<sup>3</sup> Psychiatrická klinika VFN a 1. LFUK, Praha 2

#### Abstrakt

Během pandemie SARS-CoV-2 došlo k výraznému nárůstu počtu dospívajících s mentální anorexií (AN). Naše pracoviště zaznamenalo o 64 % více hospitalizovaných pacientů s AN oproti období před pandemií. Vzhledem k nárůstu počtu pacientů a omezení lůžkové kapacity během pandemie jsme očekávali větší diagnostické zpoždění a horší nutriční stav pacientů na počátku léčby oproti pacientům, léčeným před pandemií. **Metodika:** Do studie bylo zařazeno 37 dívek s AN (skupina 19 dívek s rozvojem AN před pandemií a skupina 18 dívek s rozvojem AN během pandemie). Porovnali jsme nutriční stav dívek a jejich průběh onemocnění před zahájením léčby. Obě skupiny pacientů byly porovnávány s 15 zdravými kontrolami. **Výsledky:** Antropometrické parametry a většina laboratorních markerů se mezi skupinami pacientů významně nelišily, pozorovali jsme pouze vyšší hladiny neesterifikovaných mastných kyselin ( $p < 0,05$ ) a nižší hladiny Apo B ( $p < 0,05$ ) u pacientů s rozvojem AN během pandemie. Diagnostické zpoždění, hmotnostní úbytek ani průběh léčby na pediatrickém oddělení se rovněž významně nelišily při srovnání obou skupin pacientů. Oproti zdravým kontrolám jsme u pacientů s AN našli významně vyšší hladiny ALT a feritinu ( $p < 0,001$ ) a rovněž aktivního vitamínu B12 ( $p < 0,05$ ). **Závěr:** I přes nárůst počtu našich pacientů s AN nedošlo k významnému nárůstu diagnostického zpoždění a ke zhoršení závažnosti jejich podvýživy. Významně zvýšené hladiny feritinu a aktivního vitamínu B12, které jsou indikátory mírného poškození jater (nutriční hepatitidy v důsledku podvýživy), která byla zjištěna u pacientů s AN.

**Klíčová slova:** mentální anorexie, SARS-CoV-2, vitamin B12, poruchy příjmu potravy, ferritin

#### Abstract

During the SARS-CoV-2 pandemic, there has been a significant increase in the number of adolescents with anorexia nervosa (AN). Our clinic recorded 64% more hospitalized patients with AN compared to the pre-pandemic period. Due to the increase in the number of patients and the reduction of bed capacity during the pandemic, we expected greater diagnostic delays and worse nutritional status of patients at the beginning of treatment compared to patients treated before the pandemic. **Methods:** The study included 37 girls with AN (a group of 19 girls with AN development before the pandemic and a group of 18 girls with AN development during the pandemic). We compared the nutritional status of the girls and their course of the disease before starting treatment. Both groups of patients were compared with 15 healthy controls. **Results:** Anthropometric parameters and most laboratory markers did not differ significantly between patient groups, we only observed higher levels of unesterified fatty acids ( $p < 0.05$ ) and lower levels of Apo B ( $p < 0.05$ ) in patients developing AN during the pandemic. Diagnostic delays, weight loss and treatment in the paediatric department also



did not differ significantly when comparing the two groups of patients. Compared to healthy controls, we found significantly higher levels of ALT and ferritin ( $p < 0.001$ ) as well as active vitamin B12 ( $p < 0.05$ ) in patients with AN. **Conclusion:** Despite the increase in the number of our patients with AN, there has been no significant increase in diagnostic delays and worsening of the severity of their malnutrition. Significantly elevated levels of ferritin and active vitamin B12, which are indicators of mild liver damage due to malnutrition, were found in patients with AN compared to the control group.

**Keywords:** anorexia nervosa, SARS-CoV-2, vitamin B12, eating disorders, ferritin

## Úvod

Mentální anorexie (AN) je porucha příjmu potravy, typická cíleným snižováním a udržováním tělesné hmotnosti pod normou, zkresleným vnímáním tělesné hmotnosti a tvaru těla a také intenzivním strachem z přibývání na váze. AN je spojena s vysokou morbiditou, ze všech poruch příjmu potravy (PPP) vede nejčastěji k hospitalizaci a má nejdelší průměrnou délku hospitalizace ze všech PPP [1]. AN je navíc spojena s nejvyšší úmrtností ze všech poruch příjmu potravy [2]. Nejvyšší riziko rozvoje AN je během dospívání, kdy těžká podvýživa může mít celoživotní následky. Poměr dívek k chlapcům je asi 1:6-1:20 [3], onemocnění má nejistou prognózu a riziko recidivy se odhaduje v průměru kolem 30,8 % [4]. AN progreduje do chronické formy až u 20 % pacientů [5]. Dlouhodobá těžká podvýživa u pacientů s AN postihuje většinu orgánů a orgánových systémů. Mezi nejzávažnější komplikace patří srdeční nebo renální selhání a metabolický rozvrat. Riziko minerálového rozvratu s život ohrožujícími následky je spojeno také s realimentací (refeeding syndrom), proto je nutné postupovat opatrně a pacienta monitorovat zejména v prvním týdnu realimentace [6]. Mezi běžné komplikace AN patří endokrinní poruchy (např. porucha menstruačního cyklu, dysfunkce štítné žlázy), poruchy imunity, narušená termoregulace, osteoporóza. Neurologické komplikace zahrnují bolesti hlavy, vertebrogenní algický syndrom, slabost, únavu, dysfagii nebo poruchy vědomí [6]. Mezi běžné biochemické abnormality při AN patří poruchy acidobazické rovnováhy, nízké hladiny volného trijodtyroninu (fT3) a naopak zvýšená hladina reverzního trijodtyroninu, zvýšené aktivity aminotransferáz, elevace kortizolu, hypoglykemie a dyslipidémie [7]. Příčiny hypercholesterolemie u mentální anorexie nejsou zcela objasněny – zvýšená syntéza cholesterolu *de novo* se zdá být nepravděpodobná, některé studie naznačují zvýšenou absorpci exogenního cholesterolu (. Kromě hypercholesterolemie měly pacientky zvýšené hladiny necholesterolových sterolů ( $\beta$ -sitosterol, campesterol) a změny ve spektru plazmatických mastných kyselin [8].

## *Epidemiologie AN před a během pandemie SARS-CoV-2*

Incidence AN v posledních desetiletích byla považována za relativně stabilní i přes nárůst počtu léčených pacientů [9]. Za příčinu vyššího počtu léčených pacientů se považovala lepší informovanost veřejnosti o AN a lepší diagnostika. Celoživotní prevalence AN v západní Evropě a USA se odhadovala na 0,5–2,2 % u žen [10]. Jak ale uvádí řada českých i zahraničních studií, pandemie SARS-CoV-2 (COVID-19) a s ní související protiepidemická opatření měla závažný dopad na duševní zdraví, zejména u některých skupin obyvatelstva [11-22]. Dospívající jsou v této souvislosti považováni za obzvláště zranitelnou skupinu [9,13-20]. Četní autoři [14-21] uvádějí významný nárůst incidence AN u pediatrických pacientů.

Prevalence AN v České republice byla v roce 2017 odhadnuta na 0,5–1 % mladých žen a dívek [1]. Již před pandemií SARS-CoV-2 byl pozorován mírný nárůst v počtu léčených pacientů s AN. V roce 2017 bylo léčeno 1912 pacientů, v roce 2019 to bylo 2083 pacientů (+8,9 %). Zvýšil se zejména počet ambulantních pacientů (1544 v roce 2017, 1731 pacientů v

roce 2019, tj. o 12,1 % více). Počet hospitalizovaných pacientů s AN naopak mírně poklesl (368 pacientů v roce 2017, 352 pacientů v roce 2019, tj. o 4,3 % méně) [19]. Během pandemie však došlo k významnému nárůstu počtu zejména pediatrických pacientů s AN. Nejvýraznější nárůst byl zaznamenán v počtu ambulantních pacientů s AN ve věkové skupině 15-19 let (v roce 2022 bylo léčeno 1785 pacientů, což je o 76,7 % více než v roce 2019, kdy bylo léčeno 1010 pacientů) [19]. V kategorii hospitalizovaných pacientů byl nejvýraznější nárůst zaznamenán v roce 2021, a to také u AN ve věku 15-19 let (255 léčených osob, nárůst o 51,8 % ve srovnání se 168 pacienty léčenými v roce 2019) [19]. Zejména u pediatrických pacientů převažovali mezi léčenými pacienty, kteří byli s AN léčeni poprvé [19].

Vzhledem k tomu, že již před pandemií Covid-19 byla kapacita systému české dětské psychiatrické i psychoterapeutické péče považována za nedostatečnou, předpokládali jsme, že nárůst počtu pacientů bude spojen s prodloužením diagnostického zpoždění, obtížnějším přijetím k zahájení léčby a tím k horšímu nutričnímu stavu na počátku léčby. Během pandemie a po ní navíc došlo k nárůstu nejen počtu pacientů s AN, ale i dětských pacientů s úzkostí, depresí, sebevražednými myšlenkami a dalšími psychiatrickými diagnózami [14, 31].

**Cílem naší studie** bylo zhodnotit nutriční stav pacientů s AN s rozvojem během pandemie COVID-19 a porovnat je s daty před COVID-19.

### **Materiál a metody**

Do naší studie jsme zahrnuli 19 dívek s AN, diagnostikovaných před pandemií COVID-19 (skupina "ANpreCov"), 18 dívek s AN, diagnostikovaných během pandemie COVID-19 (s prvními příznaky AN během pandemických restrikcí, skupina "ANCov") a 15 zdravých kontrol (párovaných věkem a pohlavím, skupina "HC"). Všechny pacientky, zařazené do studie, byly pro AN léčeny poprvé, diagnózu stanovil dětský psychiatr a psycholog. Všichni účastníci studie nebo jejich zákonní zástupci podepsali informovaný souhlas.

Pacienti i kontrolní skupina podstoupili podrobné vyšetření nutričního stavu včetně analýzy tělesného složení a stanovení klidové spotřeby energie nepřímou kalorimetrií. Pacienti ve skupině ANCov byli dotázáni nutričním terapeutem na subjektivní posouzení spouštěcího momentu svého onemocnění a dopad pandemie na jejich stravovací návyky a úroveň fyzické aktivity. Během léčby na pediatrickém oddělení byl sledován hmotnostní přírůstek, úroveň compliance a délka hospitalizace.

Pacienti ve skupině ANpreCov (N = 19 dívek; ve věku 9 - 17 let; průměrný věk ( $\pm$ SD) = 14,84  $\pm$  1,95 roku) byli odesláni na Kliniku pediatrie a dědičných poruch metabolismu (KPDPM) v období od 9/2018 do 5/2019. Pacienti ve skupině ANCov (N = 18 dívek; věk 12 - 18 let; průměrný věk ( $\pm$ SD) = 14,58  $\pm$  1,98 roku) byli v našem centru diagnostikováni mezi 9/2020-5/2022 (zahrnutí byli pouze pacienti, u kterých se onemocnění rozvinulo během pandemických omezení). Žádná z pacientek ani kontrolních probandek neužívala hormonální antikoncepci, u všech vyšetřených osob byly hodnoty v pásmu normálních hodnot (C-reaktivní protein < 2 mg/l). HC skupina (N=15 dívek; ve věku 12 - 18 let (průměrný věk ( $\pm$ SD) = 15,50  $\pm$  1,88 roku) sestávala z dívek, které neměly v posledních 6 měsících významný úbytek tělesné hmotnosti a nebyly u nich diagnostikovány žádné poruchy příjmu potravy, či akutní nebo chronický zánět.

U všech účastnic studie byla provedena podrobná anamnéza a odebrána žilní krev po 12hodinovém lačnění, biochemické analýzy byly provedeny rutinními metodami v centrální laboratoři nemocnice s využitím referenčních dat z Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky VFN.

Tělesná hmotnost, výška, body mass index (BMI) a složení těla byly měřeny za standardizovaných podmínek, ráno, po 12 hodinách lačnění. Z skóre BMI s ohledem na věk a pohlaví u dětí do 18 let byl hodnocen pomocí SW Růst.CZ (verze 2.3., Mathan, s.r.o. [25]) na

základě údajů z českého celostátního antropologického šetření z let 1991 a 2001 [26]. Složení těla bylo měřeno současně s nepřímou kalorimetrií pomocí multifrekvenční bioelektrické impedanční analýzy (BIA, Tanita MC-980, Japonsko, Tokio), podle doporučení výrobce, což umožnilo stanovení netučné hmoty (FFM, fat free mass) a množství tělesného tuku (FM, fat mass). Podíl tuku byl hodnocen také pomocí měření kožních řas kaliperem - měřeny byly 4 kožní řasy (nad tricepsem, nad bicepsem, pod lopatkou a nad kyčelní kostí) pomocí kaliperu (GPM-Skinfold Calliper, DKSH) stejnou osobou za standardizovaných podmínek. Procento tukové hmoty bylo podle Durninova a Womersleyho [27]. Klidový energetický výdej (REE) a respirační kvocient (RQ) byly analyzovány počítačovým nepřímým kalorimetrickým systémem s otevřeným okruhem, který měřil klidový příjem kyslíku a klidovou produkci oxidu uhličitého pomocí ventilované kanopy (Omnia 1.5 - Quark RMR, Cosmed, Srl, Itálie, Řím). REE a RQ byly analyzovány podle doporučení výrobce a za standardizovaných podmínek ráno po 12 hodinách nalačno. REE byl také vypočten pomocí Schofieldovy rovnice WH. Pro statistické zpracování výsledků byl použit software STATISTICA CZ ver.12 (StatSoft Inc., Tulsa, USA). Nerovnoměrně distribuované proměnné byly transformovány logaritmicky. Významné rozdíly mezi skupinami byly hodnoceny nepárovými t-testy. Distribuční rozdíly byly vypočteny pomocí chí-kvadrát testu s Yatesovou korekcí. Hodnota  $p < 0,05$  byla považována za statisticky významnou.

### **Výsledky**

Během pandemie SARS-CoV-2 jsme zaznamenali nárůst počtu nově diagnostikovaných pacientů s mentální anorexií o 64 % (41 hospitalizovaných pacientů v období 1. 3. 2020-28. 2. 2022 oproti 25 hospitalizovaným pacientům v době od 1. 3. 2018 do 28. 2. 2020). 24 pacientů (58,5 %) s rozvojem AN během pandemie uvádělo spojitost mezi protipandemickými restrikcemi během Covid-19 a počátkem svých obtíží (změny v intenzitě pohybové aktivity, změny stravovacích návyků, strach z hmotnostního přírůstku apod.). Nejčastěji uváděnými důvody byly strach z přibývání na váze v důsledku snížené fyzické aktivity (9 dívek), více volného času na změnu životního stylu (7 dívek), strach z přibývání na váze nebo zhoršení sportovní výkonnosti u výkonnostních sportovců či tanečnic (6 dívek), snížený dohled rodičů a možnost samostatného sestavení jídelníčku doma (5 dívek), zvýšený tlak sociálních sítí (4 dívky). Čtyři dívky zaznamenaly zhoršení spokojenosti s vlastním tělem a touhu vrátit se k vrstevníkům s "lepší postavou". U 1 dívky se vyvinulo nechutenství kvůli úzkosti z návratu do školy a opětovného setkání se svými spolužáky.

### **Základní klinické a antropometrické charakteristiky**

Ve skupině ANpreCov byla u 6 pacientek diagnostikována atypická AN (31,6 %) a u 13 pacientek (68,4 %) restriktivní AN. 13 dívek mělo sekundární amenoreu, 4 dívky do 15 let věku ještě neměly menarché. Skupina ANCov se skládala ze 3 dívek s atypickou AN (16,7 %) a 15 dívek s restriktivní AN (83,3 %). 13 dívek mělo sekundární amenoreu, 3 dívky mladší 15 let byly premenarchální. Diagnostické zpoždění, antropometrické parametry, % úbytku tělesné hmotnosti i délka hospitalizace na pediatrickém oddělení nebyly statisticky významně rozdílné, stejně tak hmotnostní přírůstek za hospitalizace. Významný rozdíl byl zjištěn pouze v podílu tukové hmoty (%), vypočtené z měření 4 kožních řas ( $p < 0,05$ ).

**Tabulka 1. Srovnání skupin ANpreCov a AN Cov na základních klinických a fyzikálních charakteristikách**

	ANpreCov (N=19) M(±SEM)	ANCov (N=18) M(±SEM)
Věk (roky)	14.8±2.0	14.6±2.0
Výška (cm)	159±9	164±7
Tělesná hmotnost (kg)	42.5±9.4	43.7±7.7
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	16.6±2.5	16.1±2.3
Úbytek tělesné hmotnosti (%)	23.1±11.1	20.3±8.8
Diagnostické zpoždění (měsíce)	11±11	9±6
Trvání sek. amenorey (měsíce)	8±10	7±5
Délka hospitalizace (dny)	17±11	16±10
IC_REE (kcal/den)	1044±226	1110±248
REE vypočtené - Schofield WH (kcal)	1430±178	14378±103
BIA podíl tuku (%)	16.9±5.1	16.2±5.0
Vypočtený podíl tělesného tuku (%) (4 kožní řasy)	<b>21.3±3.4</b>	<b>16.9±5.5</b>
Hmotnostní přírůstek hospitalizace (% TH)	4.1±7.8	2.2±3.0

Uvedené hodnoty představují medián ± SEM. Statisticky významné ( $p < 0.05$ ) srovnání je pro zvýraznění tučně. N: počet osob. M: medián. SEM: směrodatná odchylka. BMI: body mass index. IC\_REE: klidový energetický výdej, naměřený nepřímou kalorimetrií. WH: výška hmotnost. BIA: bioimpedance. TH: tělesná hmotnost.

Tabulka 2 ukazuje srovnání základních klinických a fyzikálních charakteristik mezi pacienty s AN a zdravými kontrolami. Zjistili jsme významné rozdíly ve všech antropometrických parametrech (kromě výšky) a ve složení těla a klidovém výdeji energie ( $p < 0,001$ ).

**Tabulka 2. Srovnání pacientů s AN a zdravých kontrol (HC) na základě základních klinických a fyzikálních charakteristik**

	AN (N=37) M(±SEM)	HC (N=15) M(±SEM)
Tělesná hmotnost (kg)	43.1±8.5	57.30±7.2
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	16.4±2.4	21.5±2.4
Úbytek tělesné hmotnosti (% TH)	21.7±10.0	3.5±2.1
IC_REE (kcal/den)	1088±238	1597±180
BIA podíl tuku (%)	16.4±5.0	25.3±3.7
Vypočtený podíl tělesného tuku (%) (4 kožní řasy)	18.4±5.2	27.9±3.7

Uvedené hodnoty představují medián ± SEM. Všechny parametry se statisticky významně liší mezi skupinami ( $p < 0,001$ ). AN: pacienti s mentální anorexií. HC: zdravá kontrola. N: počet osob. M: medián. SEM: směrodatná odchylka. BMI: body mass index. TH: tělesná hmotnost. IC\_REE: klidový energetický výdej, naměřený nepřímou kalorimetrií.

### Laboratorní výsledky

Srovnání vybraných laboratorních výsledků skupin ANpreCov a ANCov je uvedeno v tabulce 3. Srovnání vybraných laboratorních výsledků pacientů s AN vs. kontrolní skupiny je uvedeno v tabulce 4. Plazmatické hladiny minerálů, celkového bilirubinu, kyseliny močové,

AST, ALP, HDL, LDL cholesterolu a TAG byly v normálním rozmezí pro většinu AN a HC, bez významného rozdílu mezi skupinami. Nebyly zjištěny žádné významné rozdíly v hladině celkového cholesterolu, ačkoli 8 pacientů s AN mělo hladinu celkového cholesterolu >5,6 mmol/l. Počet osob s hladinami nad horní hranicí normy (ULN) a pod dolní hranicí normy (LLN) se významně nelišil, s výjimkou porovnání hladin prealbuminu, feritinu a fT3 mezi pacienty s AN a zdravými kontrolami – u pacientek s AN byl významně vyšší podíl osob s hodnotami těchto parametrů pod dolní hranicí normy.

Významný rozdíl ( $p < 0,05$ ) byl zjištěn v hladině Apo B mezi ANpreCov a ANCov, ale ne mezi AN a zdravými kontrolami. Hladiny Apo B v ANCov byly nižší ve srovnání s ANpreCov. Naopak významně vyšší hladiny neesterifikovaných mastných kyselin (NEFA) ( $p < 0,05$ ) byly zjištěny v ANCov ve srovnání s ANpreCov (log transformovaná data). Při srovnání AN s HC měli pacienti významně nižší hladiny NEFA.

**Tabulka 3. Porovnání ANpreCov a ANCov na vybraných laboratorních výsledcích**

	ANpreCov (N=19) M(±SEM)	ANCov (N=18) M(±SEM)
Celkový cholesterol (mmol/L)	5.10±1.99	4.50±1.17
HDL cholesterol (mmol/L)	1.66±0.39	1.74±0.50
LDL cholesterol (mmol/L)	3.33±1.58	2.43±0.95
TAG (mmol/L)	0.88±0.38	0.80±0.30
Apo B (g/L)	<b>1.07±0.46</b>	<b>0.70±0.25</b>
ALT (μkat/L)	0.39±0.27	0.34±0.10
AST (μkat/L)	0.39±0.11	0.39±0.09
ALP (μkat/L)	1.68±0.73	1.27±0.48
Celková bílkovina (g/L)	69.2±4.24	68.51±4.87
Albumin (g/L)	49.3±3.2	49.3±3.3
Prealbumin (g/L)	0.20±0.05	0.21±0.06
Feritin (turb.) (μg/L)	131.8±100.5	134.6±78.3
NEFA (μmol/L) *	<b>2.00±0.83</b>	<b>1.09±0.75</b>
Aktivní B <sub>12</sub> vitamin (aktB <sub>12</sub> ) (pmol/L) <sup>+</sup>	122±105	168±128
Homocystein (baz.) (μmol/L)	12.63±0.26	21.12±26.22
Folát (μg/L)	10.5±7.1	9.3±7.7

*Uvedené hodnoty představují medián ± SEM. Všechny statisticky významné rozdíly ( $p < 0,05$ ) jsou pro zdůraznění vyznačeny tučně. N: počet osob. M: medián. SEM: směrodatná odchylka. HDL: lipoprotein s vysokou hustotou. LDL: lipoprotein s nízkou hustotou. TAG: triacylglycerol. Apo B: Apolipoprotein B-100. ALT: alanintransamináza. AST: aspartátaminotransferáza. ALP: alkalická fosfatáza. NEFA: neesterifikované mastné kyseliny. \* Statistická analýza po logaritmické transformaci dat s ohledem na negaussovské rozdělení*

Významné rozdíly ( $p < 0,05$ ) mezi pacienty s AN a zdravými kontrolami jsme našli v hladinách celkové bílkoviny, prealbuminu, aktivního vitamínu B<sub>12</sub>, kreatininu a počtu trombocytů. Celková bílkovina, hladina prealbuminu a počet krevních destiček byly u pacientů s AN významně nižší, naopak hladina kreatininu a aktivního vitamínu B<sub>12</sub> (aktB<sub>12</sub>) byla významně vyšší u pacientů s AN. Nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly v hladinách kyseliny listové a homocysteinu mezi ANpreCov, ANCov a HC.

Při porovnání pacientů s AN a zdravých kontrol jsme zjistili pouze významně vyšší aktivity ALT a hladiny feritinu u AN bez významného rozdílu v hladinách transferinu a železa.

Inzulin, HOMA-IR a hladina glukózy nalačno byly významně nižší ( $p < 0,001$ ) u AN. Žádná z AN nebo HC neměla hyperinzulinémií a zvýšený index HOMA-IR .

Pacientky s AN měly významně nižší ( $p < 0,001$ ) hladiny fT3 a fT4. Hladiny TSH se mezi skupinami významně nelišily.

**Tabulka 4. Srovnání patientek s AN a kontrolní skupiny ve vybraných laboratorních parametrech**

	AN (N=37) M(±SEM)	HC (N=15) M(±SEM)
Urea (mmol/L)	4.8±1.7	3.8±1.6
kreatinin (μmol/L) <sup>+</sup>	<b>70±10.2</b>	<b>60±9.6</b>
LDL cholesterol (mmol/L) <sup>+</sup>	<b>2.84±1.33</b>	<b>2.29±0.52</b>
ALT (μkat/L) <sup>++</sup>	<b>0.37±0.21</b>	<b>0.20±0.06</b>
AST (μkat/L)	0.39±0.10	0.36±0.07
ALP (μkat/L)	1.44±0.62	1.98±1.41
NEFA (μmol/L) <sup>**</sup>	<b>1.61±0.90</b>	<b>0.87±0.30</b>
Celková bílkovina (g/L) <sup>+</sup>	<b>68.9±4.5</b>	<b>72±3.8</b>
Albumin (g/L)	49.3±3.2	49±2.3
Prealbumin (g/L) <sup>+</sup>	<b>0.21±0.05</b>	<b>0.25±0.04</b>
Feritin (turb.) (μg/L) <sup>++</sup>	<b>133.1±88.8</b>	<b>35.3±20.3</b>
Glykémie nalačno (mmol/L) <sup>+</sup>	<b>4.4±0.7</b>	<b>4.9±0.3</b>
HOMA_IR (ratio) <sup>++</sup>	<b>1.16±0.68</b>	<b>2.35±0.95</b>
Inzulin (mIU/L) <sup>++</sup>	<b>5.67±2.93</b>	<b>10.79±4.20</b>
TSH (mIU/L)	1.97±0.92	2.69±1.51
fT3 (pmol/L) <sup>++</sup>	<b>3.6±0.9</b>	<b>6.0±1</b>
fT4 (pmol/L) <sup>++</sup>	<b>12.8±2.2</b>	<b>15.3±1.4</b>
Aktivní B <sub>12</sub> vitamin (aktB <sub>12</sub> ) (pmol/L) <sup>+</sup>	<b>149±119</b>	<b>67±45</b>
Homocystein (baz.) (μmol/L)	18.03±21.13	11.55±3.43
Folát (μg/L)	9.7±7.3	7±2.5
Trombocyty (10 <sup>9</sup> /L) <sup>+</sup>	<b>223±58</b>	<b>295±60</b>

Uvedené hodnoty představují medián ± SEM. Všechny statisticky významné rozdíly<sup>+</sup> ( $p < 0.05$ ) resp. <sup>++</sup> ( $p < 0.001$ ) jsou tučným písmem pro zvýraznění. AN: pacienti s mentální anorexií. HC: zdravá kontrola. N: počet osob. M: medián. SEM: směrodatná odchylka. LDL: lipoprotein s nízkou hustotou. ALT: alanintransamináza. AST: aspartátaminotransferáza. ALP: alkalická fosfatáza. NEFA: neesterifikované mastné kyseliny. HOMA-IR: Homeostatický model hodnocení inzulínové rezistence. TSH: thyreotropní hormon. fT3: volný trijodtyronin. fT4: volný tyroxin.

\* Statistická analýza po logaritmické transformaci dat s ohledem na negaussovské rozdělení

## Diskuse

V souladu s údaji o nárůstu incidence AN celosvětově [14-18,20-22] došlo k prudkému nárůstu incidence AN, zejména u dospívajících, také v České republice [19]. Prudký nárůst výskytu mentální anorexie u českých adolescentů odpovídá celkovému zhoršení duševního zdraví této věkové skupiny v ČR v letech 2020-2022 [10, 31]. Zdá se, že tato věková kategorie byla výrazně ovlivněna sociální izolací během pandemie SARS-CoV-2 [29,30].

Česká republika měla jedno z nejdelších období povinného domácího vzdělávání v evropských zemích [30].

Více než polovina našich pacientů uvedla, že pandemická omezení přispěla k rozvoji jejich onemocnění. Hlavními uváděnými příčinami byly strach z přibývání na váze při snížené fyzické aktivitě, strach ze zhoršení výkonnosti výkonnostních sportovkyň a tanečnic, větší svoboda ve stravovacích návycích, zvýšený tlak sociálních médií.

Rozdíly v tělesné hmotnosti, složení těla, BMI a REE mezi pacienty s AN a zdravými kontrolami byly očekávatelné a patří mezi dobře známé základní projevy AN. Neočekávali jsme však, že skupina pacientů s rozvojem onemocnění během pandemie bude ve většině antropometrických i laboratorních výsledků srovnatelná s pacienty, kteří onemocněli před pandemií Covid-19. Domníváme se, že i přes zvýšený výskyt AN u dospívajících jsou změny jejich tělesných proporcí a chování natolik zřejmé, že jsou odhaleny praktickým lékařem nebo rodiči v době srovnatelné s obdobím před pandemií. Je však třeba vzít v úvahu malou velikost naší skupiny pacientů a skutečnost, že jsme sbírali data pouze z jednoho centra. Proto není možné výsledky zobecnit na celou populaci českých adolescentů s AN. Podle údajů z Ústavu zdravotnických informací a statistiky [19] se průměrná délka hospitalizace na dětském oddělení od roku 2019 do roku 2022 pro AN mírně zvýšila (z 11 dnů v roce 2019 na 12,6 dne v roce 2022, s vrcholem 12,8 dne v roce 2021, tj. 14,5-16,4 %) [19]. Naproti tomu průměrná délka hospitalizace na psychiatrickém oddělení se snížila u AN ve věku 0-19 let, a to ze 42,4 dne v roce 2019 na 38,3 dne v roce 2022, s minimem 38 dnů v roce 2021 (pokles o 9,7-10,4 %) [19]. Kratší hospitalizace však může také odrážet zvýšený tlak na přijetí dalších pacientů na psychiatrické oddělení.

Během pandemie se čekací doba na přijetí k léčbě (ať už hospitalizační nebo ambulantní) zvýšila z přibližně 1,5 měsíce na 5 měsíců [31]. Kapacita systému psychiatrické péče je nedostatečná (v roce 2022 bylo v ČR 571 dětských psychiatrických lůžek (113 pro akutní péči) a 134 dětských psychiatrických ambulancí). Kapacita ambulantní pedopsychiatrické péče by měla být cca o 60 % vyšší, aby bylo dosaženo požadovaného stavu 2 pedopsychiatrů na 100 tisíc obyvatel. Objektívni údaje o čekacích dobách v pedopsychiatrické péči nelze ve zdravotnictví statisticky sledovat. Často jsou děti s poruchami příjmu potravy v péči výživového poradce nebo psychoterapeuta pracujícího mimo zdravotnictví na žádost rodičů, důvodem není vždy nedostupnost péče [31].

Přestože naše skupiny pacientů s AN nevykazovaly statisticky významný rozdíl z hlediska přírůstku hmotnosti během hospitalizace, lze pozorovat určitý trend – skupina ANcov měla nižší přírůstek hmotnosti než ANpreCov. K nižšímu nárůstu hmotnosti mohla přispět nová strategie procesu realimentace na našem pracovišti, kdy místo nabízení plných porcí od počátku hospitalizace byly porce pacientkám zvětšovány postupně pro snížení rizika refeeding syndromu.

Významný rozdíl ve vypočteném podílu tukové hmoty může být ovlivněn malým statistickým vzorkem a chybou měření (všechna měření byla provedena stejnou osobou, ale s určitým časovým odstupem mezi jednotlivými skupinami). Výrazně nižší REE, měřený nepřímou kalorimetrií v našem souboru AN pacientů odpovídá uváděným údajům [33] a také významně nižším hladinám fT3 a fT4 u AN. Předchozí publikace jsou také v souladu s naším zjištěním, že u pacientů s AN není vhodné odhadovat REE výpočtem [33,34].

Významně nižší hladina Apo B ve skupině ANcov může souviset s nižším kardiovaskulárním rizikem – v této skupině byl také zjištěn nižší index aterogenity a non-HDL cholesterol, ale hodnoty těsně nedosáhly statistické významnosti. Významně vyšší hladiny NEFA u pacientů s ANcov mohou souviset s odlišným složením stravy, i když časový interval mezi nástupem pozorování v obou skupinách byl malý. U pacientů s AN lze očekávat významně nižší hladiny inzulínu a glukózy nalačno a nižší hodnoty HOMA-IR - vzhledem k vyšší intenzitě fyzické aktivity, nižší tukové hmotě, nižšímu BMI, nižšímu příjmu energie a dlouhodobě nižší hladině



glukózy v krvi dochází ke zvýšené citlivosti tkání na inzulín a nižší produkci inzulinu [38]. Významně nižší hladiny fT3 a fT4 jsou u pacientů s AN také známy. Při prodlouženém prostém hladovění se periferní konverze tyroxinu na trijodthyronin snižuje, zvyšuje se konverze na neaktivní reverzní trijodthyronin. Nejpravděpodobnější příčinou je atrofie štítné žlázy způsobená hladověním a následnými nízkými hladinami IGF-1, tato atrofie je reverzibilní při realimentaci [39,40].

Pokud jde o významně zvýšené hladiny aktivního vitamínu B<sub>12</sub> u pacientů s AN, naše výsledky jsou v souladu se dvěma dalšími studii z posledních let [41,42]. Příčina zvýšení hladiny vitamínu B<sub>12</sub> u podvyživených pacientů s mentální anorexií není dosud zcela objasněna, ale Tam et al a Corbetta et al předpokládají, že zvýšené hladiny aktivního vitamínu B<sub>12</sub> (aktB<sub>12</sub>) mohou být markerem poškození hepatocytů u pacientů s AN. Pokud vezmeme v úvahu, že AN vede ke katabolismu a spotřebě vlastních tkání, včetně orgánových, zvýšená hladina aktB<sub>12</sub> by mohla být způsobena uvolněním jeho zásob z poškozených jaterních buněk, které jsou hlavním úložištěm vitamínu B<sub>12</sub> v těle. Vitamin B<sub>12</sub> je také popsán jako možný marker pro narušení jaterních buněk jinými autory [7, 42,43, 44]. Již v roce 2012 Winston [7] uvedl, že laboratorní parametry jater u pacientů s AN typicky odpovídají obrazu hepatitidy s ALT a zvýšením AST, která může být přítomna před realimentací nebo naopak zvýšením aminotransferáz až během procesu realimentace. Winston používá termín "nutriční hepatitida" s nejasnou příčinou, s ohledem na možný účinek snížené perfuze, ischemie, autofagie hepatocytů, deplece glutathionu.

Ve studii z roku 2014 byla nalezena pozitivní korelace mezi hladinami B<sub>12</sub>, ALT a AST [41]. U našich pacientů s AN byly hladiny ALT také významně zvýšeny ve srovnání se zdravými kontrolami, ale pouze u 2 pacientů byly hladiny ALT nad horní hranici normy. ALT se vyskytuje především v cytoplazmě hepatocytů a je považován za velmi citlivý a specifický marker poškození membrán hepatocytů [45]. Hladiny AST a ALP se významně nelišily mezi skupinami pacientů nebo mezi pacienty a kontrolami. U našich pacientů nebyla nalezena žádná korelace mezi jaterními enzymy a aktB<sub>12</sub>. Podle Harrise a kol. [50] je významné zvýšení jaterních enzymů častější u těžké podvýživy s BMI < 12 kg/m<sup>2</sup>. Z našich pacientů měla pouze 1 dívka BMI < 12 kg/m<sup>2</sup>, další 3 měly BMI 12-13 kg/m<sup>2</sup>. Je třeba si uvědomit, že naši pacienti představují "nejlehčí" případy AN z hlediska prostého hladovění – jednalo se o první detekci onemocnění a vzhledem k tomu, že se jedná o nezletilé pacienty, je možné je díky tlaku rodiny a zdravotníků přimět k zahájení léčby dříve než dospělého pacienta. Průměrná doba trvání onemocnění před léčbou byla u našich pacientů 10±5,66 měsíce. Přesto ve srovnání s Tam a kol. [42] (aktB<sub>12</sub> medián 73 ± 47 pmol/l) mají naši pacienti vyšší hladiny aktB<sub>12</sub> (průměr 149,44 ± 119,34 pmol/l; medián 92/60 pmol/l), i když měli vyšší BMI ve srovnání s Tam a kol. ALT i AST byly u našich pacientů nižší ve srovnání se skupinou popsanou Tam a kol. Průměrná doba trvání onemocnění před léčbou byla v obou studiích srovnatelná, Medián věku našich pacientů byl nižší.

Vzhledem k tomu, že v naší studii byly stanoveny pouze hladiny aktivního B<sub>12</sub>, srovnání s jinými studii [41,43,44,46] není možné.

Nedávno byly popsány zvýšené hladiny feritinu u pacientů s AN [47-50]. Příčina významně zvýšených hladin feritinu u pacientů s AN není dosud objasněna. Někteří autoři docházejí k závěru o možné adaptaci na nízký energetický příjem a vlivu podvýživy a nutričního stresu na hepatocyty [47]. Možnou příčinou zvýšených hladin feritinu může být také reakce na snížené hladiny transferinu u pacientů s AN [50]. V naší kohortě byly hladiny transferinu sníženy u 7/30 AN pacientů, nezjistili jsme významný rozdíl ve srovnání se zdravými kontrolami.

Významně nižší hladiny celkového proteinu a prealbuminu u našich pacientů jsou v souladu s výsledky jiných autorů, prealbumin je považován za významný prediktor komplikací spojených s AN [51]. Nicméně ani prealbumin není považován za vhodný marker podvýživy, významně nižší hladiny prealbuminu mohou být známkou poškození jater [52, 53].



## Závěr

V naší studii jsme zaznamenali významný nárůst počtu pacientů s AN během pandemie Covid-19 a souvisejících pandemických omezení, ale závažnost podvýživy a související metabolické změny i průběh léčby na našem oddělení byly srovnatelné u pacientů diagnostikovaných a léčených před pandemií a během pandemie. U našich pacientů byly zjištěny významně vyšší hladiny ALT, feritinu a aktivního vitamínu B<sub>12</sub> ve srovnání se zdravými kontrolami. Tyto parametry jsou považovány za možné markery závažnosti podvýživy a poškození jater vzniklého v souvislosti se základním onemocněním.

*Tento výzkum byl financován Ministerstvem zdravotnictví ČR, číslem grantu MH CZ DRO-VFN64165 a výzkumným programem Univerzity Karlovy Cooperatio – gastroenterologie.*

## Literatura

1. **Nechanská B.** Aktuální informace č.8/2018. Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR. 2018 Oct 23. Available online: [https://www.uzis.cz/sites/default/files/knihovna/ai\\_2018\\_08\\_poruchy\\_prijmu\\_potravy\\_2011az2017.pdf](https://www.uzis.cz/sites/default/files/knihovna/ai_2018_08_poruchy_prijmu_potravy_2011az2017.pdf) (Accessed on 28 Mar 2022).
2. **Arcelus J., Mitchell AJ., Wales J., et al.** Mortality Rates in Patients with Anorexia Nervosa and Other Eating Disorders: A Meta-analysis of 36 Studies. *Arch Gen Psychiatry* 2011; 68(7): 724-731.
3. **Herpertz-Dahlmann B., Dahmen B.** Children in Need-Diagnostics, Epidemiology, Treatment and Outcome of Early Onset Anorexia Nervosa. *Nutrients* 2019; 11(8): 1932.
4. **Berends T., Boonstra N., van Elburg A.** Relapse in anorexia nervosa: a systematic review and meta-analysis. *Curr Opin Psychiatry* 2018; 31(6): 445-455.
5. **Steinhausen H-CH.** The Outcome of Anorexia Nervosa in the 20th Century. *Am J Psychiatry* 2002; 159(8):1 284-1293.
6. **Klempíř J.** Neurologické aspekty poruch příjmu potravy. In *Anorexie, bulimie a psychogenní přejídání: interdisciplinární a transdiagnostický pohled*. 1<sup>st</sup> ed.; Papežová, H., Ed. Praha; Mladá fronta 2018, 254–269.
7. **Winston AP.** The clinical biochemistry of anorexia nervosa. *Ann Clin Biochem* 2012; 49(2): 132-143.
8. **Žák A., Vecka M., Tvrzická E., et al.** Composition of plasma fatty acids and non-cholesterol sterols in anorexia nervosa. *Physiol Res* 2005; 54(4): 443-451.
9. **Van Eeden AE., Van Hoeken D., Hoek HW.** Incidence, prevalence and mortality of anorexia nervosa and bulimia nervosa. *Curr Opin Psychiatry* 2021;34(6):515-524.
10. **Papežová H. a kol.** Anorexie, bulimie a psychogenní přejídání: interdisciplinární a transdiagnostický pohled. 1. vyd. Praha; Mladá fronta 2018, 607 str.
11. **Datta N., Van Wye E., Citron K., et al.** The COVID-19 pandemic and youth with anorexia nervosa: A retrospective comparative cohort design. *Int J Eat Disord* 2023; 56(1), 263-268.
12. **Baenas I., Etxandi M., Munguía L., et al.** Impact of COVID-19 Lockdown in Eating Disorders: A Multicentre Collaborative International Study. *Nutrients* 2021; 14(1): 100.
13. **Kučera D., Stuchlíková I., Mrhálek T.** Impacts of COVID-19 Pandemic on the Mental Health of Working Adults in the Czech Republic: Analysis of Self-Report Psychological Data in a One Year Perspective. *Eur J Investig Health Psychol Educ* 2021; 11(3): 1061-1072.
14. **Matoušek T.** Řežou se, týrají hlady. Děti si ubližují, pomoci se dostane jenom některým. *IDnes.cz/ ZPRAVODAJSTVÍ*. 2022 Jul 23. Available online: [https://www.idnes.cz/zpravy/domaci/sebeposkozovani-deti-psychicka-porucha-psychiatri-pomoc-web.A220714\\_205741\\_domaci\\_imat](https://www.idnes.cz/zpravy/domaci/sebeposkozovani-deti-psychicka-porucha-psychiatri-pomoc-web.A220714_205741_domaci_imat) (accessed on 7 Dec 2022).

15. **Agostino H., Burstein B., Moubayed D., et al.** Trends in the Incidence of New-Onset Anorexia Nervosa and Atypical Anorexia Nervosa Among Youth During the COVID-19 Pandemic in Canada. *JAMA Netw Open* 2021; 4(12): e213739
16. **Gilsbach S., Plana MT., Castro-Fornieles J., et al.** Increase in admission rates and symptom severity of childhood and adolescent anorexia nervosa in Europe during the COVID-19 pandemic: data from specialized eating disorder units in different European countries. *Child Adolesc Psychiatry Ment Health* 2022; 16(1): 46.
17. **Lin JA., Hartman-Munick SM., Kells MR.** The impact of the COVID-19 pandemic on the number of adolescents/young adults seeking eating disorder-related care. *J Adolesc Health* 2021; 69: 660-663.
18. **Otto AK., Jary JM., Sturza J., et al.** Medical Admissions Among Adolescents With Eating Disorders During the COVID-19 Pandemic. *Pediatrics* 2021; 148(4): e2021052201. Erratum in: *Pediatrics*. 2022; 149(1): e2021054921.
19. **Vysoudil M.** Souhrnná data vykázané zdravotní péče u dg. F50 v letech 2017-2022. Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR, Praha, Czech Republic. 2023 May 14 (v tisku).
20. **Graell M., Morón-Nozaleda M.G., Camarneiro, R., et al.** Children and adolescents with eating disorders during COVID-19 confinement: Difficulties and future challenges. *Eur Eat Disord Rev* 2020; 28(6): 864-870.
21. **Matthews A., Kramer RA., Peterson CM., Mitan L.** Higher admission and rapid readmission rates among medically hospitalized youth with anorexia nervosa/atypical anorexia nervosa during COVID-19. *Eat Behav* 2021; 43: 101573.
22. **Devoe DJ., Han A., Anderson A., et al.** The impact of the COVID-19 pandemic on eating disorders: A systematic review. *Int J Eat Disord* 2023; 56(1): 5-25.
23. MKN-10 2023. Available online: <https://mkn10.uzis.cz> (accessed on 9<sup>th</sup> July 2023)
24. **Raboch J., Hrdlička M., Mohr P., et al.** ed. DSM-5®: diagnostický a statistický manuál duševních poruch. 1. vyd. Praha; Hogrefe-Testcentrum ČR 2015, 1088 str.
25. **Státní zdravotní ústav: PROGRAM RustCZ KE STAŽENÍ.** Available online: <https://szu.cz/publikace/data/program-rustcz-ke-stazeni> (accessed 21<sup>st</sup> Feb 2023)
26. **Vignerová J., Riedlová J., Bláha P., et al.** 6. celostátní antropologický výzkum dětí a mládeže 2001, Česká republika: Souhrnné výsledky. (6th Nation-wide Anthropological Survey of Children and Adolescents 2001, Czech Republic. Summary results.) 1. vyd. Praha; Univerzita Karlova v Praze a Státní zdravotní ústav 2006, 236 str.
27. **Durnin JV., Womersley J.** Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 years. *Br J Nutr* 1974; 32(1), 77-97.
28. **Kurtoğlu S., Hatipoğlu N., Mazicioğlu M., et al.** M. Insulin resistance in obese children and adolescents: HOMA-IR cut-off levels in the prepubertal and pubertal periods. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2010; 2(3): 100-106.
29. **Furstova J., Kascakova, N., Sigmundova D., et al.** Perceived stress of adolescents during the COVID-19 lockdown: Bayesian multilevel modeling of the Czech HBSC lockdown survey. *Front Psychol* 2022; 13: 964313.
30. **Marshall DT.** COVID-19 and School Closures: A Narrative Review of Pediatric Mental Health Impacts. *J School Choice*. Published online: 10 Apr; 2023.
31. **Výbor Sekce dětské a dorostové psychiatrie PS ČLS JEP.** Koncepce dětské a dorostové psychiatrické péče 2023 (Praha, Czech Republic) (phase: unpublished work, 2023 June)
32. **Mattar L., Godart N., Melchior J., Pichard C.** Anorexia nervosa and nutritional assessment: Contribution of body composition measurements. *Nutr Res Rev* 2011; 24(1): 39-45.

33. **Khalil BR., Sultan A., Seneque M., et al.** Clinical Correlates of Measured and Predicted Resting Energy Expenditure in Patients with Anorexia Nervosa: A Retrospective Cohort Study. *Nutrients* 2022; 14(13): 2727.
34. **El Ghoch M., Alberti M., Capelli C., et al.** Resting Energy Expenditure in Anorexia Nervosa: Measured versus Estimated. *J Nutr Metab* 2012; 2012: 652932.
35. **Ulger Z., Gürses D., Ozyurek AR., et al.** Follow-up of cardiac abnormalities in female adolescents with anorexia nervosa after refeeding. *Acta Cardiol* 2006; 61: 43-49.
36. **Yahalom M., Spitz M., Sandler L. et al.** The significance of bradycardia in anorexia nervosa. *Int J Angiol* 2013; 22(2): 83-94.
37. **Mehler PS., Brown C.** Anorexia nervosa - medical complications. *J Eat Disord* 2015; 3: 11.
38. **Ilyas A., Hübel C., Stahl D., et al.** The metabolic underpinning of eating disorders: A systematic review and meta-analysis of insulin sensitivity. *Mol Cell Endocrinol* 2019; 497: 110307.
39. **Usdan LS., Khaodhiar L., Apovian CM.** The endocrinopathies of anorexia nervosa. *Endocr Pract* 2008; 14(8): 1055-1063.
40. **Jada K., Djossi SK., Khedr A., et al.** The Pathophysiology of Anorexia Nervosa in Hypothalamic Endocrine Function and Bone Metabolism. *Cureus* 2021; 13(12): e20548.
41. **Corbetta F., Tremolizzo L., Conti E., et al.** Paradoxical increase of plasma vitamin B12 and folates with disease severity in anorexia nervosa. *Int J Eat Disord* 2015; 48(3): 317-22.
42. **Tam FI., Chocholi I., Hellerhoff I., et al.** Liver and vitamin B<sub>12</sub> parameters in patients with anorexia nervosa before and after short-term weight restoration. *Psychiatry Res* 2022; 314: 114673.
43. **Argan O., Ural D., Karauzum K., et al.** Elevated levels of vitamin B12 in chronic stable heart failure: a marker for subclinical liver damage and impaired prognosis. *Ther Clin Risk Manag* 2018; 14: 1067-1073.
44. **Dou J., Xu W., Ye B., et al.** Serum vitamin B12 levels as indicators of disease severity and mortality of patients with acute-on-chronic liver failure. *Clin Chim Acta* 2012; 413(23-24): 1809-1812.
45. **Giannini EG., Testa R., Savarino V.** Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. *CMAJ* 2005; 172(3): 367-379.
46. **Barron LJ., Barron RF., Johnson, JCS., et al.** A retrospective analysis of biochemical and haematological parameters in patients with eating disorders. *J Eat Disord* 2017; 5: 32.
47. **Tran J., Story C., Moore D., Metz, M.** Unexpected increased ferritin concentration in patients with anorexia nervosa. *Ann Clin Biochem* 2013; 50(5): 504-506.
48. **Wanby P., Berglund J., Brudin L., et al.** Increased ferritin levels in patients with anorexia nervosa: impact of weight gain. *Eat Weight Disord* 2016; 21: 411-417.
49. **Amanoal CH., Nielsen LK., Thomsen HH.** Extreme hyperferritinemia in restrictive type anorexia nervosa. *Endocrinol Diabetes Metab Case Rep* 2023; 2023(1): 22-0405.
50. **Vetrugno G.** Rapid response to: Adult onset Still's disease: rare but important cause of raised ferritin. *BMJ* 2015; 351: h4569.
51. **Gaudiani JL., Sabel AL., Mehler PS.** Low prealbumin is a significant predictor of medical complications in severe anorexia nervosa. *Int J Eat Disord.* 2014; 47(2): 148-156.
52. **Lee JL., Oh ES., Lee RW., Finucane TE.** Serum Albumin and Prealbumin in Calorically Restricted, Nondiseased Individuals: A Systematic Review. *Am J Med* 2015; 128(9): 1023e1-1023e22.
53. **Li Y., Liu X., Jiang Y., et al.** Low preoperative prealbumin predicts the prevalence of complications following liver transplantation. *BMC Gastroenterol* 2021; 233(2021). <https://doi.org/10.1186/s12876-021-01818-1>

## MODULAČNÝ ÚČINOK VYBRANÝCH LÁTOK NA CIEVNU STENU

### MODULATORY EFFECT OF SELECTED SUBSTANCES ON THE VESSEL WALL

Z. Guľašová<sup>1</sup>, Z. Hertelyová<sup>1</sup>, D. Szabóová<sup>2</sup>, V. Tomečková<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Centrum klinického a preklinického výskumu, MEDIPARK, LF UPJŠ v Košiciach

<sup>2</sup>Ústav patologickej fyziológie, LF UPJŠ v Košiciach

<sup>3</sup>Ústav lekárskej a klinickej biochémie, LF UPJŠ v Košiciach

#### Abstract

**Aim:** Metabolic remodeling of endothelium is an integral part of the pathogenesis of heart failure and therefore the aim of this study is focused on the influence of selected concentrations of levamisole (0.01; 0.5; 0.1; 1mM) on the behavior of human dermal microvascular endothelial cells (HMEC).

**Methods:** The metabolic activity of HMEC was studied by MTS assay, the proliferation of HMEC by BrdU assay, and the migration activity of HMEC by injury assay.

**Results:** The incubation of HMEC with 0.5mM levamisole with 1mM levamisole showed the most significant decrease of the metabolic activity of HMEC in comparison with control cells. The cell proliferation, migration, and movement activity of HMEC were significantly inhibited with 1 mM levamisole.

**Conclusion:** Levamisole with 0.5 and 1 mM concentration was the most significant inhibitor of metabolic activity, cell proliferation, and migration of HMEC. This study showed a possible toxic effect of levamisole on endothelial cells as a drug for the treatment of cardiovascular ischemic diseases which is dependent on levamisole concentration.

#### Úvod

Angiogenéza je proces vývoja a tvorby nových ciev, ktorý zohráva dôležitú úlohu vo fyziologických procesoch, ako je reprodukcia, rast tkanív, vývoj a hojenie rán (Stryker et al., 2019; Wang et al., 2020). Angiogenéza sa líši od vaskulogenézy, počas ktorej sa cievy tvoria de novo z angioblastických prekursorových buniek počas embryonálneho vývoja a z endotelových progenitorových buniek u dospelých. Vazodilatácia je jedným z prvých krokov, ktoré iniciujú angiogenézu. Primárna cievna sieť sa modifikuje angiogenézou, tvorbou nových kapilár z existujúcich ciev. Angiogenéza je viacstupňový proces: zahŕňa diferenciáciu buniek, degradáciu bazálnej membrány, aktiváciu endotelových buniek, proliferáciu, migráciu a tvorbu ciev (Asprițoiu et al., 2021; Toimela et al., 2017).

Aktivované endotelové bunky ciev podporujú tvorbu ciev. Pri angiogenéze zohráva dôležitú úlohu niekoľko rastových faktorov. Vaskulárny endotelový rastový faktor A (VEGF-A) je dôležitým signálom počas vaskulogenézy a angiogenézy. Tento glykoproteínový faktor stimuluje rast buniek endotelu ciev a podporuje priepustnosť ciev. Produkujú ho viaceré typy buniek, napr. makrofágy, nádorové bunky, krvné doštičky, keratinocyty. VEGF-A sa zúčastňuje na procese aterosklerózy prostredníctvom angiogenézy, regenerácie endotelu a zápalového procesu v cievnej stene. Aktivita VEGF-A sa neobmedzuje len na cievny systém, VEGF-A plní svoju funkciu aj pri tvorbe kostí, krvotvorbe a hojení rán (Al-Ostootet al., 2021). VEGF sa viaže na špecifické fosfo-tyrozínkinázové receptory (VEGF-A receptor-1 a VEGF-A receptor-2), ktoré sú lokalizované na endotelových bunkách. Signalizácia VEGF-A je veľmi dôležitá počas vývoja aneuryzmy aorty a má priamy vplyv na tvorbu metaloproteináz a ich aktiváciu (Viallard, 2017; Wang et al., 2020).

Levamisol je antihelmintická látka, používa sa aj na adjuvantnú chemoterapiu kolorektálneho karcinómu pri kontrole progresie nádoru (Wang et al., 2020; Qiao et al., 2020). Uvádza sa tiež, že levamisol zvyšuje mitogénom indukovanú proliferáciu T-buniek a potencuje proliferáciu IL-2 v T-bunkách in vitro, ako aj indukuje zvýšenie expície cytokínu IL-18 (Witonsky et al., 2019; Uyaroglu et al., 2020).

Cieľom štúdie je overiť hypotézy, či by sa levamisol mohol použiť pri liečbe kardiovaskulárneho ochorenia, ovplyvnením signálnej dráhy VEGF a inhibíciou migrácie a proliferácie endotelových buniek.

## **Materiál a metodika**

### ***Bunkové kultúry***

Ludské mikrovaskulárne endotelové bunky (HMEC-1, od ATCC, Veľká Británia) boli kultivované s médiom RPMI 1640 (Sigma, PT) doplneným o 10% fetálne hovädzie sérum (FBS; Invitrogen Life Technologies, Veľká Británia), 1% penicilín/streptomycín (Invitrogen Life Technologies, Škótsko, Veľká Británia), 1. 176 g/l hydrogenuhličitanu sodného, 4,76 g/l HEPES, 10 µg/ml EGF a 1 mg/l hydrokortizónu >98 % (Sigma, PT) a inkubované pri 37°C v atmosfére s 5 % CO<sub>2</sub>. Levamisol (Sigma-Aldrich, Sintra, Portugalsko) bol rozpustený v sterilnej destilovanej vode a pridaný k bunkovým kultúram v koncentrácii 0.01; 0.5; 0.1 a 1mM. Ošetrovanie sa vykonávalo po dobu 24 hodín v médiu doplnenom 2 % FBS a 1 % penicilínu/streptomycínu (neúplné kultivačné médium).

### ***Metabolická aktivita***

HMEC (1x10<sup>5</sup> buniek/ml) boli nasadené do 96-jamkovej platničky v kompletnom bunkovom kultivačnom médiu (RPMI s 10 % FBS) a nechané rásť 24 hodín v inkubátore pri 37 °C a 5 % CO<sub>2</sub>. Následne boli bunky premyté fosfátovým tlmivým roztokom (PBS, Sigma-Aldrich, Sintra, Portugalsko) a inkubované s levamisolom v nekompletnom kultivačnom médiu počas 24 h. V štúdiu boli použité rôzne koncentrácie (1 mM, 0,5 mM, 0,1 mM a 0,01 mM) levamisolu. Po uplynutí 24h inkubačnej doby boli bunky opätovne inkubované s tetrazolovou zlúčeninou MTS [3-(4,5-dimetyltiazol-2-yl)-5-(3-karboxymetoxifenyl)-2-(4-sulfofenyl)-2H-tetrazol] počas 3 hodín. Absorbancia vzoriek sa merala v mikrotitračnej čítačke (Multiscan ascent 354, Thermo electron corporation) pri vlnovej dĺžke 492 nm.

### ***Proliferačná aktivita***

HMEC (1x10<sup>5</sup> buniek/ml) boli kultivované v 96-jamkovej platničke v kompletnom kultivačnom médiu (RPMI s 10% FBS) počas 24 h v inkubátore pri 37 °C a 5 % CO<sub>2</sub>. Bunky boli premyté PBS a inkubované s levamisolom (1 mM, 0,5 mM, 0,1 mM a 0,01 mM) v nekompletnom kultivačnom médiu počas 24 h. Následne boli bunky inkubované s 10 µl/jamku roztokom na značenie BrdU 4 h. Nasledovala inkubačná doba 30 min s roztokom FixDenat (Cell Proliferation ELISA, BrdU, kolorimetrický, Roche) a 90 min s roztokom anti-BrdU-POD, premývacia doba s premývacím roztokom (Cell Proliferation ELISA, BrdU, kolorimetrický, Roche) a opätovná inkubácia so substrátovým roztokom počas 10 min. Absorbancia vzoriek sa merala po pridaní stop roztoku (1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) v mikrotitračnej čítačke (Multiscan ascent 354, Thermo electron corporation) pri vlnovej dĺžke 450 nm a 690 nm.

### ***Migračná aktivita***

HMEC boli kultivované v 24-jamkových platničkách v kompletnom bunkovom kultivačnom médiu a ponechané rásť do 80-90 % konfluencie v inkubátore pri 37 °C a 5 % CO<sub>2</sub>. Bunková monovrstva v jednotlivých jamkách platničky bola poškodená hrotom pipety, následne boli bunky premyté PBS a inkubované s nekompletným bunkovým kultivačným médiom obsahujúcim levamisol o rôznych koncentráciách (1 mM, 0,5 mM, 0,1 mM a 0,01 mM) počas



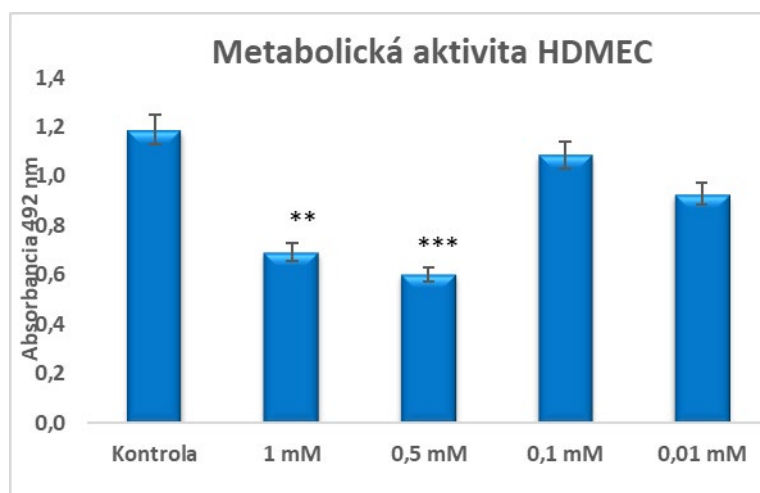
24 h. Migrácia buniek do poškodenej oblasti bola vizualizovaná a fotografovaná na fázovo kontrastnom mikroskope (Axio Zeiss Observer Z.1, USA) ihneď po poškriabaní bunkovej monovrstvy a po 24 h inkubácii.

### Štatistická analýza

Výsledky dosiahnuté pri jednotlivých experimentálnych postupoch boli štatisticky analyzované použitím vybraných štatistických testov: One-Way ANOVA, Student-Newman-Keuls test.

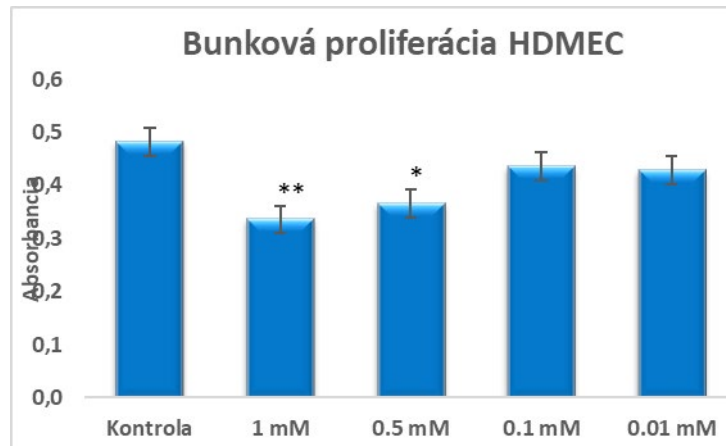
### Výsledky

Metabolická aktivita a funkcia v HMEC ovplyvneá levamizolom bola skúmaná pomocou MTS testu. Pokiaľ ide o účinok levamizolu v endotelových bunkách (obr. 1), pozoroval sa štatisticky významný pokles metabolickej aktivity HMEC po 24-hodinovej inkubácii s 1 mM (hodnota) a 0,5 mM (hodnota) levamizolu v porovnaní s kontrolnou skupinou (hodnota,  $p < 0,01$ ). Na druhej strane 0,1 a 0,01 mM levamizol neovplyvnil metabolickú aktivitu HMEC (obr. 1) v porovnaní s kontrolnou skupinou (hodnota +SEM).



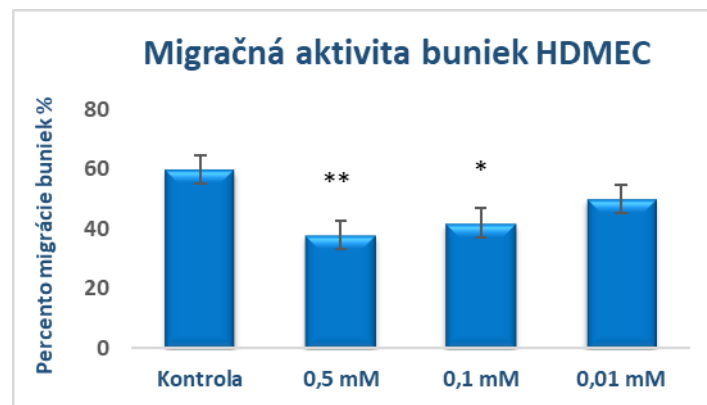
**Obr. 1** The effect of levamisole different (0.01; 0.5; 0.1; 1 mM) concentrations on the metabolic activity of HMEC cells was studied by MTS assay. The values of metabolic activity of HMEC represent the mean±SEM.

Vplyv levamizolu (0,01; 0,5; 0,1; 1 mM) na proliferáciu HMEC bol detekovaný pomocou BrdU testu (obr. 2). Inkubácia HMEC s 1 mM levamizolom (obr. 2) vykazovala najvýraznejšiu inhibíciu proliferácie buniek ( $p < 0,01$ ) v porovnaní s kontrolnými bunkami. Významnú inhibíciu proliferácie buniek ( $p < 0,05$ ) vykazovala inkubácia HMEC s 0,5 mM levamizolom (obr. 2), zatiaľ čo 0,01 a 0,1 mM levamizol nevykazovali štatisticky významnú inhibíciu proliferácie HMEC (obr. 2).

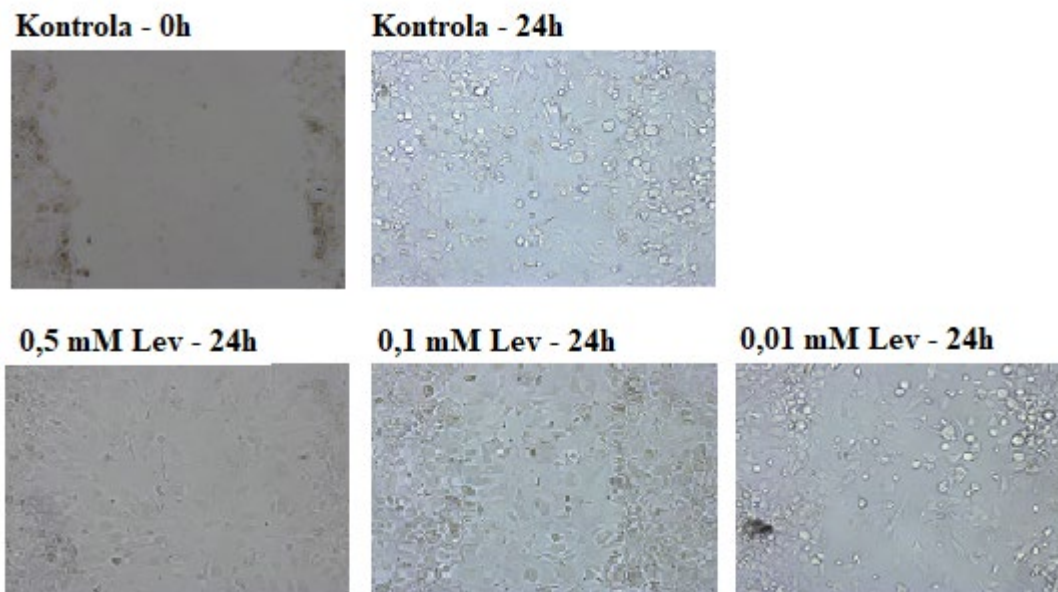


**Obr. 2** The effect of levamisole different (0.01; 0.5; 0.1; 1 mM) concentrations on the proliferation activity of HMEC was studied by BrdU assay. The values of proliferative activity of HMEC represent the mean ± SEM.

Migračná aktivita a pohyb HMEC sa skúmali pomocou testu poškodenia bunkovej monovrstvy (obr. 3). Inkubácia HMEC s 0,5 mM levamizolom počas 24 hodín (obr. 3) ukázala najväčšiu inhibíciu pohybovej aktivity HMEC. Migrácia HMEC inkubovaných s 0,01 mM levamizolom nebola po 24 h inkubácii ovplyvnená (obr. 3). Pohybová aktivita HMEC bola pozorovaná ako snaha HMEC regenerovať poškodené miesta v jednotlivých jamkách platničky s inkubovanými bunkami (obr. 4).



**Obr. 3** The effect of levamisole different (0.01; 0.5; 0.1 mM) concentrations on the cell migration of HMEC was studied by injury assay. The values of injury assay of HDMEC represent the mean ± SEM.



**Obr. 4** The effect of levamisole different (0.01; 0.5; 0.1mM) concentrations on the HMEC cell migration captured by microscope.

### Diskusia

Zápal je kľúčovým patologickým procesom v aneuryzme aorty (Postnov a kol., 2021). Levamizol môže mať potenciálne využitie pri liečbe zápalových ochorení, pretože tento imunomodulátor ako doplnková liečba stimuluje makrofágové bunky a T-cytotoxickú imunitnú odpoveď (Witonsky et al., 2019). Levamizol je tiež antihelmintikum s imunomodulačnými účinkami, ktoré sa môže účinne použiť na protívirusovú liečbu, ako aj u pacientov s COVID-19 (Uyaroglu et al., 2020).

U ľudí má intravenózne podávaný levamizol ako návyková látka stimulačné a posilňujúce účinky. Levamizol sa dočasne používa pri liečbe nefrotického syndrómu pre svoje imunomodulačné vlastnosti (García Soto a kol., 2020). Smrteľné otravy použitím levamizolu sú veľmi zriedkavé, ale možné (Lelièvre et al., 2021). To viedlo k zvýšenému zisťovaniu nežiaducich reakcií levamizolu vrátane multifokálnej zápalovej leukoencefalopatie vyvolanej levamizolom, potenciálne smrteľného monofázického cerebrálneho demyelinizačného ochorenia, ktoré vedie k encefalopatii a motorickým prejavom. Levamizol môže vyvolať závažné reakcie precitlivenosti, ktoré by mohli byť potenciálne toxické. Kožná biopsia odhalila fokálnu epidermálnu nekrózu v celej hrúbke, exocytózu lymfocytov a perivaskulárnu lymfocytárnu infiltráciu (Rohilla a Jain, 2021; Chung-Hao Hsu a Tsu-Man Chiu, 2022). Patofyziológia multifokálnej zápalovej leukoencefalopatie vyvolanej levamizolom môže závisieť od imunologického mechanizmu, ktorý spôsobuje viacnásobné demyelinizačné lézie postihujúce subkortikálnu a periventrikulárnu bielu hmotu, bazálne gangliá a/alebo mozgový kmeň (Pessini et al., 2020). Multifokálna zápalová leukoencefalopatia vyvolaná levamizolom je jednou z najzávažnejších komplikácií používania levamizolu (Belova et al., 2020; Rohilla a Jain, 2021). Levamizol môže u niektorých pacientov vyvolať vaskulitídu (Sundararaj et al., 2020; Engels, 2020; Ambur a Nyckowski, 2022). Konzumácia kokaínu falšovaného levamizolom môže zvýšiť riziko srdcových komplikácií, najmä v prítomnosti už existujúcich srdcových patológií (Gartz et al., 2020).

Zápalové cytokíny sú silnými angiogénnymi faktormi, ktoré môžu iniciovať angiogénu v aneuryzme aorty počas hypoxických podmienok vo vnútorných vrstvách média. Hladké svalové bunky v stene aorty produkujú angiogénne faktory počas hypoxie. Hypoxické



podmienky vedú k produkcii silných angiogénnych faktorov, ako sú VEGF, syntáza oxidu dusnatého a cyklooxygenáza-2 (COX-2), ktoré sú tiež známymi faktormi podieľajúcimi sa na vzniku aneuryziem (Bejjani et al., 2020; Norooznezhad a Mansouri, 2021).

VEGF je produkovaný mnohými typmi buniek vrátane nádorových buniek, makrofágov, krvných doštičiek, keratinocytov a renálnych mezangiálnych buniek. Aktivity VEGF sa neobmedzujú len na cievny systém. Signalizácia VEGF je kľúčová pri migrácii makrofágov, ktorá sa považuje za dôležitú úlohu pri vzniku aneuryzmy aorty tým, že ovplyvňuje neovaskularizáciu aj chronický zápal (Wheeler et al., 2018; Wang et al., 2020).

Angiogenézu a vaskulogenézu možno inhibovať ovplyvnením angiogénneho procesu a prerušením vaskulogenézy. Jedným z angiogénnych inhibítorov s antiproliferačným účinkom je levamizol (Toimela et al., 2017). Levamizol sa používa na liečbu infekcií spôsobených červami, ale levamizol konjugovaný s CD133 môže inhibovať aj rast rakovinových buniek inhibíciou dráhy aldehyddehydrogenázy. Nosič liečiva zameraný na CD133, biomarker nadmerne exprimovaný v bunkách rakoviny vaječníkov, nepreukázal významnú cytotoxickú účinnosť levamizolu v závislosti od dávky (Wang a kol., 2020). Levamizol má antiparazitárne a protinádorové aktivity. Protinádorová adjuvantná aktivita levamizolu sa môže použiť ako adjuvans v kombinácii s protinádorovými liekmi aktivita ligandu indukujúceho apoptózu spojenú s faktorom nekrózy nádoru (TRAIL) pri liečbe rakoviny pľúc. (TRAIL) sa považuje za sľubné liečivo vďaka svojej schopnosti selektívne zasiahnuť rakovinové bunky. Levamizol znižoval proliferáciu buniek rakoviny pľúc in vitro a in vivo a indukoval zastavenie bunkového cyklu vo fáze G0/G1. Bola tiež odhalená nová ochranná dráha buniek LC3B-DR4/Erk, v ktorej levamizol zvýšil iba expresiu LC3B a potom aktivoval fosforyláciu Erk a zvýšil expresiu DR4, pričom p-Erk a DR4 sa vzájomne regulovali. Okrem toho levamizol zvýšil aj apoptózu nezávislú od DR4 indukovanú TRAILom tým, že inhiboval fosforyláciu cJUN. Objav LC3B-DR4/Erk ako novej ochranné dráhy poskytuje nový smer senzibilizácie buniek rakoviny pľúc na TRAIL (Qiao et al., 2020).

## Záver

Levamizol, angiogénny inhibítor s antiproliferačným účinkom, je liečivo s antihelmintickou, antiparazitárnou a protinádorovou aktivitou. Táto látka tiež stimuluje a inhibuje účinok zápalových buniek v organizme, čo iniciuje jej potenciálne využitie pri liečbe zápalových ochorení.

Naša štúdia poukázala na to, že levamizol s koncentraciou 0,5 a 1 mM bol najvýznamnejším inhibítorom bunkového metabolizmu, zahŕňajúc metabolickú, proliferačnú a migračnú aktivitu.

## PodĎakovanie

*Táto práca vznikla vďaka podpore VEGA grantu č. 1/0622/20 a projektu PROBIO-3, Bioaktívne látky pre podporu zdravia a prevenciu chronických ochorení.*

## Referencie

**Al-Ostoot FH., Salah S., Khamees HA., Khanum SA.** Tumor angiogenesis: Current challenges and therapeutic opportunities. *Cancer Treat Res Commun* 2021; 28: 100422.

**Ambur A., Nyckowski T.** A severe case of Levamisole-induced vasculitis. *Clin Toxicol (Phila)* 2022; 60(7): 882-883.

**Asprițoiu VM., Stoica I., Bleotu C., Diaconu CC.** Epigenetic Regulation of Angiogenesis in Development and Tumors Progression: Potential Implications for Cancer Treatment. *Front Cell Dev Biol* 2021; 9: 689962.

- Bejjani AT., Saab SA., Muhieddine DH., et al.** Spatiotemporal Dynamics of Immune Cells in Early Left Ventricular Remodeling After Acute Myocardial Infarction in Mice. *J Cardiovasc Pharmacol* 2020; 75(2): 112-122.
- Belova AN., Solovieva VS., Rasteryaeva MV., Belova EM.** [Multifocal inflammatory levamisole-induced leukoencephalopathy]. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova* 2020; 120(7.Vyp.2): 89-96.
- Engels D.** Cocaine Use and Levamisole-Induced Vasculitis: A Multiple Case Study. *J Wound Ostomy Continence Nurs* 2020; 47(2): 182-189.
- García Soto L., Miranda Romera P., Vintimilla Andrade JE., et al.** Levamisole in the treatment of nephrotic syndrome. (Levamisol en el tratamiento del síndrome nefrótico). *An Pediatr (Engl Ed)* 2020; 92(3): 168-169.
- Gartz A., Pawlik E., Eckhardt J., et al.** Effects of cocaine and levamisole (as adulterant) on the isolated perfused Langendorff heart. *Int J Legal Med* 2020; 134(5): 1741-1752.
- Chung-Hao Hsu MD., Tsu-Man Chiu MD.** A 5-year-old girl with toxic epidermal necrolysis induced by levamisole. *Int J Dermatol* 2022; 61(3): e96–e98.
- Lelièvre B., Suply B., Schmitt F., et al.** A fatal case after an intravenous injection of levamisole. *Forensic Sci Med Pathol* 2021; 17(1): 130-135.
- Norooznehad AH., Mansouri K.** Endothelial cell dysfunction, coagulation, and angiogenesis in coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Microvasc Res* 2021; 137: 104188.
- Pessini LM., Kremer S., Auger C., et al.** Tumefactive inflammatory leukoencephalopathy in cocaine users: Report of three cases. *Mult Scler Relat Disord* 2020; 38: 101496.
- Postnov A., Suslov A., Sobenin I., et al.** Thoracic Aortic Aneurysm: Blood Pressure and Inflammation as Key Factors in the Development of Aneurysm Dissection. *Curr Pharm Des* 2021; 27(28): 3122-3127.
- Qiao X., Wang C., Wang W., et al.** Levamisole enhances DR4-independent apoptosis induced by TRAIL through inhibiting the activation of JNK in lung cancer. *Life Sci* 2020; 257: 118034.
- Rohilla R., Jain A.** Levamisole induced toxic epidermal necrolysis: A case report. *Br J Clin Pharmacol* 2021; 87(3): 1574-1577.
- Stryker ZI., Rajabi M., Davis PJ., Mousa SA.** Evaluation of Angiogenesis Assays. *Biomedicines* 2019; 7(2): 37.
- Sundararaj KCS., Chapman AB., Sprenger CJ., et al.** Levamisole-induced cutaneous vasculitis. *Clin Exp Dermatol* 2020; 45(7): 935-937.
- Toimela T., Huttala O., Sabell E., et al.** Intra-laboratory validated human cell-based in vitro vasculogenesis/angiogenesis test with serum-free medium. *Reprod Toxicol* 2017; 70: 116-125.
- Uyaroğlu OA., Güven GS., Güllü İ.** Can Levamisole be used in the treatment of COVID-19 patients presenting with diarrhea? *J Infect Dev Ctries* 2020; 14(8): 844-846.
- Viallard C., Larrivé B.** Tumor angiogenesis and vascular normalization: alternative therapeutic targets. *Angiogenesis* 2017; 20(4): 409-426.
- Wang YC., Bai MY., Yeh YT., et al.** CD133 Targeted PVP/PMMA Microparticle Incorporating Levamisole for the Treatment of Ovarian Cancer. *Polymers (Basel)* 2020; 12(2): 479.
- Wang X., Bove AM., Simone G., Ma B.** Molecular Bases of VEGFR-2-Mediated Physiological Function and Pathological Role. *Front Cell Dev Biol* 2020; 8: 599281.
- Wheeler KC., Jena MK., Pradhan BS., et al.** VEGF may contribute to macrophage recruitment and M2 polarization in the decidua. *PLoS One* 2018; 13(1): e0191040.
- Witonsky S., Buechner-Maxwell V., Santonastasto A., et al.** Can levamisole upregulate the equine cell-mediated macrophage (M1) dendritic cell (DC1) T-helper 1 (CD4 Th1) T-cytotoxic (CD8) immune response in vitro? *J Vet Intern Med* 2019; 33(2): 889-896.

**METABOLOMICKÉ MARKERY PRI KARCINÓME PRSNÍKA****METABOLOMIC MARKERS OF BREAST CARCINOMA****Z. Hertelyová<sup>1</sup>, N. Madárová<sup>2</sup>, Z. Guľašová<sup>1</sup>, J. Radoňak<sup>2</sup>**<sup>1</sup> *Center of Clinical and Preclinical Research MEDIPARK, Faculty of Medicine, UPJŠ, Košice*<sup>2</sup> *Clinic of Surgery, UNLP and Faculty of Medicine, UPJŠ Košice*

Karcinóm prsníka predstavuje v celosvetovom meradle najčastejšie diagnostikované nádorové ochorenie, ktoré je zároveň najčastejšou príčinou úmrtia žien na rakovinu. Incidencia karcinómu prsníka je najvyššia v severnej a západnej Európe, v štátoch Severnej Ameriky, v Austrálii, na Novom Zélande. Naopak najnižší výskyt je v Ázii a v subsaharskej Afrike. Rozdiely súvisia so spoločenskými zmenami počas industrializácie, kedy došlo k zmene v stravovacích návykoch, k posunu prvej menštrualizácie aj laktácie, zmene telesných proporcií, najmä telesnej hmotnosti, k zmene v počte gravidít a k oddialeniu prvého pôrodu. Patofyziologické zmeny, spojené s poškodením buniek, začínajú pred nástupom klinických prejavov. Pochopenie skorých mechanizmov týchto nádorových zmien je preto obzvlášť dôležité pre včasnú diagnostiku ochorenia a identifikáciu terapeutických cieľov, modifikujúcich ochorenie a celkové zlepšenie prognózy pacienta. Vzhľadom na fakt, že lipidy a lipidové intermediáty tvoria esenciálne komponenty bunkových štruktúr, predstavuje lipidomika vhodný nástroj, ktorý deteguje poruchy v metabolizme, odrážajúce zmeny v biologickom profile organizmu zdravých aj chorých jedincov. Využitie metabolomiky by teda mohlo pomôcť pri identifikácii biomarkerov pre včasné diagnostikovanie nádorových zmien, ktorých diagnostika v neskorom štádiu značne zhoršuje prognózu pacientov. Okrem toho je schopná monitorovať terapeutickú odpoveď organizmu a pomôcť odhaliť progresiu ochorenia.

**Cieľom práce** bolo stanoviť metabomolomický profil u pacientiek s karcinómom prsníka a porovnať so ženami bez karcinómu, stanoviť zmeny v lipidovom metabolizme vo vybranej skupine žien a sledovať zmeny v zastúpení mastných kyselín vo fosfolipidoch vo vybranej skupine žien. V našej klinickej štúdiu sme mali dve skupiny. Prvú skupinu tvorilo 80 pacientiek s potvrdeným karcinómom prsníka pri CORECUT biopsii, ktoré boli prijaté na I. chirurgickú kliniku za účelom chirurgického odstránenia karcinómu. Druhú kontrolnú skupinu tvorili študentky LF UPJŠ Košice. Zo séra sme stanovili mastné kyseliny metódou plynovej chromatografie s plameňovo-ionizačným detektorom (Agilent 7890 A). Sfingomyelínov, fosfatidylcholínov a lyzofosfatidylcholínov a cirkulujúce triacylglyceroly sme stanovili metódou kvapalinovej chromatografie s hmotnostným spektrometrom na báze trojitého kvadrupólu (LC-MS - Xevo TQ-S s Acquity 2D UHPLC). Sledovaním zmien metabomolomických markerov sme zaznamenali signifikantne vyšší C-2 acylkarnitín u pacientiek s karcinómom prsníka v porovnaní s kontrolnou skupinou. Hodnotením ďalších skupín metabolitov - fosfatidylcholínov a lyzofosfatidylcholínov, sme signifikantne vyššie hladiny zaznamenali pri LysoPC aa C14:0, PC aa C30:0, PC aa C34:0, PC ae C34:2, PC ae C34:3, PC aa C36:2, PC ae C36:2, PC ae C38:1 a PC ae C38:2. Z polynenasýtených mastných kyselín sme zaznamenali signifikantne zmeny pri C18:3, C22:4 a C22:5 (omega-6 polynenasýtených mastných kyselinách) a pri C18:3, C20:5, C22:6 (omega-3 polynenasýtených mastných kyselinách). Štúdiom a následným zväčšením súboru je možné detekovať metabolity, ktoré by sa mohli stať potencionálnymi markermi, ktoré detekujú

poruchy v metabolizme, odrážajú zmeny v biologickom profile organizmu zdravých aj chorých.

**Kľúčové slová:** karcinóm prsníka metabolomika, plynová chromatografia, kvapalinová chromatografia, mastné kyseliny, potencionálne diagnostické markery

*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.*

**METABOLOMICKÝ PROFIL NEALKOHOLOVEJ STEATÓZY PEČENE****METABOLOMIC PROFILE OF NON-ALCOHOLIC STEATOSIS OF LIVER****Z. Hertelyová<sup>1</sup>, S. Dražilová<sup>2</sup>, Z. Gul'ašová<sup>1</sup>, P. Jarčuška<sup>2</sup>**<sup>1</sup> *Center of Clinical and Preclinical Research MEDIPARK, Faculty of Medicine, UPJŠ, Košice*<sup>2</sup> *II. Internal Clinic, Faculty, UNLP and Faculty of Medicine, UPJŠ Košice*

Nealkoholová steatóza pečene je najčastejším chronickým ochorením pečene na celom svete a často sa vyskytuje súčasne s inzulínovou rezistenciou, obezitou, diabetom, hyperlipidémiou a hypertenziou, ktoré vážne ohrozujú ľudské zdravie. Metabolomika sa zameriava na kvantitatívne zmeny metabolitov v organizme a hľadá súvislosť medzi metabolitmi a fyziologickými a patologickými zmenami. Lipidomika identifikuje kľúčové lipidové biomarkery porovnávaním zmien malých molekúl lipidov v tele pri rôznych patofyziologických stavoch. Cieľom práce bolo stanoviť metabolomické parametre u pacientov s nealkoholovou steatózou pečene a porovnať namerané výsledky so skupinou mladých, zdravých dobrovoľníkov. V našej klinickej štúdiu sme mali dve skupiny, pacientov s potvrdenou nealkoholovou steatózou pečene a zdravých študentov z LF UPJŠ Košice. Zo séra sme stanovili mastné kyseliny metódou plynovej chromatografie s plameňovo-ionizačným detektorom (Agilent 7890 A). Žlčové kyseliny a cirkulujúce triacylglyceroly sme stanovili metódou kvapalinovej chromatografie s hmotnostným spektrometrom na báze trojitého kvadrupólu XEVO TQ-S. V skupine pacientov s nealkoholovou steatózou pečene sme zaznamenali nárast nasýtených mastných kyselín (kyseliny palmitovej a steárovej), trans mastných kyselín, triacylglycerolov obsahujúcich mastné kyseliny s nízkym počtom uhlíkov a dvojitých väzieb. Na druhej strane sme zistili nižšie zastúpenie mononenasýtených mastných kyselín a omega-3 polynenasýtených mastných kyselín v jednotlivých lipidových frakciách u pacientov so steatózou pečene v porovnaní so zdravou populáciou. Zo žlčových kyselín boli signifikantne zvýšené kyselina glykochenodeoxycholová, kyselina taumuricholová, kyselina glykourso-deoxycholová a kyseliny taurodeoxycholová u pacientov so steatózou pečene. Súčasné úsilie o zlepšenie metabolomiky a lipidomiky na celom svete sa očakáva výrazný pokrok, ktorý povedie k objaveniu biomarkerov pre včasnú diagnostiku a monitorovania nealkoholovej steatózy pečene a steatohepatitídy. Metabolomika ponúka podrobnú analýzu metabolického stavu a pomáha získať poznatky molekulárnych mechanizmov nealkoholovej steatózy pečene. Kvantifikácia veľkého počtu cirkulujúcich metabolitov v rôznych dráhach môže tiež určiť metabolické zmeny pred nástupom klinických príznakov ochorenia a identifikovať rizikové osoby so steatózou oveľa skôr.

**Kľúčové slová:** nealkoholová steatóza pečene, metabolomika, plynová chromatografia, kvapalinová chromatografia, mastné kyseliny, potencionálne diagnostické markery.

**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.*

**DYSLIPIDÉMIE U JATERNÍCH ONEMOCNĚNÍ****DYSLIPIDEAMIA IN LIVER DISEASES****J. Hlušíčka, A. Žák***IV. interní klinika 1. LF UK a VFN v Praze***Abstrakt**

Játra jsou centrálním orgánem metabolismu, který hraje klíčovou roli v metabolismu lipidů. Absorbované volné mastné kyseliny a mastné kyseliny pocházející z tukové tkáně se dostávají do jater, zde využívány jako energetický zdroj, jsou resyntetizovány na triglyceridy, nebo jsou stavební součástí komplexních lipidů. Játra mají ústřední roli v homeostáze cholesterolu, který oxidují žlučové kyseliny nebo vylučují přímo do žluče.

Metabolické choroby (jako je obezita, diabetes mellitus 2. typu a některé dyslipidémie) vedou k rozvoji chronické hepatopatie, jak je tomu u nealkoholové steatózy (NAFLD); na druhé straně některé chronické hepatopatie (jaterní cirhóza, chronická cholestáza) zapříčiňují vznik dyslipidémie charakterizované přítomností lipoproteinu X. Tato práce ve stručnosti shrnuje vztah mezi metabolismem lipidů/lipoproteinů a chronickými onemocněními jater se zaměřením na NAFLD, cholestázu, alkoholovou jaterní chorobu, virové hepatitidy a cirhózu.

**Klíčová slova:** chronické jaterní choroby, lipidový metabolismus, dyslipidémie, jaterní cirhóza, cholestáza, lipoprotein X

**Abstract**

The liver is the central metabolic organ that plays a key role in lipid metabolism. Absorbed free fatty acids and fatty acids originating from adipose tissue reach the liver, where they are utilized as an energy source of energy, stored in the form of triglycerides, or are a building block of complex lipids. The liver plays a key role in the homeostasis of cholesterol, which is oxidized into the bile acids or excreted directly into the bile.

Metabolic diseases (such as obesity, diabetes mellitus type 2, and some dyslipidemias) lead to the development of chronic liver disease, as in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD); on the other hand, some chronic hepatopathies (such as liver cirrhosis, chronic cholestasis) cause the development of dyslipidemia characterized by the presence of lipoprotein X. This work briefly summarizes the relationship between lipid/lipoprotein metabolism and chronic liver diseases, focusing on NAFLD, cholestasis, alcoholic liver disease, viral hepatitis and cirrhosis.

**Key words:** chronic liver diseases, lipid metabolism, dyslipidemia, liver cirrhosis, cholestasis, lipoprotein X

**Úvod**

Játra hrají ústřední roli v metabolických pochodech, jedná se zejména o energetický a sacharidový metabolismus (jsou jedním z hlavních míst glukoneogeneze a metabolismu glykogenu), významná je jejich činnost proteosyntetická (syntéza albuminu a dalších

bílkovin), stejně jako biosyntéza krevního barviva hemu i dalších sloučenin [Vítek a Mareček, 2013].

Játra jako centrální orgán lipidového metabolismu mají nezastupitelnou úlohu v syntéze, skladování, sekreci i katabolismu lipoproteinů, významná je jejich úloha v metabolismu mastných kyselin, syntéze komplexních lipidů, lipoproteinů a homeostáze cholesterolu. V játrech probíhá syntéza většiny apolipoproteinů (apo), konkrétně apoB100, apoCI, apoCII, apoCIII, apoE, apoAI a apoAII, i některých enzymů lipoproteinové přeměny jako je jaterní triacylglycerolová lipáza (HTAGL), acyltransferáza lecitin: cholesterolu (LCAT) a lipidových transferových proteinů, např. transferového proteinu esterů cholesterolu (CETP, cholesteryl ester transfer protein), který přenáší triacylglyceroly (TAG) z VLDL do LDL a směňují je za estery cholesterolu (CE), které jsou transportovány opačným směrem, [Pownal et al., 2015; Roy-Chowdhury a Roy-Chowdhury 2006]. Játra jsou také vybavena specifickými receptory LDL-R (LDL receptor) a LRP (LDL receptor related protein), které jsou odpovědné za vychytávání částic LDL, IDL a remnantních CM [Pownal et al., 2015].

Játra udržují rovnováhu mezi příjmem exogenních lipidů a mastných kyselin uvolněných z tukové tkáně. Zhruba jedna třetina mastných kyselin uvolněná z tukové tkáně je metabolizována v játrech. Mastné kyseliny jsou buď re-esterifikovány za vzniku triacylglycerolu (TAG) a dalších esterů (resp. komplexních lipidů), nebo podléhají oxidaci v mitochondriích ( $\beta$ -oxidace) či peroxisomech ( $\omega$ -oxidace). Rovnováha mezi esterifikací a oxidací je těsně regulována, podobně jako syntéza mastných kyselin *de novo* [Lim et al., 2018]. Porucha rovnováhy mezi tokem mastných kyselin (volných nebo jako součást lipoproteinů) do jater a jejich oxidací, resp. jejich exportem ve formě VLDL vede ke vzniku steatózy jater a zvýšené sekreci VLDL a koncentraci TAG v plazmě [Saponaro et al., 2015].

Játra jsou významným orgánem metabolismu cholesterolu, uvádí se, že se podílejí ze dvou třetin na jeho syntéze [Vítek a Mareček, 2013; Thompson, 1990].

Cholesterol, který je vstřebaný v tenkém střevě pochází ze tří zdrojů – dietního (zhruba 500 mg), žlučového (1000 - 1500 mg) a cholesterolu uvolněného z deskvamovaných epitelů (20 - 60 mg). Denní syntéza žlučových kyselin (BAs, bile acids) činí zhruba 500 mg, což je množství odpovídající fekální exkreci žlučových kyselin. Utilizace cholesterolu pro syntézu BAs představuje významnou frakci (přibližně 50 %) denního obratu cholesterolu (tj. cca 1000 mg/den), přičemž tři čtvrtiny cholesterolu jsou syntetizovány *de novo*, a zbytek pochází z dietních zdrojů. Nejvýznamnějším zdrojem cholesterolu pro syntézu BAs je LDL-cholesterol (LDL-C), zatímco žlučový cholesterol je především derivován z cholesterolu obsaženého v HDL [Dijkers a Tietge, 2010].

V hepatocytech jsou syntetizovány z cholesterolu primární žlučové kyseliny (BAs, bile acids) tj. kyselina cholová (CA) a chenodeoxycholová (CDCA), po konjugaci s glycinem a taurinem jsou vyloučeny do žlučových cest a po příjmu potravy uvolněny do duodena. Konjugované CA a CDCA jsou chemicky modifikovány působením střevní mikrobioty; modifikace zahrnuje dekonjugaci a  $7\alpha$ -dehydroxylaci, při které vznikají sekundární BAs – kyselina deoxycholová (DCA) z CA a kyselina lithocholová (LCA) z CDCA. Kromě LCA, je menší část CDCA transformována na kyselinu ursodeoxycholovou (UDCA) mechanismem  $7\alpha/\beta$  epimerizace. Kyseliny DCA, LCA, UDCA mohou být dále konjugovány s glycinem či taurinem. Více než 90 % BAs je reabsorbováno v terminálním ileu a vrací se do jater portální cirkulací. *Pool*

žlučových kyselin je udržován účinnou enterohepatální cirkulací a aktivní reabsorpcí BAs v terminálním ileu, které konzervují 90 – 95 % množství BAs [Wei et al., 2020].

Stavy spojené se zvýšenou syntézou TAG, syntézou a sekrecí VLDL jsou úzce propojeny s insulinovou rezistencí (IR) a hyperinzulinémií. Zvýšená syntéza TAG, sekrece VLDL a s ní spojená hypertriacylglycerolémie (HTAG), jsou pravidelným nálezem u obezity, diabetes mellitus 2. typu (DM2T), metabolického syndromu a dyslipidémie (DLP) asociované s HTAG [Vítek a Mareček, 2013; Žák, 2016]. V důsledku nerovnováhy mezi přísunem mastných kyselin a jejich jaterní syntézou, na straně jedné, a oxidací mastných kyselin a jejich exportem (ve formě VLDL) vzniká u těchto chorob nealkoholové ztukovatění jater (NAFLD, non-alcoholic fatty liver disease). Naproti tomu abúzus alkoholu je spojen alkoholovou steatózou (resp. steatohepatitidou) jater [Vítek a Mareček, 2013; Žák, 2016]. Játra působením specifických transportérů vylučují do žluče žlučové kyseliny, fosfolipidy a cholesterol. Porucha rovnováhy těchto lipidů ve žluči je jedním z rizikových faktorů cholesterolové cholelitiázy.

Z výše uvedeného je zřejmé, že chronické jaterní onemocnění spojené s přestavbou jaterní tkáně a poklesem jaterních funkcí povede rovněž ke změnám v lipidovém metabolismu. V následujícím textu shrnujeme změny v lipidovém metabolismu u častých jaterních onemocnění, tj. u nealkoholové steatózy jater, alkoholového poškození jater, cholestázy, virových hepatitid a jaterní cirhózy [Arvind et al., 2019].

### **Nealkoholové ztukovatění jater a nealkoholová steatohepatitida**

Nealkoholová steatóza jater (NAFLD, non-alcoholic fatty liver disease) je v současnosti nejčastějším chronickým onemocněním jater v ekonomicky vyspělých i rozvíjejících se zemích, které postihuje 20 – 30 % dospělé populace. NASH (non-alcoholic steatohepatitis) je progresivní formou NAFLD a může přecházet přes fibrózu jater do stádia jaterní cirhózy a hepatocelulární karcinomu (HCC). Někteří autoři uvádějí, že HCC může vznikat přímo z NAFLD. Ačkoliv NAFLD a NASH jsou příčinou jaterní cirhózy, nejčastější příčinou úmrtí u osob s NAFLD jsou aterosklerotické kardiovaskulární choroby. Typická DLP, asociovaná s NAFLD, je aterogenní dyslipidémie (ADL). ADL je dyslipidemickou komponentou obezity, (kardio)metabolického syndromu, DM2T a vysoce prevalentní lipidovou abnormalitou u předčasných aterosklerotických kardiovaskulárních onemocnění. U pacientů s ischemickou chorobou srdeční lze příznaky ADL zjistit v 50-70 % případů a epidemiologické studie prokázaly, že zdraví nositelé ADL mají tři- až čtyřnásobně zvýšené kardiovaskulární riziko [Lim et al., 2018; Corey et al., 2014; Targher et al., 2010].

ADL je definována zvýšenou lačnou a postprandiální hypertriacylglycerolémií (HTAG), sníženou plazmatickou koncentrací HDL-C a zvýšeným zastoupením malých denzních částic LDL (sd-LDL, small-dense LDL, *synonymum fenotyp B* velikosti LDL). Jako HTAG se podle současných kritérií označují plazmatické koncentrace TAG nalačno  $\geq 1,7$  mmol/l. Za hraniční hodnotu normy pro HDL-C byla stanovena koncentrace 1,3 mmol/l u žen a 1,03 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. ADL představuje nejvýznamnější rizikový faktor aterosklerotických kardiovaskulárních chorob u osob s abdominální obezitou, metabolickým syndromem a diabetem 2. typu [Hoogeveen et al., 2014; Taskinen a Borén,



2015]. Plazmatická koncentrace lačných TAG je surogátním markerem postprandiálních TAG a lipoproteinů bohatých na TAG (triglyceride rich lipoprotein – TRL). Postprandiální hodnoty TG, které jsou v průměru o 0,3 mmol/l vyšší než lačné, sestávají z chylomikronů (CM), jejich remnantních částic (CMR), lipoproteinů o velmi nízké hustotě (very low density lipoproteins – VLDL) a lipoproteinů o střední hustotě (intermediate density lipoproteins – IDL). Na základě nových nálezů experimentálního a klinického výzkumu se předpokládá, že TRL mají stejný aterogenní potenciál jako LDL [Aguilar-Salinas a Chapman, 2020; Lechner et al., 2020].

Patofyziologické mechanismy, které vyvolávají ADL, mají kauzální souvislost s inzulínovou rezistencí (IR), nedostatečnou odpovědí cílových tkání na působení inzulínu.

IR se manifestuje nejdříve v tukové tkáni a později také v kosterním svalstvu a játrech. Pravidelně lze v tukové tkáni prokázat nedostatečnou supresi lipolýzy, zejména v postprandiálním období, která je důsledkem chybějícího inhibičního účinku inzulínu na hormon-senzitivní lipázu. Při IR je podstatně omezena hlavní adaptační funkce tukové tkáně, která spočívá v uskladňování nadbytečné energie ve formě intracelulárních zásob TAG. Za fyziologických podmínek inzulín stimuluje v cévách lipoproteinovou lipázu (LPL) tukové tkáně, která hydrolyzuje VLDL a CM. Uvolněné mastné kyseliny vstupují do adipocytů za pomoci specifických transportérů. Syntéza TAG v adipocytech vyžaduje dostupnost glycerol-3-fosfátu, která závisí na stimulaci membránového transportu glukózy inzulínem.

Klíčovou úlohu v patogenezi ADL má hypertriacylglycerolémie (HTAG). Druhé dvě komponenty – nízká plazmatická koncentrace HDL-C a převaha sd-LDL – vznikají druhotně, a to v kauzální souvislosti s HTAG. Základní metabolickou poruchou je jaterní nadprodukce VLDL<sub>1</sub> (S<sub>r</sub> 100–400) při nezměněné sekreci VLDL<sub>2</sub> (S<sub>r</sub> 60–100) a zpomalené odbourávání (clearance) TRL lipolytickým systémem periferních tkání [Björnson et al., 2017]. Mnohorozměrná analýza kinetických studií prokázala, že rychlost sekrece VLDL<sub>1</sub> je určena obsahem TAG v játrech a koncentrací jaterní glukózy [Taskinen a Borén, 2015; Nordestgaard, 2016]. Intenzita syntézy jaterních TG a sekrece VLDL<sub>1</sub> závisí na těchto faktorech: zvýšeném přítoku volných mastných kyselin (free fatty acids – FFA) do jater v důsledku IR tukové tkáně, chronické stimulaci lipogeneze *de novo*, vychytávání remnantních TRL (tj. CMR a IDL) a množství tuku ve stravě [Taskinen a Borén, 2015]. U pacientů s NAFLD bylo prokázáno, že na celkovém množství TAG v játrech má hlavní podíl lipolýza tukové tkáně (z 60 %) a lipogeneze *de novo* (z 20–30 %) a jen 10–15 % TAG pochází z exogenních tuků transportovaných do jater cestou remnantních TRL [Taskinen a Borén, 2015].

Snížená schopnost uskladňovat TAG a nedostatečná suprese lipolýzy jsou příčinou trvale zvýšeného toku volných mastných kyselin (FFA) z tukové tkáně do jiných orgánových systémů (především jater, kosterního svalstva a pankreatu). Zvýšený tok FFA do jater potlačuje inhibiční účinky insulinu na sekreci VLDL<sub>1</sub> a snižuje post-translační degradaci apoB100. Zvýšený obsah FFA v hepatocytech zvyšuje glukoneogenezu a indukuje jaterní IR zvýšením aktivity glukoso-6-fosfatázy do jater [Lim et al., 2018]. 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 TAG z nelipidových substrátů u zdravých osob

přispívá k syntéze jaterních TAG z 5 %. Inzulinová rezistence, resp. hyperinzulinémie a hyperglykemie, 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 [Ramasamy, 2016; Simon et al., 2016].

Dalším patogenním mechanismem HTAG je snížený katabolismus TRL. Zejména v postprandiálním období dochází ke zpomalení katabolismu VLDL<sub>1</sub> a remnantních chylomikronů, které kompetují o LPL tukové tkáně a kosterního svalstva. Za hlavní příčinu snížené aktivity LPL se považuje zvýšená plazmatická koncentrace FFAs [Björnson et al., 2017]. Nicméně výslednou plazmatickou koncentraci TG ovlivňuje interakce velkého počtu negenetických činitelů (metabolických stresorů) s genetickými faktory (polygenní dědičnost). Při vzniku HTAG se uplatňuje řada běžných variant genů/polymorfismů s nízkým účinkem na koncentraci TG a/nebo heterozygotní varianty vzácných genů (mutace) asociovaných s monogenní HTAG. Nejčastěji byly zjišťovány heterozygotní konstituce genů, které významně ovlivňují rychlost katabolismu CM a VLDL. Jde o geny regulující lipoproteinovou lipázu (*LPL*), apolipoproteiny apoCII (*APOC2*), apoAV (*APOA5*), lipázový maturační faktor (*LMFI*), glykofosfoinositol-anchored HDL binding protein 1 (*GPIHBP1*) a glycerol-3 fosfátdehydrogenázu typu 1 (*GPDI*) a další β [Dron a Hegele, 2016; Rygiel, 2018; Mach et al., 2020].

Druhou komponentou ADL je snížení koncentrace HDL-C. Mezi hodnotami plazmatické koncentrace TAG (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, metabolický syndrom, diabetes mellitus 2. typu). 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 (CE) v subfrakci HDL<sub>2</sub> za TAG z TRL. Směnu neutrálních lipidů (esterů cholesterolu za triglyceridy) zprostředkuje transferový protein pro estery cholesterolu (cholesterylester transfer protein – CETP), jehož aktivita je u stavů spojených s inzulinovou rezistencí rovněž zvýšená. Vznikají tak částice HDL bohaté na TAG a ochuzené o CE, což se projeví poklesem plazmatické koncentrace HDL-C, zpomalením reverzního transportu cholesterolu i narušením pleiotropních funkcí HDL. U stavů s inzulinovou rezistencí se významně uplatňuje endocytóza celých částic HDL zbavených lipidů a jejich dezintegrace v lysozomech. Jedinci s ADL mají ve srovnání se zdravými osobami významně zvýšený katabolismus apo A-I. V plazmě přítomné molekuly apoA-I, 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. Převaha sd-LDL má, obdobně jako pokles HDL-C, přímou kauzální spojitost s HTAG. K hlavním metabolickým prediktorům *fenotypu B* patří kromě HTAG (důsledek vyšší koncentrace VLDL<sub>1</sub>) také zvýšená aktivita jaterní lipázy a vzestup CETP. Částice VLDL<sub>1</sub> dosahují maximální koncentrace v plazmě v pozdním postprandiálním období a delší dobu setrvávají v cirkulaci. Nepřímo úměrně k plazmatické koncentraci TAG se uplatňuje výměna TAG pocházejících z VLDL<sub>1</sub> nebo z jejich remnantních částic za CE v LDL, kterou zprostředkuje CETP. Částice LDL bohaté na TAG jsou preferenčním substrátem jaterní lipázy. Po hydrolýze TG vznikají sd-LDL, s vysokým poměrem apoB100 k cholesterolu.

Významnými genetickými faktory, které zvyšují riziko vzniku NAFLD a zhoršují progresi jaterního poškození jater (ať již charakteru NAFLD nebo alkoholové statózy) a přispívají dysregulaci lipidového metabolismu jsou polymorfismy dvou enzymů – *PNLA3 (patatin-like phospholipase domain containing-3)* a *TM6SF2 (membrane bound O-acyltransferase domain containing 7-transmembrane channel-like 4)*. Předpokládá se, že oba enzymy také rovněž ovlivňují regulaci plazmatických lipidů [Pirazzi et al., 2012; Severson et al., 2015; Perumpail et al., 2017; Scott a Anstee, 2018].

### **Cholestáza**

Chronická cholestáza, která se vyskytuje u primární sklerozující cholangitidy (PSC) či u primární biliární cirhózy (PBC), je z lipidového hlediska charakterizována hypercholesterolémií s typickým lipoproteinovým složením, které je dáno retencí cholesterolu, fosfolipidů a žlučových kyselin, které jsou fyziologicky secernovány do žluče [Roy-Chowdhury a Roy-Chowdhury, 2006]. Jak bylo uvedeno, žlučový cholesterol pochází z HDL-C, zatímco žlučové kyseliny jsou syntetizovány především z LDL-C [Dijkers a Tietge, 2010].

Pro chronickou cholestázu je typická přítomnost lipoproteinu X (Lp-X), který má odlišnou strukturu oproti ostatním lipoproteinům [Brewer, 2015; Žák a Zeman, 1980]. Lp-X vytváří lamelární částice o průměru 30 – 70 nm. Je složen z fosfolipidů [zhruba 66 hmotnostních (w/w) %], nesterifikovaného cholesterolu (22 %) a albuminu (6 %), který se nachází v jádru částice. Minoritní bílkovinnou složkou jsou apolipoproteiny (apo) – apoC, apoE, apo A-1, které se nalézají v obalu Lp-X.

Přítomnost Lp-X v plazmě byla popsána u tří rozdílných patologických stavů: (1) cholestázy (intra- i extrahepatální) v důsledku refluxu žluče do plasmy; (2) primárního či sekundárního deficitu lecitin: cholesterol-acyltransferázy (LCAT) a (3) po intravenózní aplikaci tukových emulzí.

Přítomnost Lp-X byla popsána u PBC, PSC, virové hepatitidy s cholestatickými rysy, lékové cholestázy, Wegenerovy granulomatózy, u choroby štěpu proti hostiteli s postižením jater

(GVHD, graft versus host disease), intra-hepatální cholestázy těhotných a dalších stavů [Phatlhane a Zemlin, 2015; Nemes et al., 2016; Ha et al., 2017].

Lp-X se nalézá v plazmě osob se sníženou aktivitou LCAT (deficit LCAT, choroba rybího oka) i u sekundární ztráty aktivity LCAT v důsledku jaterního poškození (GVHD, terminální stádium jaterní cirhózy a u Zieveho syndromu). Přítomnost Lp-X byla popsána také po aplikaci tukových emulzí.

Vznik LpX není přesně objasněn. Nejlépe je prozkoumán vznik Lp-X u cholestázy. Předpokládá, že kontakt plazmy se žlučí, obsahující bilamelární vezikuly, sestávající z cholesterolu a fosfolipidu, vede ke vzniku Lp-X v důsledku fyzikálně-chemických, neenzymatických reakcí. Inkubace žluče s albuminem *in vitro* dává vzniknout částicím podobným Lp-X. U deficitu LCAT se Lp-X tvoří sekundárně v důsledku akumulace nesterifikovaného cholesterolu a fosfolipidů v plazmě. U stavů spojených se ztrátou aktivity acyltransferázy lecitin: cholesterol (LCAT), tj. pokročilých stádií jaterní cirhózy, nebo Zieveho syndromu, vzniká Lp-X akumulací lipoproteinových membrán, složených z nesterifikovaného cholesterolu a fosfolipidů, které se uvolňují z TRP v důsledku zmenšování objemu lipoproteinů, který je způsoben hydrolýzou TAG. Infuze tukových emulzí indukují vznik Lp-X překročením clearance fosfolipidů (LCAT, fosfolipázy), kdy dojde k jejich retenci spolu s akumulací nesterifikovaného cholesterolu [Žák, 1980; Brewer Jr. 2015; Perez-Matos et al., 2019].

Laboratorní průkaz přítomnosti Lp-X se opírá o zvýšené koncentrace celkového cholesterolu v plazmě, které se pohybují se od horní hranice normy až ke koncentracím 40 mmol/l. Z praktického hlediska k zjištění Lp-X lze použít elektroforézu lipoproteinů na agar/agaróze a poměru celkového cholesterolu v plazmě ku apo B100. Koncentrace celkového cholesterolu ku apoB100 se za fyziologických stavů a u primárních či sekundárních dyslipidemií s výjimkou přítomnosti Lp-X, pohybuje v poměru (w/w) 1: 2-3. Pokud je hypercholesterolémie podmíněna přítomností Lp-X, tak tento poměr činí 1: 7 - 10. Pro přítomnost Lp-X je typická přítomnost dalšího pásu lipoproteinů s pohyblivostí opačnou, než mají fyziologicky přítomné lipoproteiny. Lp-X vytváří splývající společný pás s  $\beta$ -lipoproteiny sahající ke startu nebo vytvářejí pás s katodickou pohyblivostí (tj. opačnou, než mají ostatní lipoproteiny) [Crook, 2013; Reshetnyak, 2012; Suzuki et al., 2017].

Pacienti s pokročilejší formou PBC vykazují zvýšené koncentrace TAG. Cholestáza nezvyšuje kardiovaskulární riziko, to je přisuzováno údajným antiaterogenním vlastnostem Lp-X. Při progresi PSC do jaterní cirhózy dochází terminálně k poklesu koncentrace všech lipoproteinových tříd, tj. VLDL, LDL i HDL [Hao et al., 2017].

Vzhledem k celkovému nedostatku klinických důkazů chybí v léčbě hypercholesterolémie spojené s cholestázou formální doporučení. U PBC kyselina ursodeoxycholová (UDCA) zpomaluje progresi onemocnění a prodlužuje přežití [Lindor et al., 2009], kromě toho, chronická léčba UDCA také snižuje plazmatické koncentrace LDL-C. U pacientů s PBC je léčba statiny obecně bezpečná a účinná při snižování LDL-C. V současné době se UDCA obecně nedoporučuje v léčbě PSC [Lindor et al., 2015].

Lp-X můžeme identifikovat i u dalších patologických stavů. Za zmínku stojí familiární deficit enzymu acyltransferázy lecitin: cholesterolu (LCAT) [Žák a Zeman, 1980; Brewer Jr., 2015].

### Alkoholová choroba jater

Charakteristickým rysem alkoholové choroby jaterní (ALD, alcoholic liver disease) je steatóza, která se vyvíjí u více než 90 % alkoholiků. U méně, než jedné třetiny těchto jedinců se však rozvinou komplikace, které zahrnují alkoholickou hepatitidu, cirhózu a hepatocelulární karcinom. Mezi rizikové faktory progresu onemocnění patří ženské pohlaví, obezita, dietní faktory, genetické faktory nesouvisející s pohlavím a kouření cigaret [O'Shea et al., 2010; Perumpail et al., 2017; Scott a Anstee, 2018].

Lipidové spektrum je závislé na množství požívaného alkoholu a na funkčním stavu jater. Charakteristickým rysem je HTAG (pohybující se v 2,85 - 5,70 mmol/l) v důsledku zvýšené syntézy mastných kyselin a poklesu jejich  $\beta$ -oxidace. Abusus alkoholu je spojen s vyšší produkcí NADH v důsledku oxidace alkoholu [Roy-Chowdhury a Roy-Chowdhury 2006]. Střední dávky alkoholu jsou asociovány navíc se vzestupem subfrakce HDL<sub>3</sub>-cholesterolu [Roy-Chowdhury a Roy-Chowdhury, 2006; Brinton, 2012]. Progrese ALD do jaterní cirhózy koreluje s poklesem celkového plazmatického cholesterolu, HDL-C i LDL-C. Koncentrace celkového plazmatického cholesterolu klesá s progresí stadia pokročilosti jaterního onemocnění a koreluje se stoupajícím skóre podle Childa a Puga. Plazmatické koncentrace celkového cholesterolu jsou užitečným prognostickým markerem u ne-cholestatických jaterních onemocnění. Pravidelná konzumace alkoholu (cca dva drinky denně) vedla ke zvýšení koncentrace HDL-C o 0,33 mmol/l, ke kterému došlo rovnoměrně v subfrakci HDL<sub>2</sub> i HDL<sub>3</sub>. Tyto nálezy předpokládaly, že vlivem alkoholu došlo ke zvýšení aktivity LPL. Vzestup TAG byl méně výrazný, než vzestup HDL-C. Abusus alkoholu negativně koreloval s koncentrací LDL-C [Phillip et al., 1981; Castelli et al., 1977].

Primární DLP, která je asociovaná s abusem alkoholu je HTAG. I když podíl abusu alkoholu na manifestaci ADL u metabolického syndromu není jasný, předpokládá se, že příjem alkoholu v interakci s obezitou a dále zvyšuje plazmatické koncentrace TAG [Klop et al. 2013].

Etanol je častou a běžnou příčinou sekundární HTAG, která se manifestuje elevací VLDL, nebo VLDL a CM, přičemž účinky alkoholu jsou výraznější u osob s preexistující HTAG a současnou konzumací tučných jídel. Možné vysvětlení těchto účinků je, že dochází k preferenční oxidaci alkoholu, která uchovává FAs pro syntézu TAG [Thompson, 1990].

Alkohol narušuje  $\beta$ -oxidaci mastných kyselin, podporuje *de novo* lipogenezi v játrech a zvyšuje vychytávání mastných kyselin. Sekrece VLDL je také zvýšená v důsledku účinku alkoholu. Příjem alkoholu zvyšuje přísun lipidů do jater z tenkého střeva ve formě remnantních chylomikronů. Alkoholový metabolit acetaldehyd zvyšuje transkripci SREBP1c, který „up-reguluje“ transkripci lipogenních genů. Dalším efektem je inhibice proteinů, které potlačují lipogenezi [You a Arteel, 2019; Jeon a Carr, 2020].

Ethylalkohol snižuje oxidaci mitochondriálních mastných kyselin především snížením aktivity receptoru aktivovaného peroxisomovým proliferátorem (PPAR  $\alpha$ ) [Gao et al., 2011]. PPAR $\alpha$  podporuje transkripci genů, které zprostředkovávají oxidaci mastných kyselin. Alkohol zvyšuje sekreci VLDL. Zvýšená sekrece VLDL přispívá k hypertriglyceridémii, která je pozorována při konzumaci alkoholu. To je umocněno sníženou expresí LPL, která podporuje clearance triglyceridů VLDL do svalové a tukové tkáně. Existuje také interakce

mezi konzumací alkoholu a genetickými polymorfismy v apoCIII, který cirkuluje v plazmě a funguje tak, že inhibuje aktivitu lipoproteinové lipázy [Gao et al., 2011].

Alkohol, resp. acetaldehyd, resultuje v akumulaci lipidů zvýšeným vychytáváním mastných kyselin ze střeva, vyšší lipogenezi, poklesem  $\beta$ -oxidace FAs a změnu sekrece VLDL (ve smyslu zvýšení i snížení). To spolu s indukci zánětu a fibrózou se podílí na vzniku alkoholové steato-hepatitidy a fibrózy. Alkohol stimuluje CD36 a zvyšuje vychytávání FAs játry, snižuje oxidaci FAs zásahem do poměru NADH/NAD, snížením aktivity CPT1. Zvýšená lipogeneze je důsledkem aktivace SREBP-1c, ChREBP, PPAR $\gamma$ , a poklesu AMPK/SIRT1, které aktivují lipogenní enzymy [Hyun et al., 2021; You a Arteel, 2019; Jeon a Carr, 2020]. Etanol mění koncentrace HDL v závislosti na dávce. Mírná konzumace má tendenci zvyšovat plazmatické koncentrace HDL<sub>3</sub> částic, zatímco větší konzumace zvyšuje i HDL<sub>3</sub> částice [Brinton, 2012]. Alkohol interaguje s metabolismem HDL v několika krocích, což může v konečném důsledku vést ke zvýšenému reverznímu transportu cholesterolu, procesu, kterým je buněčný cholesterol transportován do jater k eliminaci do žluči [Brinton, 2012]. Zdá se, že umírněná konzumace alkoholu také zvyšuje protizánětlivé a antioxidační vlastnosti HDL částic. Účinky alkoholu na plazmatické koncentrace LDL-C jsou méně konzistentní než pozorované u HDL, přičemž u různých populací byly pozorovány různé vzorce, které mohou být přisuzovány genetickým polymorfismům u těchto populací. Dnes je obecná shoda na faktu, že dávka alkoholu, která má prokazatelný pozitivní vliv na lidské zdraví, se rovná nule [Kuisisto et al., 2012].

### **Virová hepatitida B a C**

Infekce virem hepatitidy B (VHB) je spojena s poklesem koncentrací LDL-C a HDL-C a zvýšením hladin TAG. Patofyziologické mechanismy dyslipidémie nejsou plně známy, avšak příčinou může být jaterní nedostatečnost. Na druhé straně VHB může ovlivňovat expresi genů zúčastněných v metabolické přeměně lipoproteinů. VHB oslabuje expresi apoAI, z čehož resultuje pokles hladin HDL-C, i apoAV, což se může zvyšovat koncentrace TAG v důsledku zpomalené lipolýzy TAG obsažených ve VLDL a CM. Změna jaterní sekrece VLDL je spojována také s působením antigenu X VHB (HBx protein), který mění strukturu glykoproteinu vázaného na apoB a „down-reguluje“ mikrosomální triglyceridový transferový protein (MTTP) s následnou akumulací TAG v játrech a poklesem sekrece VLDL. Na snížení koncentrací LDL-C se může podílet i zpomalení konverze částic IDL na LDL v důsledku poklesu jaterní lipázy a nižší aktivity jaterních receptorů. Infekce virem hepatitidy C (VHC) je asociována s poklesem koncentrace celkového cholesterolu, LDL-C, HDL-C i apoB100. VHC inhibuje MTTP, který má významnou funkci v sestavení (assembly) lipoproteinů VLDL a CM, s následným snížením sekrece CM a VLDL. U osob s virovou hepatitidou C (VHC) byla zjištěna hypocholesterolemie i hypotriglyceridémie, přičemž koncentrace TAG signifikantně korelovaly s délkou infekce VHC i s koncentracemi celkového cholesterolu. Laboratorně se může infekce VHC manifestovat jako smíšená hypobetalipoproteinémie. V plazmě je VHC přenášen v komplexech s lipoproteiny za vzniku lipo-virových částic (HCV-LVP, HCV lipoviral particles). Vstup částice do hepatocytu je zprostředkován specifickými receptory – LDLR, SR-B1 a NPC1L1. VHC pak využívá lipoproteinový metabolismus hostitele v řadě

pochodů, jako vstup viru do hepatocytu, jeho syntéza, replikace i sekreci viru z jater do krve [Aizawa et al., 2015; Almani et al. 2016].

Hepatitis B – je spojena s poklesem koncentrací LDL a HDL a zvýšením hladin triglyceridů. Patofyziologické mechanismy hypolipidémie nejsou plně známé, příčinou může být jaterní nedostatečnost. VHB může ovlivňovat expresi genů zúčastněných v metabolické přeměně lipoproteinů. Virová hepatitis B oslabuje expresi apoAI, důsledkem je pak pokles hladin HDL-C i apoAV, což se může podílet na zvýšení koncentrace TG v souvislosti se zpomalením lipolýzy TAG obsažených ve VLDL a chylomikronech. Změna sekrece VLDL je spojována také působením antigenu X VHB, který mění strukturu glykoproteinu vázaného na apoB a „downreguluje“ MTTP s následnou akumulací TAG v játrech a poklesem sekrece VLDL. Na snížení koncentrací LDL se může podílet i zpomalení konverze částic IDL na LDL [Žák et al., 2022].

Hepatitis C – infekce HCV je spojena s poklesem celkového, LDL, HDL i apoB100. Virová hepatitis C inhibuje protein MTTP, který má významnou funkci v sestavení lipoproteinů VLDL a CM, s následným snížením sekrece CM a VLDL. U osob s virovou hepatidou C byla zjištěna hypocholesterolemie i hypotriglyceridemie, přičemž koncentrace TG signifikantně korelovaly s délkou infekce VHC i s koncentracemi TC [Almani et al., 2016].

Ačkoliv je HCV je spojena se snížením LDL a non-HDL-C, kardiovaskulární riziko je zvýšeno, důležitým rizikovým faktorem je sama HCV o sobě. Při porovnání infikovaných a neinfikovaných jedinců s podobnými hodnotami lipidogramu infikovaní HCV mají zvýšené kardiovaskulární riziko. Hladiny lipidů v tomto případě neodráží přesně riziko KVO. Data získaná z retrospektivních studií spojují užívání statinů s nižší mírou progresu do fibrózy, cirhózy, nižší mortalitu [Yang et al., 2015].

### **Jaterní cirhóza**

Cirhóza je konečné stadium chronických onemocnění jater. Klinické koreláty se pohybují v širokém rozsahu od dobře kompenzované jaterní funkce až po pokročilé dekompenzované onemocnění jater s portální hypertenzí a komplikacemi. Změny v metabolismu lipidů spojené s cirhózou reflektují stupeň poškození jaterních funkcí. Ve studii [Cicognani et al., 1997] se plazmatické koncentrace celkového cholesterolu, HDL, LDL a VLDL měnily se zvýšením protrombinového času a snížením albuminu, což odráží syntetickou funkci jater. Na druhé straně, koncentrace celkového cholesterolu u ne-cholestatických jaterních lézí je dobrým markerem funkce jater [Boemeke et al., 2015; Yang et al., 2015].

Cirhóza jater je spojena se sníženými koncentracemi všech lipoproteinů. Hladiny celkového cholesterolu se snižují o 20-30 %, HDL o 8-46 %, LDL o 18-41 % a TG o 1156 %. Pokles koncentrace plazmatického celkového cholesterolu se týká všech lipoproteinových tříd, charakteristickým rysem je snížení frakce esterů cholesterolu [Yang et al., 2015; Privitera et al., 2018].

U jaterní cirhózy dochází ke změně složení lipoproteinů – LDL jsou obohaceny o TAG a mají menší obsah esterů cholesterolu, naopak částice HDL mají zvýšené koncentrace TAG, neesterifikovaného cholesterolu fosfolipidů. Tyto změny jsou důsledkem snížené aktivity enzymů podílejících se na remodelaci lipoproteinů, konkrétně LCAT, jaterní lipázy a fosfolipidového transferového proteinu (PLTP) [Loria et al., 2014].

## Závěr

Spojení mezi jaterními chorobami a lipoproteinovým metabolismem je velmi těsné. Jaterní dysfunkce má dopad na metabolismus lipidů a alteruje hladiny cirkulujících lipoproteinů. Na druhou stranu vrozené či získané odchylky v lipidovém metabolismu mohou snížit práh pro vývoj chronických jaterních chorob jako je steatóza, alkoholová choroba jater a dalších.

Mezi nejčastější choroby jater vyskytující se v rozvinutých částech světa patří nealkoholové ztukovatění jater (NAFLD). Pro NAFLD je charakteristický aterogenní lipoproteinový fenotyp, který sestává z hypertriacylglycerolémie, poklesu hladin HDL-C a zvýšené koncentrace sd-LDL. U cholestázy je charakteristickým nálezem hypercholesterolémie a přítomnost lipoproteinu X. Přítomnost Lp-X nezvyšuje kardiovaskulární riziko. Pro alkoholovou chorobu jater je příznačná steatóza, elevace TAG a VLDL a vzestup koncentrace HDL-C. Virové hepatitidy jsou rovněž asociovány s patofyziologickými změnami metabolismu lipoproteinového spektra. Konečným stadiem jaterních chorob je jaterní cirhóza spojená s poruchou syntetických funkcí hepatocytů, se sníženými koncentracemi všech lipoproteinů.

*Podpořeno MZ ČR-RVO-VFN64165 a Cooperatio 1. LF UK*

## Reference

- Aguilar-Salinas CA., Chapman MJ.** Remnant lipoproteins: Are they equal to or more atherogenic than LDL? *Curr Opin Lipidol* 2020; 31: 132-139.
- Aizawa Y., Seki N., Nagano T., et al.** Chronic hepatitis virus infection and lipoprotein metabolism. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 10299-10313.
- Almani MIK., Kazmi A., Haider I., et al.** Correlation of duration of hepatitis C infection with triglycerides and total cholesterol. *J Islamabad Med Dental Coll* 2016; 5: 168-171.
- Arvind A., Osganian SA., Cohen DE., et al.** Lipid and Lipoprotein Metabolism in Liver Disease. [Updated 2019 Jul 21]. In: Feingold KR, Anawalt B, Blackman MR, et al., editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326742/>
- Björnson E., Adiels M., Taskinen MR., et al.** Kinetics of plasma triglycerides in abdominal obesity. *Curr Opin Lipidol* 2017; 28: 11-18.
- Boemeke L., Bassani L., Marroni CA., et al.** Lipid profile in cirrhotic patients and its relation to clinical outcome. *ABCD Arq Bras Cir Dis* 2015; 28: 132-135.
- Brewer Jr. HB.** High density lipoprotein metabolism. In: *Clinical lipidology. A companion to Braunwald's Heart disease*. 2. vyd. Philadelphia: Elsevier 2015; 43-51.
- Brinton EA.** Effects of ethanol intake on lipoproteins. *Curr Atheroscler Rep* 2012; 14: 108-114.
- Castelli WP., Doyle JT., Hames CG., et al.** Alcohol and blood lipids. *Lancet* 1977; 2(8030): 153-155.
- Cicognani C., Malavolti M., Morselli-Labate AM., et al.** Serum lipid and lipoprotein patterns in patients with liver cirrhosis and chronic active hepatitis. *Arch Intern Med* 1997; 157: 792-796.



- Corey KE., Chalasani N.** Management of Dyslipidemia as a Cardiovascular Risk Factor in Individuals With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014; 12: 1077-1084.
- Crook MA.** Lipoprotein X: clinical implications. *Ann Clin Biochem* 2013; 50: 93-94.
- Dikkers A., Tietge UJF.** Biliary cholesterol secretion: More than a simple ABC. *World J Gastroenterol* 2010; 16(4): 5936-5945.
- Dron JS., Hegele RA.** Genetics of lipid and lipoprotein disorders and traits. *Curr Genet Med Rep* 2016; 4: 130-141.
- Ha J., Lee S-G., Kim J-H.** Lipoprotein X detected in a case of hypercholesterolemia associated with chronic cholangiohepatitis. *Ann Lab Med* 2017; 37: 550-552.
- Hao J., Yang T., Zhou Y.** Serum Metabolomics Analysis Reveals a Distinct Metabolic Profile of Patients with Primary Biliary Cholangitis. *Sci Rep* 2017; 7: 784.
- Gao B., Bataller R.** Alcoholic liver disease: pathogenesis and new therapeutic targets. *Gastroenterology* 2011; 141: 1572-1585.
- 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. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 2014; 34: 1069-1077.
- Hyun J., Han J., Lee C., et al.** Pathophysiological Aspects of Alcohol Metabolism in the Liver. *Int J Mol Sci* 2021; 22: 5717.
- Jeon S., and Carr R.** Alcohol effects on hepatic lipid metabolism. *J Lipid Res* 2020; 61: 470-479.
- Klop B., do Rego AT., Cabezas MC.** Alcohol and plasma triglycerides. *Curr Opin Lipidol* 2013; 24: 321-326.
- Kuusisto SM., Peltola T., Laitinen M., et al.** The interplay between lipoprotein phenotypes, adiponectin, and alcohol consumption. *Ann Med* 2012; 44: 513-522.
- 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.
- Lim S., Taskinen M-R., Borén J.** Crosstalk between nonalcoholic fatty liver disease and cardiometabolic syndrome. *Obesity Rev* 2019; 20: 599-611.
- Lindor KD., Gershwin ME., Poupon R., et al.** Primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2009; 50: 291-308.
- Lindor KD., Kowdley KV., Harrison ME.** ACG Clinical Guideline: Primary Sclerosing Cholangitis. *Am J Gastroenterol* 2015; 110: 646-659.
- Loria P., Marchesini G., Nascimbeni F., et al.** Cardiovascular risk, lipidemic phenotype and steatosis. A comparative analysis of cirrhotic and non-cirrhotic liver disease due to varying etiology. *Atherosclerosis* 2014; 232: 99-109.
- Mach F., Baigent C., Catapano AL., et al.** 2019 ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias: Lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J* 2020; 41: 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*. 2<sup>nd</sup> edition. Philadelphia: Elsevier 2015; 68-77.

- Nemes K., Aberg F., Gylling H., Isoniemi H.** Cholesterol metabolism in cholestatic liver disease and liver transplantation: From molecular mechanisms to clinical implications. *World J Hepatol* 2016; 8: 924-932.
- Nordestgaard BG.** Triglyceride-rich lipoproteins and atherosclerotic cardiovascular disease: New insight from epidemiology, genetics, and biology. *Circ Res* 2016; 118: 547-563.
- O'Shea RS., Dasarathy S., McCullough AJ.** Alcoholic liver disease. *Hepatology* 2010; 51: 307-328.
- Perez-Matos MC., Sandhu B., Bonder A., et al.** Lipoprotein metabolism in liver diseases. *Curr Opin Lipidol* 2019; 30: 30-36.
- Perumpail BJ., Khan MA., Yoo ER., et al.** Clinical epidemiology and disease burden of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2017; 23: 8263-8276.
- Phatlhane DV., Zemlin AE.** Severe hypercholesterolemia mediated by lipoprotein X in a patients with cholestasis. *Ann Hepatol* 2015; 6: 924-928.
- Phillips NR., Havel RJ., Kane JP.** Levels and interrelationships of serum and lipoprotein cholesterol and triglycerides. Association with adiposity and the consumption of ethanol, tobacco and beverages containing caffeine. *Arteriosclerosis* 1981; 1: 13 -24.
- Pownal HJ., Rosales C., Gillard BK., et al.** Human plasma lipoprotein metabolism. In: *Clinical lipidology. A companion to Braunwald's Heart disease.* 2. vyd. Philadelphia: Elsevier 2015; 1-10.
- Privitera G., Spadaro L., Marchisello S., et al.** Abnormalities of lipoprotein levels in liver cirrhosis: Clinical relevance. *Dig Dis Sci* 2018; 63: 16-26.
- Pirazzi C., Adiels M., Burza MA., et al.** Patatin-like phospholipase domain-containing 3 (PNPLA3) I148M (rs738409) affects hepatic VLDL secretion in humans and in vitro. *J Hepatol* 2012; 57: 1276-1282.
- Ramasamy I.** Update on the molecular biology of dyslipidemias. *Clin Chim Acta* 2016; 454: 143-185.
- Reshetnyak VI.** Concept of the pathogenesis and treatment of cholelithiasis. *World J Hepatol* 2012; 27: 18-34.
- Roy-Chowdhury N., Roy-Chowdhury J.** Liver physiology and energy metabolism. *Hepatic Nutrient Metabolism.* In: *Sleisinger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease.* (M. Feldman, LS Friedman, LJ Brandt, eds). 8. vyd. Philadelphia: Saunders Elsevier 2006; 1561-1573.
- Rygiel K.** Hypertriglyceridemia – Common causes, prevention and treatment strategies. *Curr Cardiol Rev* 2018; 14: 67-76.
- Saponaro C., Gaggini M., Carli F., Gastaldelli A.** The Subtle Balance between Lipolysis and Lipogenesis: A Critical Point in Metabolic Homeostasis. *Nutrients* 2015; 7: 9453-9474.
- Scott E., Anstee QM.** Genetics of alcoholic liver disease and non-alcoholic steatohepatitis *Clin Med (Lond)* 2018; 18(Suppl 2): s54-s59.
- Severson TJ., Besur S., Bonkovsky HL.** Genetic factors that affect nonalcoholic fatty liver disease: A systematic clinical review. *World J Gastroenterol* 2016; 22: 6742-6756.
- 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.

- Suzuki L., Hirayama S., Fukui M., et al.** Lipoprotein-X in cholestatic patients causes xanthomas and promotes foam cell formation in human macrophages. *J Clin Lipidol* 2017; 11: 110-118.
- Targher G., Day CP., Bonora E.** Risk of cardiovascular disease in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 2010; 363: 1341-1350.
- Taskinen MR., Borén J.** New insights into the pathophysiology of dyslipidemia in type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 2015; 239: 483-495.
- Thompson GR.** A handbook of hyperlipidemia. London: Current Science Ltd.1990; 235 p.
- Vítek L., Mareček Z.** Laboratorní diagnostika v hepatologii. In: Laboratorní diagnostika. Hl. autor a ed. T. Zima. 3. dopl. a přepr. vyd. Praha: Galén 2013; 115-136.
- Wei W., Wang HF., Zhang Y., et al.** Altered metabolism of bile acids correlates with clinical parameters and the gut microbiota in patients with diarrhea predominant irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 2020; 26: 7153-7172.
- Yang YH., Tsan YT., Chen MJ., et al.** Statin use and the risk of cirrhosis development in patients with hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2015; 63: 1111-1117.
- You M., Arteel GE.** Effect of ethanol on lipid metabolism. *J Hepatol* 2019; 70: 237-248.
- Žák A.** Obezita a poruchy lipidového metabolismu. In: Kunešová M. (ed.) *Základy obezitologie*. Praha: Galén 2016; 31-47.
- Žák A.** Poruchy metabolismu lipidů a lipoproteinů. In: Laboratorní diagnostika, hl. autor a editor T. Zima. 3. dopl. a přepr. vyd. Praha: Galén 2013; 169-207.
- Žák A.** Chemie lipidů a lipoproteinů. In: *Lipidy a riziko koronární aterosklerózy*. Hl. autor a ed. J. Skořepa. Praha: Univerzita Karlova 1980; 17-32.
- Žák A., Zeman M.** Vrozené poruchy metabolismu lipoproteinů. In: *Lipidy a riziko koronární aterosklerózy*. Hl. autor a ed. J. Skořepa. Praha: Univerzita Karlova 1980; 93-115.
- Žák A.** Hypolipidemie In: Lukáš K., Žák A. ed. *Chorobné znaky a příznaky. Diferenciální diagnostika*. 2. přepr. a aktual. vyd. Praha: Grada 2022; 407-420.

## VLIV ZPŮSOBU VÝŽIVY MATKY NA PŘÍJEM NUTRIENTŮ KOJENCEM

### THE INFLUENCE OF THE METHOD OF NUTRITION OF THE MOTHER ON THE INTAKE OF NUTRIENTS BY THE INFANT

**D. Chrpová, J. Pánek**

*Department of Microbiology, Food, Nutrition and Dietetics, Faculty of Agrobiological and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague*

#### **Abstrakt**

Strava kojící ženy je důležitým faktorem, který ovlivňuje složení mateřského mléka, a tedy přispívá ke zdraví matky i dítěte. V mateřském mléce je několik živin, které úzce korelují s příjmem živin matky. Jako např. složení mastných kyselin, vitamin B<sub>12</sub>, vitamin D. Kojící matky, které se striktně dlouhodobě stravují čistě rostlinnou stravou, jako např. veganky, vitariánky a makrobiotičky, ohrožují nejen sebe, ale i své kojené dítě deficiencí vybraných živin, které jsou obsaženy a zároveň dobře využitelné z živočišných zdrojů, tedy i z mateřského mléka.

#### **Abstract**

The diet of a nursing woman is an important factor that affects the composition of breast milk and therefore contributes to the health of both mother and child. There are several nutrients in breast milk that correlate closely with the mother's nutrient intake. Such as the composition of fatty acids, vitamin B<sub>12</sub>, vitamin D. Lactating mothers who strictly eat a purely plant-based diet for a long time, such as vegans, vegetarians and macrobiotics, endanger not only themselves, but also their breastfed child with the deficiency of selected nutrients that are contained and at the same time can be used well from animal sources, i.e. from breast milk.

Přibližně dvě třetiny tuků ve výživě jedince by měly být tuky nenasycené, tedy monoenoové a polyenoové, tuky satureované pak lépe pod 10 energetických procent, EFSA uvádí „co nejméně“, což zajišťuje zároveň i přiměřený příjem cholesterolu. Z polyenových mastných kyselin jsou velmi důležité, z řady n-3 kyselin, esenciální ALA (alfa-linolenová), jejímž zdrojem je např. řepkový olej, a zvláště pak EPA (eicosanpentaenová) a DHA (docosahexaenová) kyseliny, které jsou obsaženy v tuku především mořských ryb, jako je např. losos. Doporučené množství EPA + DHA pro kojící ženy je 250 mg za den. Výborným zdrojem tuku pro kojící ženy je olej řepkový s ideálním složením a vzájemným poměrem potřebných mastných kyselin jako jsou monoenoová mastná kyselina olejová a esenciální polyenoové mastné kyseliny alfa-linolenová (n-3) a linolová (n-6). Olejová mastná kyselina je v něm přítomna ve vysokém množství a zajišťuje oxidační stabilitu, obě esenciální polyenoové mastné kyseliny jsou v řepkovém oleji obsaženy v téměř ideálním poměru 2:1 ve prospěch linolové. Tyto esenciální mastné kyseliny mají v organismu kojící ženy, potažmo kojence, významné biochemické funkce. Kojící žena by měla dbát hlavně na příjem řady n-3 polyenových mastných kyselin, kterých je ve výživě i ostatní populace nedostatek. Doporučené množství alfa-linolenové mastné kyseliny pro kojící ženy je 0,5 % adekvátní dávky tuku, což odpovídá přibližně jednomu gramu. Kromě řepkového oleje jsou dalšími jejími potravinovými zdroji (alfa-linolenové mastné kyseliny) vlašské ořechy, chia semínka a lněné semínko. Doporučené množství linolové kyseliny (n-6) pro kojící ženy jsou 4 % adekvátní dávky tuku odpovídající přibližně 8 gramům. Její příjem je, na rozdíl od alfa-linolenové (n-3), dostatečný. **Zvýšený příjem tuků s n-3 polyenovými mastnými kyselinami kojícími matkami zvyšuje jejich obsah v mateřském mléce.** Pro kojence jsou nejen

zdrojem energie, ale hlavně jsou důležité pro pozitivní vývoj nervové soustavy, především mozku. Dále díky svým protizánětlivým účinkům (snižují hladinu prozánětlivých cytokinů) přispívají k prevenci aterosklerózy a kardiovaskulárních onemocnění.

### Literatura

**DACH.** Referenční hodnoty pro příjem živin. DACH, S.p. výživy. 2. vyd. Praha; Výživa servis 2019, 269 str.

**EFSA.** Dietary reference values for nutrients summary report, E.F.S. Authority, Editor. 2017, Wiley Online Library.

**Hronek M.** Výživa ženy v období prekoncepce, gravidity a laktace. In *Klinická výživa*, P. Kohout ed. Praha; Galén 2021, 526-534.

**Zlatohlávek L.** *Klinická dietologie a výživa*. Praha; Current Media 2020.

**Pánek J., Chrpová D.** Živiny a jejich dietární zdroje. In *Klinická výživa*, P. Kohout ed. 2021, Praha ; Galén 2021, 225-294.

**Liu QK.** Triglyceride-lowering and anti-inflammatory mechanisms of omega-3 polyunsaturated fatty acids for atherosclerotic cardiovascular risk reduction. *J Clin Lipidol* 2021; 15(4): 556-568.

**Freitas RF., Macedo MS., Lessa ADC., et al.** Relationship between the diet quality index in nursing mothers and the fatty acid profile of mature breast milk. *Rev Paul Pediatr* 2021; 39: e2019089.

**Hoppu U., Isolauri E., Laakso P., et al.** Probiotics and dietary counselling targeting maternal dietary fat intake modifies breast milk fatty acids and cytokines. *Eur J Nutr* 2012; 51(2): 211-219.

**Fencel F., et al.** Specifika výživy v různých obdobích života. In *Klinická výživa*, P. Kohout ed. Praha; Galén 2021, 944.

**Franssen M., Maroske W., Langlitz J.** Vitamin-B12-Mangel veganer Mütter und ihrer Säuglinge–voll im Trend? *Monatsschrift Kinderheilkunde* 2017; 165(9): 794-799.

**Světnička M., Sigal A., Selinger E., et al.** Cross-Sectional Study of the Prevalence of Cobalamin Deficiency and Vitamin B12 Supplementation Habits among Vegetarian and Vegan Children in the Czech Republic. *Nutrients* 2022; 14(3): 535.

**Plank R.** Sicherheit und Risiken vegetarischer und veganer Ernährung in Schwangerschaft, Stillzeit und den ersten Lebensjahren. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 2019; 167(1): 22-35.

**Kostecka M., Kostecka-Jarecka J.** Knowledge on the Complementary Feeding of Infants Older than Six Months among Mothers Following Vegetarian and Traditional Diets. *Nutrients* 2021; 13(11): 3973.

**Prell C., Koletzko B.** Restriktive Diäten. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 2014; 162(6): 503-510.

**Lawrence RM., Pane CA.** Human breast milk: current concepts of immunology and infectious diseases. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 2007; 37(1): 7-36.

## MIKROBIOM A METABOLICKÁ ONEMOCNĚNÍ

### GUT MICROBIOMA AND METABOLIC DISORDERS

**J. Klevar, R. Brůha**

*IV. interní klinika, Všeobecná fakultní nemocnice v Praze a 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy*

#### **Abstrakt**

Navzdory pokrokům v prevenci a novým způsobům léčby zůstávají metabolická onemocnění, v čele s aterosklerotickým kardiovaskulárním onemocněním, hlavní příčinou morbidity a mortality ve vyspělých zemích. Pokroky v poznání a objevování nových souvislostí v etiologii metabolických onemocnění otevřely také prostor pro výzkum střevního mikrobiomu a jeho zapojení do patogeneze onemocnění. Střevní mikrobiom se skládá z bilionů metabolicky aktivních organismů, které produkují mnoho působků, mimo jiné trimethylamin N-oxid, sekundární žlučové kyseliny, lipopolysacharidy, mastné kyseliny s krátkým řetězcem a další, které vstupují do patogeneze metabolických onemocnění. Také samotná bakteriální DNA byla nalezena přímo v aterosklerotických plátech.

#### **Abstract**

Despite continued advances in prevention and new treatment modalities, metabolic diseases, with Atherosclerotic cardiovascular disease at the forefront, remain the leading causes of morbidity and mortality in developed countries. Advances in knowledge and the discovery of new links in the aetiology of metabolic diseases have also opened up a space for research into the gut microbiome and its involvement in disease pathogenesis. The gut microbiome consists of trillions of metabolically active organisms that produce many metabolites such as trimethylamine N-oxide, secondary bile acids, lipopolysaccharides, short-chain fatty acids etc., that play a role in the pathway of atherogenesis. Also bacterial DNA has been found directly in the atherosclerotic plaque itself.

#### **Úvod**

Ve výzkumu patogeneze metabolických onemocnění se stále více objevuje spojitost střevní mikroflóry, v užším slova smyslu dysmikrobie, ve vztahu k civilizačním onemocněním. Složení mikrobiomu a případná dysmikrobie zasahuje svými metabolity do patogeneze aterosklerózy, inzulinové rezistence a obezity. Nejobjasněnějšími drahami účastnících se patogeneze jsou například trimethylamine N-oxid (TMAO), sekundární žlučové kyseliny, bakteriální endotoxiny a mastné kyseliny s krátkým řetězcem (SCFA). Současný výzkum směřuje k bližšímu poznání a případnému zásahu do těchto metabolických drah. Cílem publikace je shrnout účinek jednotlivých působků na indukci a progresi metabolických onemocnění.

#### **TMAO**

Vzniku trimethylamin N-oxidu (TMAO) předchází několik biochemických drah. Ta první začíná právě ve střevě za dopomoci střevních mikroorganismů. V prvním kroku dochází k přeměně L-karnitinu, cholinu a betainu, vyskytujících se především v živočišné potravě (červené maso), za pomoci enzymu TMA lyázy, která pochází z druhu bakteriálního kmenu *Firmicutes*. Po vstřebání meziprojektu TMA do krevního řečiště dochází v játrech k oxidaci TMA enzymem FMO3 na TMAO. Zvýšené koncentrace TMAO indukují snadnější tvorbu pěnových buněk, endoteliální dysfunkci, tvorbu trombu a nestabilitu plátu [1]. Pacienti trpící

aterosklerotickým postižením vykazují významně vyšší hladiny TMAO ve srovnání se zdravými jedinci [2]. TMAO dále snižuje hladiny HDL-C, snižuje expresi cytochromu P450, klíčového enzymu v metabolismu cholesterolu a žlučových kyselin, a v neposlední řadě inhibuje transport a exkreci cholesterolu [3].

### **Lipopolysacharidy**

V patogenezi se uplatňuje také vliv mnohých endotoxinů gramnegativních bakterií, které se vyskytují na vnější membráně patogenů. Chemicky se jedná o lipopolysacharidy (LPS). LPS jsou imunitním systémem rozpoznávány jako antigeny a cestou Toll like receptorů aktivují kaskádu prozánětlivých cytokinů cestou transkripčních faktorů NF- $\kappa$ B [4]. Dochází k aktivaci receptorů exprimovaných na povrchu makrofágů, k indukci migrace a aktivity buněk zánětu v aterosklerotické lézi. Jejich působením dochází k endoteliální dysfunkci a tvorbě kyslíkových radikálů cestou aktivace NADPH oxidázy [5]. Bylo prokázáno, že LPS iniciují nebo podporují vznik obezity, inzulinové rezistence, metabolického syndromu a diabetu. U pacientů s diabetem I. i II. typu jsou LPS v cirkulaci ve zvýšené koncentraci oproti zdravým jedincům [5,6].

### **Sekundární žlučové kyseliny**

Dalšími strukturami zasahující do procesu aterogeneze jsou sekundární žlučové kyseliny, nicméně jako metabolity protektivní. Sekundární žlučové kyseliny mají po resorpci ze střeva schopnost vazby a aktivace membránových receptorů. Za zmínku stojí například receptor G protein-coupled receptor 5 (TGR5). Aktivací TGR5 dochází ke zvýšené sekreci glukagonu podobného peptidu 1 (GLP-1), který přispívá ke zlepšení glukózové tolerance, dále dochází k inhibici produkce prozánětlivých cytokinů inhibicí NF- $\kappa$ B signální dráhy. Při vyřazení TGR5 u myši byla sledována značná progresse aterosklerózy při porovnání s TGR5 aktivním vzorkem zvířat [7]. V současné době probíhají klinické studie několika TGR5 agonistů v indikaci léčby diabetu mellitu.

Jako další receptor, na který se váží sekundární žlučové kyseliny můžeme zmínit receptor FXR, následkem jeho aktivace dochází k inhibici aktivity PCSK9 a tím zvyšuje aktivitu a expresi LDL receptorů [8].

### **Mastné kyseliny s krátkým řetězcem**

Mastné kyseliny s krátkým řetězcem (SCFA) jsou identifikovány jako protektivní metabolity. SCFA např. acetát, butyrát a propionát jsou výsledkem fermentace komplexních sacharidů obsažených ve formě rozpustné vlákniny. Hlavními producenty butyrátu ve střevě jsou bakterie řádu *Clostridiales*. Patří mezi ně například *Faecalibacterium prausnitzii* nebo *Eubacterium rectale*. Působením SCFA dochází k produkci protizánětlivých cytokinů a snížení produkce prozánětlivých cytokinů. Mezi další funkce SCFA patří zvýšení stability střevní bariéry a ochrana před invazivními patogeny. Příjem stravy s vysokým obsahem vlákniny přispívá ke zvýšení koncentracím SCFA v krvi, zlepšení glykémii a úbytku hmotnosti [9].

### **Závěr**

Složení a dysbalance střevního mikrobiomu ovlivňuje a působí v patogenezi metabolických onemocnění jako jsou ateroskleróza, diabetes mellitus, hypertenze a dyslipidémie. Svou metabolickou aktivitou působí střevní patogeny ke vzniku působků, které aktivují další signalizační kaskády a dochází k indukci produkce převážně prozánětlivých cytokinů. Při složení mikrobiomu s převahou butyrát produkujících bakterií dochází k produkci metabolitů (SCFA, sekundární žlučové kyseliny), jež působí protektivně a snižují progresi sledovaných onemocnění.

*Podpořeno MZ ČR-RVO-VFN64165 a Cooperatio.*

### Literatura

1. **Wang Z., Klipfell E., Bennett BJ., et al.** Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature* 2011; 472 (7341): 57-63.
2. **Miyazaki-Anzai S., Masuda M., Kohno S., et al.** Simultaneous inhibition of FXR and TGR5 exacerbates atherosclerotic formation. *J Lipid Res* 2018; 59(9): 1709-1713.
3. **Pathak P., Helsley RN., Brown AL., et al.** Small molecule inhibition of gut microbial choline trimethylamine lyase activity alters host cholesterol and bile acid metabolism. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2020; 318(6): H1474-H1486.
4. **Devaraj S., Dasu MR., Park SH., Jialal I.** Increased levels of ligands of Toll-like receptors 2 and 4 in type 1 diabetes. *Diabetologia* 2009; 52(8): 1665-1668.
5. **Diks SH., van Deventer SJ., Peppelenbosch MP.** Lipopolysaccharide recognition, internalisation, signalling and other cellular effects. *J Endotoxin Res* 2001; 7(5): 335-348.
6. **Pussinen PJ., Havulinna AS., Lehto M., et al.** Endotoxemia Is Associated With an Increased Risk of Incident Diabetes. *Diabetes Care* 2011; 34(2): 392-397.
7. **Hanniman EA., Lambert G., McCarthy TC., Sinal CJ.** Loss of functional farnesoid X receptor increases atherosclerotic lesions in apolipoprotein E-deficient mice. *J Lipid Res* 2005; 46(12): 2595-2604.
8. **Langhi C., Le May C., Kourimate S., et al.** Activation of the farnesoid X receptor represses PCSK9 expression in human hepatocytes. *FEBS Lett* 2008; 582(6): 949-955.
9. **Silva FM., Kramer CK., de Almeida JC., et al.** Fiber intake and glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus: A systematic review with meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutr Rev* 2013; 71(12): 790-801.

Adresa pro korespondenci:

MUDr. Jakub Klevar

IV. interní klinika VFN a 1. LF UK

U Nemocnice 2

128 08 Praha 2

Email: jakub.klevar@vfn.cz



**NUTRIČNÍ INDEXY PRO HODNOCENÍ KVALITY LIPIDŮ****NUTRITIONAL INDEXES FOR ASSESSMENT OF LIPID QUALITY****L. Kouřimská, J. Pánek***Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, Česká zemědělská univerzita v Praze*

Nutriční jakost lipidů je pojmem velice komplexním, který v sobě zahrnuje celou řadu společně působících atributů, jejichž hodnocení vyžaduje poměrně hluboké znalosti v oborech chemie a biochemie lipidů a nutriční fyziologie. Zcela zásadní pro hodnocení jakosti lipidů je složení mastných kyselin, kdy je nutné vedle hlavních skupin hodnotit i jejich podskupiny. Dalším významným atributem je obsah cholesterolu a případně fytoosterolů, Konečně, nutriční jakost významně ovlivňuje i rozsah peroxidace lipidů.

Pro zjednodušení orientace v oblasti nutriční jakosti lipidů byla do praxe uvedena celá řada indexů, které vycházejí z analytických dat a zohledňují výše uvedené atributy. Tak například vztah mezi atherogenními mastnými kyselinami (dle WHO nasycené kyseliny C12 – C16) a antiatherogenními mastnými kyselinami řeší index atherogenity. Dalším indexem, který zohledňuje složení mastných kyselin je např. index trombogenity, index nenasycenosti, poměr n-6/n-3 polyenových kyselin, obsah trans-nenasycených mastných kyselin a další. Vliv obsahu cholesterolu řeší např. HH-index (hypocholesterolemický / hypercholesterolemický index). Dříve užívaný atherogenní index, který zahrnoval obsah cholesterolu a obsah nasycených mastných kyselin se velmi obtížně interpretoval a již se nepoužívá. Konečně, rozsah oxidace lipidů potom může být určen z řady analytických dat, od nejjednoduššího peroxidového čísla až po velmi sofistikované metody využívající např. hmotnostní spektrometrie.

## **NOVÉ PŘÍSTUPY KE SNÍŽENÍ KARDIOVASKULÁRNÍHO RIZIKA: NOVÁ ANTIDIABETIKA JSOU KARDIOVASKULÁRNĚ PROSPĚŠNÁ I PRO NEDIABETIKY**

### **NEW APPROACHES TO REDUCE CARDIOVASCULAR RISK: NEW ANTIDIABETIC DRUGS ARE CARDIOVASCULAR BENEFICIAL EVEN FOR NON-DIABETICS**

**M. Lejsková, I. Hájková, T. Adámek, M. Bronec, M. Kováčik**

*Interní klinika 3. LF UK a FTN v Praze*

#### **Abstrakt**

Dvě nové lékové skupiny antidiabetik prošly poslední roky bouřlivým vývojem: ukázalo se, že dokáží ovlivnit více než jen kompenzaci diabetu. Inhibitory sodíko-glukózového kontrtransportéru-2 významně redukuje kardiovaskulární riziko, zejména srdečního selhání, a renální riziko i u nediabetiků. Ve skupině inkretinových antidiabetik prošly 2. fází klinického výzkumu nové peptidy s kombinovaným inkretinovým účinkem, které dokáží výrazně zredukovat hmotnost a dokonce i steatosu jater. V poslední části článku je stručně zmíněna studie navrhuje novou klasifikaci diabetu 2. typu na podskupiny, které se liší rizikem komplikací makro- a mikrovaskulárních. Od klasifikace je očekáváno zpřesnění odhadu rizika komplikací u diabetu 2. typu.

#### **Abstract**

In recent years, two new classes of antidiabetic agents have seen unprecedented development and have been shown to exert effects beyond their primary antihyperglycemic action, that is, diabetes control. Sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors significantly reduce cardiovascular risk – in particular the risk of heart failure – as well as the risk of kidney disease progression also in nondiabetics. In the class of incretin-based drugs, phase 2 clinical trials have investigated the efficacy of novel incretin peptides documenting significant weight reduction, and even amelioration of hepatic steatosis. Finally, the paper briefly refers to a study proposing a new classification of type 2 diabetes into subgroups differing in the risk of developing macrovascular versus microvascular complications. The classification is expected to improve the accuracy in estimating the risk of developing complications in type 2 diabetes.

#### **Úvod**

S celosvětově stoupající mírou obezity se desítky let stále naléhavěji ukazuje i riziko jejich komplikací, mezi něž patří v první řadě kardiovaskulární (KV) riziko: obezita spojená s vysokým rizikem inzulínové rezistence a tím s různými projevy metabolického syndromu a jeho komplikací, které jsou asociované se zvýšením různých projevů KV rizika. Některé léky ze dvou nejnovějších skupin antidiabetik mají prokázanu kardio- a/nebo nefro-protectivitu a v posledních letech přibývají studie dokazující příznivý efekt i u nediabetiků (1).

#### **Obezita**

Obezita a v jejím důsledku akcelerovaná inzulínová rezistence jsou považovány za klíčový faktor rozvoje diabetu 2. typu (DM2t). Je známo, že redukce hmotnosti je pro zlepšení kompenzace DM2t velmi účinná. Ve studii DIRECT (2) byla jednoznačně prokázána účinnost intenzivního zlepšení životního stylu a redukce hmotnosti pro dosažení tzv. remise DM2t po jeho primozáchytu. Nezastupitelný význam životního stylu a péče o hmotnost pro sacharidový metabolismus ukázaly další studie (3,4), prokázaly i prospěch z redukce sacharidů v dietě pro

účinnou redukcí hmotnosti (5). Konzistentní výsledky vedly k omezení sacharidů v dietních doporučeních (6) a mezinárodní diabetické společnosti (ADA, American Diabetes Association, a EASD, European Association for the Study of Diabetes) zdůrazňují zaměření na hmotnost (weight-centric approach) v rámci individuálního přístupu (person centred approach) při kompenzaci DM2t (7).

**Pro redukcí hmotnosti** se ukazují jako velmi účinné s.c. podávané peptidy působící na inkretinové receptory – původně jen antidiabeticky účinná skupina agonistů GLP-1R (Receptor Glucagon Like Peptidu-1), z nichž zatím nejúčinnějším antiobezitickým preparátem byl semaglutid ve vyšší dávkování (studie STEP-2: 2,4mg s.c./týden) (8). Nové inkretiny s antiobezitickým účinkem a ukončenými farmakologickými studiemi 2. fáze, mají účinek kombinovaný - duální agonista tirzepatid v roce 2022 a letos triple agonista retatrutid. Jejich výsledky jsou srovnatelné s výsledky bariatrické chirurgie. Ukazuje se však, že po úspěšné redukcí hmotnosti je problémem zabránit jojo efektu i na inkretinové léčbě (9). Nežádoucí gastrointestinální účinky, především nauzea až zvracení zejména na vyšším dávkování, jsou při s.c. inkretinové léčbě společné pro všechny léky ve skupině: zmírnění přináší dávkovací schémata s postupným navyšováním do maximální tolerované dávky.

### **Tirzepatid (studie 2. fáze: SURMONT obezitologická, SURPASS diabetologická)**

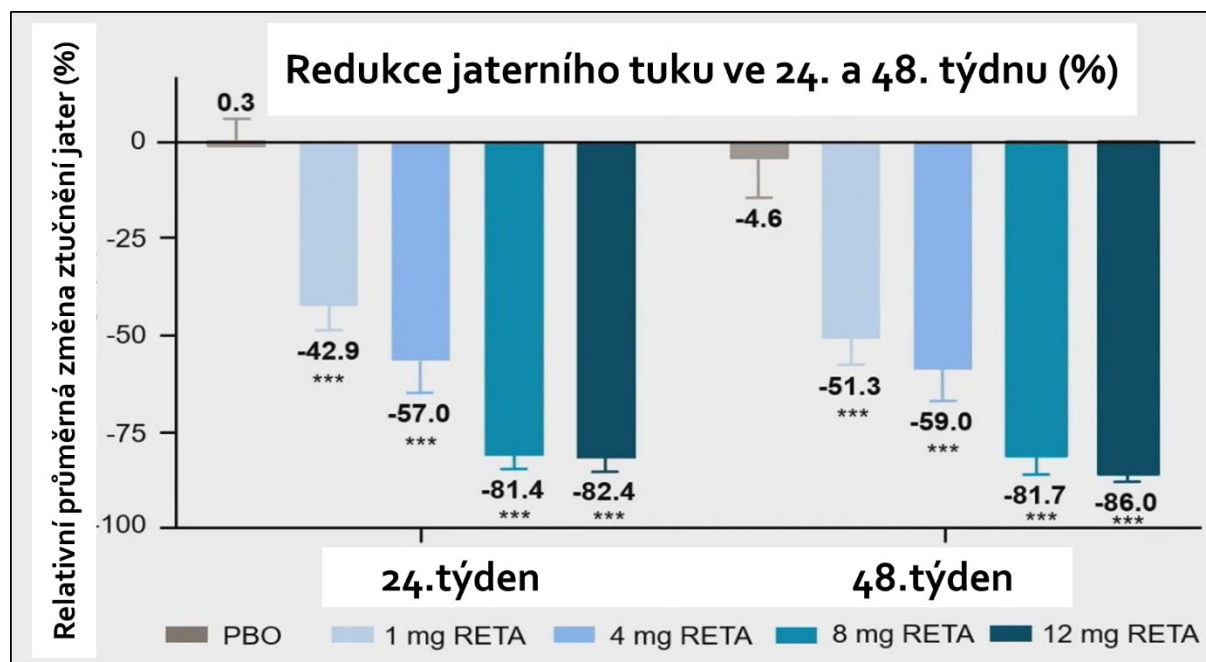
Antiobezitikum tirzepatid (účinný u DM2t i nediabetiků) působí jako duální agonista inkretinových receptorů: GIP (Glucose-dependent Insulinotropic Peptide) a GLP-1 (Glucagon Like Peptid-1). Ve studii SURMOUNT-1 (2. fáze klinického výzkumu) dokázal u obézních osob s ( $BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ) v 72. týdnu zredukovat tělesnou hmotnost o 15 %, 19,5 % a 20,9 % při týdenních dávkách 5 mg, 10 mg a 15 mg v tomto pořadí (ve srovnání s 3,1 % na placebo) (10).

Diabetologické studie s tirzepatidem jsou označeny SURPASS: tirzepatid u DM2t ve srovnání s placebem k průměrné redukcí hmotnosti 7 - 9,5 kg snížil HbA1c o 21 mmol/mol, 21 mmol/mol a 23 mmol/mol - týdenními dávkami 5 mg, 10 mg a 15 mg v tomto pořadí (11). Z výsledků obou studií je zřejmé, že ke stoupajícímu dávkování inkretinu narůstá redukce hmotnosti, ne již tolik antidiabetický účinek, který je velmi silný již na základních 5mg s.c. týdně. Další metabolické přínosy léčby tirzepatidem zahrnovaly snížení míry steatosy jater a objemu viscerální a subkutánní abdominální tukové tkáně (12).

### **Retatrutid**

Antiobezitikum retatrutide (LY3437943), který je triple agonista inkretinových receptorů: GIP, GLP-1 a glukagonových receptorů. Účinek na glukagonové receptory má podle experimentálních studií zesilovat lipolýzu při redukcí hmotnosti. Retatrutid má nejen silný účinek antiobezitický (2. fáze klinického výzkumu) (13), ale i antidiabetický (rovněž 2. fáze klinického výzkumu) (14). Agonismus retatrutidu na glukagonových receptorech je podle experimentálních studií cílen na účinnější zmírnění steatosy jater při redukcí hmotnosti. Na kongresu ADA v červnu 2023 (15) byly publikovány výsledky subanalýzy podskupiny 98 pacientů se steatosou jater (NAFLD) podle výsledků magnetické rezonance, u nichž na obou nejvyšších dávkování 8mg a 12mg (s podobnou redukcí hmotnosti kolem 20 % jako u tirzepatidu) došlo k více než 80% redukcí jaterního tuku stanoveného magnetickou rezonancí ve 24. a 48. týdnu (obr. 1). Plánovány jsou studie 3. fáze ověřující vliv retatrutidu nejen na KV riziko ale i na další komorbidity související s obezitou (TRIUMPH 1-4) (16). Studie se zaměřují na pacienty s těžší obezitou, osteoartritidou, obstrukční spánkovou apnoe.

Obr. 1 Zmírnění steatosy jater (NAFLD) podle výsledků magnetické rezonance na léčbě retatrutidem



Zpracováno podle Sanyal AJ. et al. Retatrutide NAFLD—phase 2 trial results in subset of patients with obesity and NAFLD. Presented on ADA's Scientific Sessions, June 26, 2023. <https://www.evaluate.com/vantage/articles/events/conferences/ada-2023-lilly-unveils-its-triple-threat>

Léčba agonisty inkretinových receptorů (incretin enhancers) prošla za poslední desítky let prudkým vývojem a je nyní perspektivní farmakoterapií nejen v diabetologii, ale i v obezitologii a hepatologii (17).

### Kardiovaskulární riziko, srdeční selhání, nefropatie

Během posledních 7 let byla potvrzena kardio a/nebo nefro-protektivita u některých zástupců obou nejnovějších skupin antidiabetik, ale **skupinově odlišná**:

**U inhibitorů sodíkglukózových kotransportérů (iSGLT2)** jde především o snížení rizika hospitalizace pro srdeční selhání (HHF) a nefroprotektci (zpomalení poklesu glomerulární filtrace a zmírnění albuminurie), tyto účinky jsou pro většinu léků ve skupině iSGLT2 podobné. Nově se objevily studie prokazující kardio- a nefro- protektivní účinky i u **nediabetiků** (zejména ve skupině iSGLT2) a některé další studie ke KV riziku.

**Naopak u inkretinů** je skupinovým efektem především redukce hmotnosti (obr. 2), ale chybí průkaz významného vlivu inkretinů na srdeční selhání (kromě sekundárního endpointu ve studii AMPLITUDE-O s efpeglenatidem), a výsledky potvrzující významný prospěch pro kombinovaný kardiovaskulární endpoint mají zatím jen některé z agonistů GLP-1R. Zatím chybí randomizované studie cílené na nefropatii podobné níže uvedeným s iSGLT2. Významné snížení cévních mozkových příhod (iktů) je ve studiích s antidiabetiky ojedinělé, o to zajímavější pro praxi jsou níže uvedené výsledky semaglutidu, které mohou být předzvěstí příznivých výsledků nových duálně a triple účinkujících inkretinů, které výrazně redukuje hmotnost zvyšující kardiovaskulární riziko.

Obr. 2 Přehled antiobeziticky neúčinnějších inkretinů

Firma	Novo Nordisk		Lilly	
Studie	3.fáze farm. (STEP 1)	3.fáze farm. (SURMOUNT)	2.fáze farm. (antiobezitikum)	
Inkretin a dávkování	Semaglutid 2.4mg	Tirzepatid 15mg	Retatrutid 8mg (rychlé navýšení)	Retatrutid 12mg (postupné zvýšení)
Mechanismus účinku	Agonista receptorů GLP-1	Agonista receptorů GIP/GLP-1	Agonista receptorů GIP/GLP-1/glukagonu	
<b>Redukce hmotnosti (pbo-adjustace)</b>				
ve 24. týdnu (%)	Odhad 9	Odhad 12	16,3	15,8
ve 48. týdnu (%)	Odhad 12	Odhad 18	21,8	22,1
<b>Nežádoucí účinky (pbo-adjustace)</b>				
Nausea (%)	27	22	49	34
Průjem (%)	16	16	9	4
Zvracení (%)	18	11	25	18
Obstipace (%)	14	6	8	13
Vyřazení pro NÚ (%)	4	4	6	16

Zpracováno podle <https://www.evaluate.com/vantage/articles/events/conferences/ada-2023-lilly-unveils-its-triple-threat>

### Dapagliflozin u nediabetiků se zachovanou ejekční frakcí (DELIVER) (18)

Studie DELIVER sledovala účinky dapagliflozinu (10 mg/den) v porovnání s placebem u 6263 pacientů nad 40 let, DM2t i nonDM2t, se stabilizovaným srdečním selháním se zachovanou ejekční frakcí (HFpEF Heart Failure preserved Ejection Fraction), tj. ejekční frakcí nad 40 %, ale s diastolickou dysfunkcí se zvýšením natriuretického peptidu. Během 2,3 let sledování byl primární endpoint KV úmrtí nebo zhoršení srdečního selhání (HF, definované jako neplánovaná hospitalizace nebo urgentní návštěva pro HF) na dapagliflozinu snížen významně o 18 %. V předem specifikovaných podskupinách, včetně účastníků s DM2t nebo bez diabetu byly pozorovány podobné výsledky. Podobně jako v jiných studiích s iSGLT2 i zde platilo pro složky primárního endpointu, že snížení rizika srdečního selhání (o 21 %) bylo výraznější a významnější než snížení rizika KV úmrtí (o 12 %), které nedosáhlo významnosti. Závažné nežádoucí příhody i ukončení léčby pro nežádoucí účinky se při léčbě dapagliflozinem nelišily od placeba.

### Empagliflozin u nediabetiků se zachovanou ejekční frakcí (EMPEROR-Preserved) (19)

O rok dříve byly získány obdobné výsledky ve studii EMPEROR-Preserved pro jiný iSGLT2, empagliflozin, v podobně uspořádané studii sledující HFpEF, která zahrnovala osoby s DM2t i nediabetiky. Primární endpoint pro srdeční selhání byl stanoven pouze podle

hospitalizací: Hospitalizace pro srdeční selhání byla empagliflozinem byla zredukována o 27 %, KV úmrtí pouze o 9 % a primární endpoint, kombinovaný z uvedených dvou, o 21 %. Zde byly v závěru pro empagliflozin uvedeny častější nekomplikované infekce genitálií a močových cest a hypotenze.

### **EMPA-KIDNEY (empagliflozin), DAPA-CKD (dapagliflozin) (20,21,22,23)**

**Nefroprotektivní účinek iSGLT2 u nediabetiků** byl prokázán pro empagliflozin a dapagliflozin. Primární kompozitní kardiorenální endpoint ve studii EMPA-KIDNEY zahrnoval  $\geq 50\%$  pokles eGFR, nutnost náhrady funkce ledvin a úmrtí z KV nebo renálních příčin a byl dosažen již po mediánu sledování 2 roky, kdy byla z tohoto důvodu studie předčasně ukončena. Empagliflozin snížil během 2 let primární kardiorenální endpoint (progrese onemocnění ledvin nebo úmrtí z KV nebo renálních příčin) o 28 % a riziko hospitalizace z jakékoli příčiny o 14 % na značně různorodém souboru. Bylo zařazeno více než 6000 pacientů s nefropatií různé etiologie (vyloučení byli pacienti s polycystosou ledvin), z nichž více než polovina neměla diabetes. Výsledky jsou konzistentní s prospěchem pro jakoukoli eGFR nebo ACR – empagliflozin potenciálně oddálil nutnost náhrady funkce ledvin o 2 až 27 let v závislosti na výchozí hodnotě eGFR. Klinické charakteristiky kohorty i podrobnosti primárního endpointu se lišily u podobné studie s dapagliflozinem, DAPA-CKD, publikované v roce 2021.

Výsledky obou studií by měly být považovány za doplněk k výsledkům jiných studií s iSGLT2. Souhrnně výsledky randomizovaných renálních a kardiorenálních studií ukazují, že léčba iSGLT2 bude přínosem pro širokou paletu nefropatií s různou etiologií a různou výchozí albuminurií nebo glomerulární filtrací, bez ohledu na přítomnost DM2t.

### **Finerenon (24)**

Finerenon, selektivní antagonist nesteroidních mineralokortikoidních receptorů, byl na kardiorenální prospěch u DM2t s definovanou nefropatií oproti placebo zkoumán ve studii, jejíž primární endpoint byl složen z úmrtí z KV příčin, nefatálního infarktu myokardu, nefatální cévní mozkové příhody nebo hospitalizace pro srdeční selhání. Na léčbě finerenonem oproti placebo bylo dosaženo významného snížení primárního endpointu o 13 % (HR 0,87; 95% CI 0,76-0,98; P = 0,03), přičemž přínos byl dán především snížením hospitalizace pro srdeční selhání o 29% (HR 0,71; 95% CI 0,56-0,90). Sekundární endpoint zahrnoval selhání ledvin, trvalý pokles eGFR od výchozí hodnoty o  $> 40\%$  nebo úmrtí z renálních příčin, ale při poklesu rovněž o 13 % nedosáhl významnosti (HR 0,87; 95% CI 0,76-1,01).

Na základě uvedených studií dochází v doporučeních pro farmakoterapii nefropatií k radikálním změnám: nově jsou iSGLT2 lékem volby nefropatií a nesteroidní agonista mineralokortikoidních receptorů (MRA), finerenon je zvažován jako další léčba u nefropatií s přetrvávající albuminurií navzdory farmakoterapii některým z inhibitorů systému renin-angiotensin-aldosteron (25). Z hlediska nefropatie je potenciál agonistů GLP-1R považován jen za doplňkový k metforminu a iSGLT2. První studie s agonistou GLP1 R zaměřená na ledviny bude studie FLOW se semaglutidem u T2D s CKD, jejíž výsledky jsou očekávány v roce 2024 (26).

### **Semaglutid (27,28)**

Analýza americké databáze poskytla data pro DM2t v observační real world studii (RWE). Byly vyhledáni pacienti s DM2t, kteří byli léčeni agonistou GLP-1R semaglutidem nebo inhibitorem DPP4. Byli pečlivě vybráni pacienti s 27 odpovídajícími demografickými a klinickými charakteristikami (matched). Výsledky ukazují 37% snížení rizika iktu ve skupině zahajující inkretinovou léčbu semaglutidem než ti, kteří zahájili inhibitorem DPP4 (HR 0,63

[95% CI 0,41, 0,95];  $p = 0,029$ ). V této RWE studii byl účinek léčby semaglutidem ještě výraznější u DM2t v sekundární prevenci, tj. s již prodělanou KV příhodou (HR 0,45 [95% CI 0,24-0,86];  $p = 0,015$ ).

Konzistentní výsledky ukázala metaanalýza randomizovaných studií se semaglutidem SUSTAIN 6 and PIONEER 6: semaglutid snížil výskyt prvního iktu oproti placebo o 32 % (HR 0,68 [95% CI 0,46-1,00];  $p = 0,048$ ), a to především díky redukcí okluzí malých cév (TIA, tranzitorní ischemická ataka, (HR 0,51 [95% CI, 0,29-0,89];  $p = 0,017$ ). Výsledky u DM2t s fibrilací síní byly méně výrazné a nevýznamné.

### **Klasifikace diabetu 2.typu**

Heterogenita projevů DM2t je známa desítky let. V posledních letech je stále častěji citována studie, která pro klasifikaci využila 6 parametrů ze švédského registru zjištěných při diagnóze: věk, Hb1Ac, anti-GAD protilátky, BMI a odhad funkce  $\beta$ -buněk a inzulinové rezistence podle homeostatického modelu (29). Po vyloučení diabetu 1.typu s pozitivními anti-GAD protilátkami byly na základě klastrové analýzy dat vyčleněny dvě podskupiny DM2t se závažným rizikem komplikací (S/severe) a dvě s mírným rizikem (M/mild): 1. těžký inzulin-deficientní diabetes (SIDD), 2. těžký inzulin-rezistentní diabetes (SIRD), 3. mírný diabetes související s obezitou (MOD) a 4. mírný diabetes související s věkem (MARD). Skupina SIDD s inzulinovým deficitem má vysoké riziko mikrovaskulárních komplikací, zejména retinopatie, skupina SIRD s vysokou inzulinovou rezistencí má vysoké riziko nefropatie, steatózy jater i KV komplikací. Tyto charakteristiky potvrdila retrospektivní analýza dat ze studie ORIGIN (30). Rozdíly mezi podskupinami jsou nejčastěji připisovány genetickým variacím a epigenetickým rozdílům (31). Podobně, se zacílením na riziko komplikací, ale se šesti klastry je uspořádán návrh klasifikace prediabetu (32). Letos byla publikována rozsáhlá populační čínská studie s pokusem zmapovat přechod z klastrů prediabetu do klastrů DM2t, v níž jsou však přechody mezi klastry silně různorodé (33). Podle výše popsané původní studie s návrhem klasifikace DM2t z roku 2018, citované již více než 1700x, byla provedena řada populačních studií v různých etnikách, z nichž některé se od původní studie liší v četnosti jednotlivých klastrů - což může být projevem populačních odlišností genetických a životního stylu. V praxi je od nové klasifikace diabetu 2.typu očekáváno zlepšení odhadu rizika komplikací diabetu.

### **Závěr**

Výsledky řady studií, které byly publikovány v posledních letech, jsou nadějí pro budoucí úspěšnou léčbu a prevenci komplikací metabolického syndromu, zejména komplikací kardiovaskulárních, renálních a steatózy jater. Objevuje se koncepce tzv. multiorgánových cílů léčby (34).

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

### **Literatura**

1. Schnell O., Battelino T., Bergenstal R., et al. CVOT Summit 2022 Report: new cardiovascular, kidney, and glycemic outcomes. *Cardiovasc Diabetol* 2023; 22(1): 59.
2. 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.
3. Baechle Ch., Lang A., Strassburger K., et al. Association of a lifestyle score with cardiometabolic markers among individuals with diabetes: a cross-sectional study. *BMJ Open Diabetes Res Care* 2023; 11(4): e003469.

4. **Khan TA., Field D., Chen V., et al.** Combination of Multiple Low-Risk Lifestyle Behaviors and Incident Type 2 Diabetes: A Systematic Review and Dose-Response Meta-analysis of Prospective Cohort Studies. *Diabetes Care* 2023; 46(3): 643-656.
5. **Unwin D., Delon CH., Unwin J., et al.** What predicts drug-free type 2 diabetes remission? Insights from an 8-year general practice service evaluation of a lower carbohydrate diet with weight loss. *BMJ Nutr Prev Health* 2023; 6(1): 46-55.
6. **Diabetes and Nutrition Study Group (DNSG) of the European Association for the Study of Diabetes (EASD)** Evidence-based European recommendations for the dietary management of diabetes. *Diabetologia* 2023; 66(6): 965-985.
7. **Davies MJ., Aroda VR., Collins BS., et al.** Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes, 2022. A Consensus Report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes Care* 2022; 45(11): 2753-2786.
8. **Davies M., Færch L., Jeppesen OK., et al.** Semaglutide 2·4 mg once a week in adults with overweight or obesity, and type 2 diabetes (STEP 2): a randomised, double-blind, double-dummy, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2021; 397(10278): 971-984.
9. **Rubino D., Abrahamsson N., Davies M., et al.** STEP 4 Investigators. Effect of continued weekly subcutaneous semaglutide vs placebo on weight loss maintenance in adults with overweight or obesity: the STEP 4 randomized clinical trial. *JAMA* 2021; 325(14): 1414-1425.
10. **Jastreboff AM., Aronne LJ., Ahmad NN., et al.** SURMOUNT-1 Investigators. Tirzepatide once weekly for the treatment of obesity. *N Engl J Med* 2022; 387(3): 205-216.
11. **Rosenstock J., Wysham C., Frías JP., et al.** Efficacy and safety of a novel dual GIP and GLP-1 receptor agonist tirzepatide in patients with type 2 diabetes (SURPASS-1): a double-blind, randomised, phase 3 trial. *Lancet* 2021; 398(10295): 143-155.
12. **Gastaldelli A., Cusi K., Fernández Landó L., et al.** Effect of tirzepatide versus insulin degludec on liver fat content and abdominal adipose tissue in people with type 2 diabetes (SURPASS-3 MRI): a substudy of the randomised, open-label, parallel-group, phase 3 SURPASS-3 trial. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2022; 10(6): 393-406.
13. **Jastreboff AM., Kaplan LM., Frías JP., et al.** Triple-Hormone-Receptor Agonist Retatrutide for Obesity - A Phase 2 Trial. *N Engl J Med* 2023; 389(6): 514-526.
14. **Rosenstock J., Frias J., Jastreboff AM., et al.** Retatrutide, a GIP, GLP-1 and glucagon receptor agonist, for people with type 2 diabetes: a randomised, double-blind, placebo and active-controlled, parallel-group, phase 2 trial conducted in the USA. *Lancet* 2023; 402(10401): 529-544.
15. **Sanyal AJ.** Retatrutide NAFLD—Phase 2 Trial Results in Subset of Patients with Obesity and NAFLD. Presented on ADA's Scientific Sessions, June 26, 2023.  
<https://www.evaluate.com/vantage/articles/events/conferences/ada-2023-lilly-unveils-its-triple-threat>
16. **Krook A., Mulder H.** Incretins: turning the venom into the antidote. *Diabetologia* 2023; 66(10): 1762-1764.
17. **Solomon SD., McMurray JJV., Claggett B., et al.** Dapagliflozin in heart failure with mildly reduced or preserved ejection fraction. *N Engl J Med* 2022; 387(12): 1089-1098.
18. **Anker SD., Butler J., Filippatos G., et al.** Empagliflozin in Heart Failure with a Preserved Ejection Fraction. *N Engl J Med* 2021; 385(16): 1451-1461.
19. **Herrington WG., Staplin N., Wanner C., et al.** The EMPA-KIDNEY Collaborative Group. Empagliflozin in patients with chronic kidney disease. *N Engl J Med* 2023; 388(2): 117-127.
20. **Heerspink HJL., Stefánsson BV., Correa-Rotter R., et al.** Dapagliflozin in patients with chronic kidney disease. *N Engl J Med* 2020; 383(15): 1436-1446.



21. **McMurray JJV., Wheeler DC., Stefánsson BV., et al.** Effects of Dapagliflozin in Patients With Kidney Disease, With and Without Heart Failure. *JACC Heart Fail* 2021; 9(11): 807-820.
22. **Fernández-Fernandez B., Sarafidis P., Soler MJ., Ortiz A.** EMPA-KIDNEY: expanding the range of kidney protection by SGLT2 inhibitors. *Clin Kidney J* 2023; 16(8): 1187-1198.
23. **Pitt B., Filippatos G., Agarwal R., et al.** Cardiovascular events with finerenone in kidney disease and type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2021; 385(24): 2252-2263.
24. **KDIGO Clinical practice guideline** for diabetes management in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2022; 102(5S): S1–S127.
25. **Rossing P., Baeres FMM., Bakris G., et al.** The rationale, design and baseline data of FLOW, a kidney outcomes trial with once-weekly semaglutide in people with type 2 diabetes and chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transpl* 2023; 38(9): 2041-2051.
26. **Husain M., Evans M., Frenkel O., et al.** Risk of stroke in patients with type 2 diabetes receiving semaglutide or a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor: a real-world US claims database analysis. *Eur Heart J* 2022; 43(S2): ehac544.1939.
27. **Strain WD., Frenkel O., James MA., et al.** Effects of Semaglutide on Stroke Subtypes in Type 2 Diabetes: Post Hoc Analysis of the Randomized SUSTAIN 6 and PIONEER 6. *Stroke* 2022; 53(9): 2749-2757
28. **Ahlqvist E., Storm P., Käräjämäki A., et al.** Novel subgroups of adult-onset diabetes and their association with outcomes: a data-driven cluster analysis of six variables. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2018; 6(5): 361-369.
29. **Pigeyre M., Hess S., Gomez MF., et al.** Validation of the classification for type 2 diabetes into five subgroups: a report from the ORIGIN trial. *Diabetologia* 2022; 65(1): 206-215.
30. **Schrader S., Perfilyev A., Ahlqvist E., et al.** Novel subgroups of type 2 diabetes display different epigenetic patterns that associate with future diabetic complications. *Diabetes Care* 2022; 45(7): 1621-1630.
31. **Wagner R., Heni M., Tabák AG., et al.** Pathophysiology-based subphenotyping of individuals at elevated risk for type 2 diabetes. *Nat Med* 2021; 27(1): 49-57.
32. **Zheng R., Xu Y., Li M., et al.** Data-driven subgroups of prediabetes and the associations with outcomes in Chinese adults. *Cell Rep Med* 2023; 4(3): 100958.
33. **Andreasen ChR., Andersen A., Vilsbøll T.** The future of incretins in the treatment of obesity and non-alcoholic fatty liver disease. *Diabetologia* 2023; 66(10): 1846-1858.

**MASTNÉ KYSELINY A NÁDORY - NOVÉ POZNATKY****FATTY ACIDS AND CANCER - NEW FINDINGS****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**

Mastné kyseliny mají významné funkce energetické, strukturálních a funkční. Svým složením v biomembráně ovlivňují její fluiditu a tím i funkce, vazbou na některé proteiny modulují jejich působení, podílejí se na buněčné signalizaci a jsou také prekurzory širokého spektra biologicky aktivních molekul. Není tedy překvapením, že mastné kyseliny hrají důležitou roli v tumorigenezi. Nádorové buňky jsou charakterizovány zvýšeným vychytáváním mastných kyselin ale také zvýšenou *de novo* lipogenezou. V nádorových buňkách dochází ke zvýšené expresi proteinů a enzymů účastnících se metabolismu MK. Zvýšená aktivita těchto enzymů je spjata s horší prognózou nádorových onemocnění a jejich inhibice může být cílem terapie. Dysregulace metabolismu mastných kyselin charakterizuje nejen karcinogenezi a nádorový růst, ale také malnutrici, která onkologická onemocnění obvykle provází. Riziko rozvoje nádorových onemocnění je významně ovlivněno kvantitou a kvalitou konzumovaného tuku a vliv složení mastných kyselin ve tkáních na vznik a progresi jednotlivých nádorů je intenzivně studován. Získané poznatky jsou využívány pro vývoj nových protinádorových léčiv. Zkoumání změn v lipidovém metabolismu u nádorových onemocnění může přispět k odhalení nových biomarkerů pro časnou diagnostiku a případně i vhodných terapeutických cílů.

**Abstract**

Fatty acids have important energetic, structural and functional functions. Due to their composition in the biomembrane, they influence its fluidity and thereby its functions, by binding to some proteins they modulate their action, participate in cell signaling and are also precursors of a wide spectrum of biologically active molecules. It is therefore not surprising that fatty acids play an important role in tumorigenesis. Tumor cells are characterized by increased uptake of fatty acids but also increased *de novo* lipogenesis. In tumor cells, there is an increased expression of proteins and enzymes involved in FA metabolism. Increased activity of these enzymes is associated with a worse prognosis of cancer diseases, and their inhibition can be the goal of therapy. Dysregulation of fatty acid metabolism characterizes not only carcinogenesis and tumor growth, but also malnutrition, which usually accompanies oncological diseases. The risk of developing cancer is significantly influenced by the quantity and quality of fat consumed in food, and the influence of the composition of fatty acids in tissues on the development and progression of individual tumors is intensively studied. The knowledge gained is used for the development of new anticancer drugs. Research in changes in lipid metabolism in cancer can contribute to the discovery of new biomarkers for early diagnosis and possibly suitable therapeutic targets.

**1. Obecný přehled**

Onkologická onemocnění patří mezi skupinu chorob se závažnou prognózou. Většinou jsou doprovázena závažnou malnutricí a změnami metabolismu lipidů včetně mastných kyselin (FA). Významným rizikovým faktorem řady chorob včetně nádorových onemocnění je kvalita výživy. Odhaduje se, že složení stravy může odpovídat až za 35 % nádorových onemocnění v rozvinutých zemích (Doll a Peto, 1981).

Nádorová tkáň se skládá z nádorových i nenádorových buněk situovaných v hypoxickém a nutričně deprivovaném mikroprostředí. Nádorové buňky se tak metabolicky přizpůsobují nehostinnému prostředí a vykazují mnoho metabolických abnormalit. Vlivem mutací často ztrácejí mitochondrie a nejsou schopny aerobního metabolismu, k čemuž se přidávají další faktory jako je nedostatečné cévní zásobení nádorové tkáně. Při velmi rychlém růstu a proliferaci však vyžadují značný přísun energie a tyto okolnosti vedou k specifickým změnám metabolismu všech základních substrátů.

Proces kancerogeneze, proliferace a metastázování je provázen řadou významných změn lipidového metabolismu (Wulaningsih et al., 2012). Nádorové buňky využívají lipidy jako energetický zdroj, pro stavbu biomembrán a jako signální molekuly. Poté co se mastné kyseliny dostanou do nádorové buňky, tak probíhá jejich intenzivní metabolizace, která vede k produkci energie, tvorbě biomembrán, remodelaci prostředí tumoru, modifikaci proteinů, tvorbě antiapoptoticky působících látek atd.

K uspokojení zvýšené potřeby mastných kyselin nádorové buňky aktivují lipogenezi *de novo* i lipolýzu a intenzivně vychytávají FA z lipidových částic plazmy. Složení FA v plazmatických fosfolipidech a cholesterylesterech odpovídá jednak jejich exogennímu příjmu v průběhu několika týdnů, tak i endogennímu metabolismu FA (syntéza FA, lipoperoxidace atd.) (Riccardi et al., 2004). K vychytávání FA z bezprostředního okolí jsou v nádorech intenzivně exprimované membránové proteiny SLC27, FABP (např. fatty acid binding protein 4) a CD36 (cluster of differentiation 36, translokáza FA) (Su a Abumrad, 2009, Currie et al., 2013). Vysoká exprese CD36 koreluje se špatnou prognózou pacientů s karcinomem žaludku, prostaty, prsu a vaječníků (Koundouros a Poulgiannis, 2020).

U řady nádorů (karcinom prsu, plic, kolorektální karcinom, karcinom jícnu či štítné žlázy) byla prokázána aktivace lipogeneze *de novo* (Guo et al., 2014). Zvýšená lipogeneze *de novo* je spojena s „upregulací“ lipogenních enzymů jako jsou acetyl-CoA nebo syntáza FA. V rakovinných buňkách je exprimována za účelem uspokojení nutričních potřeb těchto buněk (Lupu a Menendez, 2006, Flowers a Ntambi, 2008). Zvýšená lipogeneze v nádorových buňkách koreluje s horší prognózou onemocnění (Kuhajda, 2006) a aktivita syntázy FA je prokazována již v rané fázi onkogeneze a předurčuje agresivitu nádorových buněk (Menendez a Lupu, 2007). Agresivně rostoucí tumory jsou charakterizovány nejen zvýšenou syntézou FA *de novo*, ale i zvýšenou přeměnou nasycených FA v mononenasycené FA (MUFA). Desaturační reakce jsou katalyzovány enzymem stearoyl-CoA desaturázou (SCD-1). Zvýšená aktivita SCD-1 je nalézána u různých onkologických onemocnění. SCD-1 katalyzuje desaturaci kyseliny palmitové (FA 16:0) na palmitolejovou (FA 16:1 n-7) a kyseliny stearové (FA 18:0) na olejovou (FA 18:1 n-9). Aktivita FAS společně s SCD-1 stabilizuje maligní fenotyp nádorových buněk, a podporuje jejich přežívání a proliferaci (Lupu a Menendez, 2006, Flowers a Ntambi, 2008, DeBerardinis et al., 2008).

V membránách nádorových buněk savců převažují vzhledem k vysoké aktivitě syntézy FA a nepřítomnosti  $\Delta 12$  desaturázy SFA a MUFA nad PUFA. Toto specifické složení poskytuje nádorovým buňkám ochranu před lipoperoxidací (Zaidi et al., 2013) a snižuje fluiditu membrány. Důsledkem je změna membránové dynamiky, procesů signalizace, receptorových funkcí, ciliogeneze atd. Vlivem těchto změn jsou nádorové buňky mnohem rezistentnější vůči působení a vychytávání chemoterapeutik (Rysman et al., 2010).

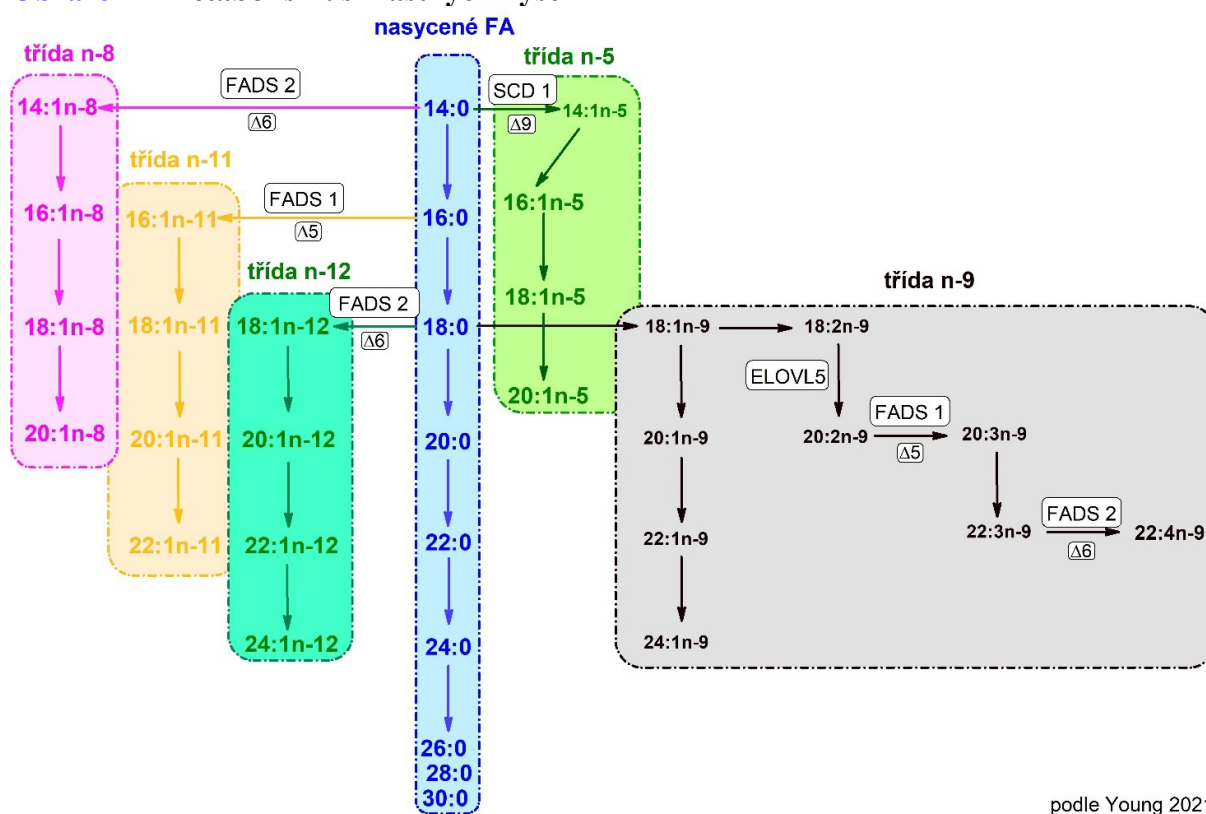
V nádorových buňkách dochází i ke změnám v katabolismu FA, u pacientů s karcinomem prostaty a leukémií bylo zjištěno, že hlavním zdrojem energie jsou FA odbourávané zvýšenou  $\beta$ -oxidací (Liu et al., 2010, Zha et al., 2005, Samudio et al., 2010).

Mastné kyseliny jsou prekurzory mnoha biologicky aktivních látek, které mohou mít tumorigenní potenciál. Byly prokázány odlišné účinky PUFAn-3 a n-6, které jsou úzce propojeny právě s jejich metabolity eikosanoidy. Je známo, že inhibice růstu tumoru je spojena se snížením aktivity cyclooxygenázy-2 a snížených koncentrací prostaglandinu  $E_2$ .

Mezi velmi důležité bioaktivní molekuly vycházející z FA jsou eikosanoidové deriváty arachidonové kyseliny (AA). Zejména PEG<sub>2</sub> a lyzofosfatidová kyselina podporující agresivitu nádorových buněk (Ren et al., 2006). Kyselina arachidonová (AA, zástupce PUFAn-6) je metabolizována působením cyklooxygenázy a lipoxygenázy na prostaglandiny a tromboxany řady 2, leukotrieny řady 4 a hydroxyeikosatetraenové kyseliny. Tyto působky mají proinflatorní a tumorigenní vlastnosti. Zástupci PUFAn-3 kyselina eikosapentaenová (EPA) a dokosaheptaenová (DHA) jsou také přeměňováni působením cyklooxygenázy a lipoxygenázy, ale na rozdíl od derivátů AA vznikají protektivně působící prostaglandiny a tromboxany řady 3, rezolvin, hydroperoxyeikosapentaenové kyseliny (Lenihan-Geels et al., 2016). Mnoho lipidových signálních molekul na bázi mastných kyselin je uvolňováno z membrány působením fosfolipáz (arachidonová kyselina, lyzofosfatidová kyselina atd.), které aktivují molekuly podporující tumorigenezi, jako jsou protoonkogeny RAS, již zmiňované fosfatidylinositol 3- kinázy (PI3Ks), proteinkinázu C, Rho/Rac rodinu GTPáz a mnoho dalších.

Základní přeměny mastných kyselin jsou znázorněny na obr. 1.

**Obrázek 1** Metabolismus mastných kyselin



podle Young 2021

*Metabolické dráhy přeměny mastných kyselin zahrnují serií reakcí, které jsou katalyzovány desaturázami a elongázami*

## 2. Mastné kyseliny u nádorové kachexie, úloha PUFA

Pacienti s maligními nádory bývají postiženi kachexií. Důvodem bývá snížený příjem potravy a zvýšený klidový energetický výdej např. u karcinomu pankreatu (Macásek et al., 2012). Výrazným rysem nádorové kachexie je deplece tukové tkáně, která předchází depleci proteinů (Macásek et al., 2012). U mnoha nádorů je studována metabolická podstata tohoto jevu, při kterém v plazmě nalzáme zvýšenou koncentraci volných FA, monoacylglycerolů a

diacylglycerolů, které jsou ve zvýšené míře vychytávány nádorovými buňkami. Několik klinických studií prokázalo pozitivní účinek PUFAn-3 na vzestup tělesné hmotnosti, využití energie a proteinů (Tobberup et al., 2021). Navíc PUFAn-3 mohou regulovat obrat proteinů ve svalech (McGlory et al., 2019) a inhibovat proteasomy. Všechny tyto mechanismy zlepšující nutriční stav a podporující dobrou kondici kosterního svalstva jsou velmi důležité pro pacienty s nádorovými onemocněními, kachexií a PUFAn-3 mohou zlepšovat výsledky onkologické terapie.

### 3. Mastné kyseliny u vybraných maligních chorob

#### 3.1. Karcinom pankreatu

Karcinom pankreatu je jedno z nejmaligntnějších onemocnění. Role FA při vzniku a vývoji karcinomu pankreatu však není stále plně objasněna, i přesto, že je nepochybně důležitá.

Existují poznatky, že nasycené a mononenasycené FA podporují růst pankreatických karcinomových buněk (Yu et al., 2015). Di Gangi a kolektiv prokázali, že zástupce nasycených mastných kyselin kyselina palmitová je marker se senzitivitou 100 % při rozlišení mezi pacienty a zdravými kontrolami ve srovnání s rutinně užívaným onkomarkerem CA 19–9 (Di Gangi et al., 2016), nutno dodat, že dodnes není znám marker predikující karcinom pankreatu.

Dle studie autorů Shishavan *et al.* v roce 2021 vyšší hladiny plazmatických MUFA, PUFAn-3 a ruminantních transmastných kyselin byly asociovány se sníženým rizikem karcinomu pankreatu. U celkových PUFAn-6 byla prokázána statisticky signifikantní opačná asociace mezi jejich hladinou a incidencí karcinomu pankreatu, i přesto, že jednotliví zástupci PUFAn-6 mohou mít rozdílné účinky na riziko onemocnění (vyšší hladiny kyseliny dihomog- $\gamma$ -linolenové a eikosadienové byly v této studii asociovány s nižším rizikem karcinomu pankreatu patrně antiinflatorním působením jejich inhibice na vznik arachidonové kyseliny, kdežto hladiny kyseliny linolové a arachidonové byly pozitivně asociovány s rizikem vzniku karcinomu pankreatu). Pro celkové nasycené mastné kyseliny a industriálně vznikající transmastné kyseliny nebyla v této práci prokázána žádná asociace (Shishavan et al., 2021).

Tato práce tedy naznačila, že pro zástupce PUFA mohou být účinky rozdílné. Vysoký příjem PUFAn-6 zvyšuje obecně riziko vzniku nádorů trávicího traktu (kolorektální karcinom, karcinom pankreatu), ale i karcinomu prsu a prostaty (Berquin et al., 2008) pravděpodobně stimulací proinflatorních dějů. V případě karcinomu pankreatu (KP) došlo u obézních jedinců ke snížení rizika jeho vzniku při zvýšeném příjmu PUFA na úkor těch SFA (Nkondjock et al., 2005). Tyto účinky PUFA mohou být v důsledku rozdílnosti patofyziologických mechanismů. PUFAn-3 inhibují proliferaci nádorových buněk prostřednictvím potlačení ATK fosforylace, naopak PUFAn-6 tento mechanismus podporují (Ding et al., 2018).

Další studie také prokázaly, že pacienti s karcinomem pankreatu mají specifický profil mastných kyselin v plazmatických lipidech. Ve studii Macáška a kol. z roku 2012 byl prokázán ve skupině pacientů s karcinomem pankreatu nižší obsah LA, ALA a EPA a vyšší obsah celkových MUFA, především kyseliny palmitolejové, což je marker zvýšené lipogeneze, olejové a vakcenové (Macásek et al., 2012). U pacientů s karcinomem pankreatu nebyla prokázána vyšší koncentrace konjugovaných dienu v LDL částicích jako ukazatelů lipoperoxidace (Žák, 2007), tudíž snížené množství linolové (LA, FA 18:2n-6),  $\alpha$ -linolenové (ALA, FA 18:3n-3) a timnodonové kyseliny (EPA, FA 20:5n-3) není způsobeno lipoperoxidací, ale pravděpodobně nižším dietním přísunem těchto mastných kyselin. V jedné studii (Neoptolemos, 1988), bylo zjištěno, že u zdravých jedinců koreluje obsah LA v tukové tkáni i v erytrocytech, kdežto u pacientů s kolorektálním karcinomem tato korelace chybí. U pacientů s karcinomem pankreatu byly prokázány změny v expresi enzymů lipidového

metabolismu. Byla zjištěna zvýšená aktivita desaturáz SCD-1 (D9D) a D5D. Aktivita D5D při desaturaci PUFA<sub>n</sub>-3 a n-6 hraje důležitou roli v kancerogenezi vlivem na zánět, proliferaci, apoptózu a metastazování (Pang et al., 2021). Tento enzym D5D se tak se svojí důležitou rolí v procesu metabolismu PUFA stává potenciálním cílem protinádorové léčby (Pang et al., 2021).

V současné době probíhá intenzivní výzkum možností léčby karcinomu pankreatu a je velmi zajímavým poznatkem cytotoxické působení mastných kyselin s lichým počtem atomů uhlíku. Recentní práce Kima, Moona a Cho prokázala protinádorový efekt heptadekanové kyseliny proti buňkám lidského karcinomu pankreatu indukci apoptózy a zvýšením chemosenzibility na léčbu gemcitabinem (Kim et al., 2023).

### 3.2. Kolorektální karcinom

Kolorektální karcinom je celosvětově mezi nádorovými onemocněními, která významně zatěžují zdravotní systém, a představuje 10 % všech nádorů (Petruželka et al., 2018). Pozitivním trendem je, že Česká republika již není v incidenci a mortalitě kolorektálního karcinomu dle mezinárodních statistik na předních místech (Petruželka et al., 2018). I přes tyto pozitivní trendy v incidenci a mortalitě se stále jedná o vážné onemocnění s mnoha komplikacemi, a proto je nutné zkoumat všechny možnosti prevence a léčby. Při vzniku kolorektálního karcinomu hraje roli působení mnoha faktorů. Důležitými geneticko-molekulárními regulátory metabolismu v buňkách karcinomu jsou Wnt, KRas a p53 (Hoxha a Zappacosta, 2022). Výživa, obezita, diabetes mellitus 2. typu a působení střevního mikrobiomu produkujícího mastné kyseliny s krátkým řetězcem jsou také důležitými faktory pro vznik kolorektálního karcinomu. Mezi mastné kyseliny s krátkým řetězcem patří acetát, propionát a butyrát a střevní bakterie je vyrábějí fermentací vlákniny, škrobu i mnoha peptidů. Fyziologicky jsou tyto kyseliny zdrojem energie pro kolonocyty (propionát), hepatocyty (acetát) nebo substráty pro syntézu glutaminu, glutamátu a hydroxybutyrátu (butyrát). Mezi další účinky patří imunomodulace a antikancerogenní působení. Zvýšené množství bakterií *Clostridium butyricum*, *Lactobacillus rhamnosus* a *Lactobacillus acidophilus* produkujících mastné kyseliny s krátkým řetězcem hraje důležitou pozitivní roli v senzitivitě vůči antikancerogenní léčbě. Tato pozoruhodná asociace představuje nový pohled na přístup ke strategii léčby kolorektálního karcinomu.

V rozvoji kolorektálního karcinomu hrají důležitou úlohu inflamatorní děje. Shivappa s kolektivem autorů (2017) vypracovali na základě tohoto poznatku metaanalýzu, ve které byl prokázán negativní vliv proinflatorně působící stravy (obsahující vyšší množství cukrů, proteinů, tuků a nasycených a transmastných kyselin) a pozitivní vliv antiinflatorně působících potravin (s obsahem mononenasycených a PUFA<sub>n</sub>-3 a n-6, vlákniny, vitamínů atd.). V epidemiologických studiích byl prokázán pozitivní vliv konzumace stravy obsahující PUFA<sub>n</sub>-3 proti rozvoji kolorektálního karcinomu. V populacích s vysokou konzumací ryb byla prokázána nízká mortalita na kolorektální karcinom (Umezawa et al., 2019). Jedna stará observační studie z roku 1984 prokázala inverzní vztah mezi příjmem ryb s obsahem PUFA<sub>n</sub>-3 a rizikem vzniku kolorektálního karcinomu v proximální části tlustého střeva (Newmark et al., 1984). Metaanalýza 25 studií, zahrnující více než 25 000 případů kolorektálního karcinomu, prokázala, že denní konzumace 50 g mořských ryb byla asociována s 4% snížením rizika vzniku kolorektálního karcinomu (SRR 0.96, 95 % CI 0.92–0.9) (Caini et al., 2022). Dalšími autory poukazující na benefitní účinky vyššího příjmu PUFA<sub>n</sub>-3 vůči rozvoji kolorektálního karcinomu byli Tokudome et al. (2015), kteří provedli randomizovanou kontrolovanou studii na zhruba 100 účastnících, kteří měli konzumovat vyšší množství PUFA<sub>n</sub>-3 ve formě mořských produktů a snížit příjem PUFA<sub>n</sub>-6 a tuků obecně. Po 24 měsících od intervence byla studie zhodnocena a bylo prokázáno snížení incidence kolorektálního karcinomu (hazard ratio 0,805) (Tokudome et al., 2015).

PUFAn-3 působí tedy protektivně před jeho vznikem, zvažují se především jejich antiinflatorní účinky (Gerber, 2012), ale podstata antitumorigenních účinků není plně objasněna. Uvažuje se o několika možných mechanismech. Produkce antiinflatorně působících lipidových mediátorů, inhibice cyclooxygenázy, přímé působení mastných kyselin přes receptory spojené s G-proteiny, modulace membránové dynamiky s vlivem na povrchové receptory či ovlivněním buněčného stresu (Umezawa et al., 2019). Na základě získaných poznatků lze doporučit konzumaci polynenasycených mastných kyselin PUFAn-3 ke snížení rizika vzniku kolorektálního karcinomu.

V poslední době se ukázaly i nové možnosti v léčbě kolorektálního karcinomu, především u pacientů s KRAS mutací, kteří nejsou úplně vhodní k biologické léčbě monoklonálními protilátkami blokujícími EGFR a angiogenezi (Hoxha a Zappacosta, 2022). Navíc pacienti s KRAS mutací mají zvýšenou proliferaci buněk zvyšující energetické nároky, tudíž aktivují syntézu mastných kyselin k jejich uspokojení. V těchto buňkách dochází i ke zvýšené palmitoylaci membránových receptorů. Právě tyto procesy tak mohou být u těchto jinak rezistentních buněk slabými místy (Hoxha a Zappacosta, 2022). Potencionálním biomarkerem pro skríníng kolorektálního karcinomu mohou být plazmalogeny, které patří do skupiny glycerofosfolipidů (Fernandes et al., 2020).

Recentním poznatkem souvisejícím s metabolismem mastných kyselin u kolorektálního karcinomu je nález sníženého množství oxylipinů (oxidovaných lipidů, které jsou produkovány enzymatickými reakcemi za katalýzy cyklooxygenázou, lipoxygenázou a cytochromem P450) 12-keto-LTB<sub>4</sub> (12-keto-leukotrien B<sub>4</sub>) a 9-HODE či 13-HODE (9- a 13-hydroxyoktadekadienová kyselina) (Zhang et al., 2019).

### 3.3. Karcinom prostaty

Karcinom prostaty je řazen mezi nejčastější malignity u mužů, v USA je druhou nejčastější příčinnou úmrtí mužů na zhoubná onemocnění. Epidemiologické studie poukázaly na některé rizikové faktory vzniku karcinomu prostaty jako jsou rodinná anamnéza, věk, rasa, ale i zánětlivé děje v prostatě při chronické prostatitidě. V buňkách karcinomu prostaty dochází ke specifickým změnám v lipidovém metabolismu jako např. k vyšší intenzitě katabolického procesu  $\beta$ -oxidace, což vede k nižší závislosti jejich energetického metabolismu na katabolismu glukózy. Ve studiích byla prokázána zvýšená exprese některých specifických enzymů jako například  $\Delta^3$ -,  $\Delta^2$ -enoyl-CoA izomerázy 1 (Bramhecha et al., 2022), které se účastní procesu  $\beta$ -oxidace FA. Byla tak prokázána dominantní energetická závislost buněk karcinomu prostaty na FA (Liu et al., 2010, Zha et al., 2005). V buňkách karcinomu prostaty byla prokázána též zvýšená exprese peroxisomálního enzymu  $\alpha$ -methylacyl-CoA racemázy, který katalyzuje přeměnu větvených FA (např. kyselina pristanová přítomná v dietě „západního“ typu) na formy podstupující  $\beta$ -oxidaci (Wu et al., 2014). Nicméně, při  $\beta$ -oxidaci FA dochází ke vzniku lipidových hydroperoxidů negativně působících na DNA, což může podporovat děje karcinogeneze.

Vzhledem k podstatné úloze zánětu v dějích kancerogeneze byl zkoumán vliv dietního přísunu antiinflatorně působících PUFAn-3. V mnoha preklinických modelech bylo prokázáno, že PUFAn-3 z rybího oleje zpomalily rozvoj a progresi androgen-senzitivní i na kastraci rezistentní formy karcinomu prostaty u myši (např. Gevariya et al., 2019, Liang et al., 2022). V roce 2013 byla zveřejněna studie (case-cohort study) se zjištěním, že navzdory předpokladům mají muži s vyšším množstvím PUFAn-3 v plazmě vyšší pravděpodobnost karcinomu prostaty (Brasky et al., 2013) a bylo na PUFAn-3 pohlíženo jako na látky podporující karcinogenezi. Tato studie však měla řadu nedostatků a následné metaanalýzy prokázaly malý a nesignifikantní vztah mezi plazmatickými hladinami PUFAn-3 a celkovým rizikem vzniku karcinomu prostaty. Další studie zkoumající vliv mezi dietním přísunem

PUFAn-3 a incidencí karcinomu prostaty byly inkonzistentní i vzhledem k nepřesnosti dietních dotazníků.

V roce 2022 se objevila publikace, která upozornila na studie prokazující protektivní vlastnosti PUFAn-3 (Liang et al., 2022). V jedné prospektivní studii korelovaly vyšší hladiny kyseliny eikosapentaenové (EPA) v prostatické tkáni u sledovaných pacientů s nižším gradingem potvrzeným bioptickými vyšetřeními (Moreel et al., 2014). Podobně jedna malá prospektivní randomizovaná studie u pacientů prokázala sníženou proliferaci ve vzorcích maligní tkáně získané prostatektomií a zhodnocené za pomoci indexu Ki-67 a skóre genetického rizika (dle skóre progresu buněčného cyklu) u mužů, kteří byli na stravě bohaté na PUFAn-3 ve srovnání s muži konzumující západní typ diety (Galet et al., 2014).

V tkáni rozvíjejícího se karcinomu byla zjištěna zvýšená aktivita delta-6 desaturázy, která katalyzuje desaturační reakce pro vznik PUFAn-6 a n-3 s dlouhým řetězcem, což může znamenat, že vyšší obsah PUFAn-3 může být markerem zvýšené syntézy, než že by zvýšený příjem PUFAn-3 hrál aktivní roli v karcinogenezi. Nové práce však poukazují na mnohé protektivní antikancerogenní mechanismy působení PUFAn-3 (ve srovnání s PUFAn-6) u karcinomu prostaty, které se uplatňují využitím imunitního systému. Na myších modelech na kastraci senzitivních i rezistentních bylo prokázáno, že konzumace PUFAn-3 snížila infiltraci zhoubné tkáně M2 makrofágy, které hrají klíčovou úlohu v progresi karcinomu umožněním invaze a angiogeneze a potlačením imunitní odpovědi (Liang et al., 2016). V práci Lianga a spol. z roku 2022 bylo poukázáno také na důležitou roli receptoru PUFAn-3 GPR120 v uplatňování protinádorového efektu dietních PUFAn-3 u karcinomu prostaty (Liang et al., 2022). Receptor GPR120 pro PUFAn-3 byl identifikován na makrofázích a adipocytech (Im, 2016) a exprese receptoru v prostatické tkáni koreluje s velikostí protinádorového efektu stravy obsahující PUFAn-3 (Liang et al., 2019).

Vzhledem k zatím nejasným výsledkům studií zkoumajících vztah PUFA a karcinomu prostaty lze závěrem konstatovat, že užívání PUFAn-3 má být nadále doporučováno jako kardiovaskulární protektivum a není třeba se obávat potenciálních rizik rozvoje karcinomu prostaty (Farell et al., 2021).

Negativním rizikovým faktorem pro vznik karcinomu prostaty mohou být transmastné kyseliny. Nepřekvapí negativní vlastnosti průmyslovým zpracováním vznikající kyseliny elaidové, ale dle některých recentních prací mohou podporovat růst karcinomu prostaty i zástupci vyskytující se v přírodních zdrojích (ruminantní formy) (Minas et al., 2023).

### 3.4. Karcinom prsu

Karcinom prsu je nejčastější příčinnou úmrtí žen na nádorová onemocnění. U žen je, pokud pomineme kožní nádory, nejčastější nebezpečnou malignitou vůbec, zahrnující až 30 % všech nádorových onemocnění (Priyanka et al., 2022). Karcinom prsu je heterogenní skupina solidních tumorů zahrnující cca 20 různých podskupin lišících se v genetice, klinickém chování atd. (Mehraj et al., 2022). Hlavní dělení typů nádorů je s důrazem na klinický vývoj, léčbu a prognózu a rozlišuje 4 podtypy karcinomu prsu tzv. triple-negative, lumenální A, lumenální B a HER2 + typ (Mehraj et al., 2022).

Pro maligní nádory včetně karcinomu prsu je typická dysregulace metabolismu mastných kyselin. Metabolismus mastných kyselin v nádorových buňkách zahrnující nejen *de novo* syntézu nasycených forem FA, ale i další přeměny těchto kyselin na produkty s nenasycenými vazbami a delším uhlíkovým řetězcem, je závislý na enzymech desaturázách a elongázách, které katalyzují příslušné reakce a jejichž aktivita bývá v nádorových buňkách změněna. U nádorových buněk dochází ke změně aktivit mnoha enzymů.

Kuhajda et al. již v roce 1989 prokázali u osob s karcinomem prsu zvýšenou expresi proteinu asociovaného s jeho nepříznivou prognózou, který nazvali jako „haptoglobin-related protein (Hpr)“, a později bylo zjištěno, že se jedná o cytosolickou syntázu mastných kyselin (fatty



acid synthase, FASN). V nádorových buňkách je zvyšováno množství FA nejen *de novo* lipogenezí při zvýšené expresi syntázy FA, ale dochází i ke zvýšené míře vychytávání FA z okolí, protože buňky karcinomu prsu produkují ve zvýšeném množství lipoproteinovou lipázu a CD36 zajišťující zvýšený přísun volných FA přes membránu buňky (Kuemmerle et al., 2011). Zvýšená exprese syntázy FA je u karcinomu prsu spojena se špatnou prognózou tohoto onemocnění (Pizer et al., 2000). Dalším enzymem, tentokrát katabolickým, je monoacylglycerol lipáza, jejíž nadměrná exprese byla prokázána u agresivních forem karcinomu prsu, vaječníků a melanomu (Nomura et al., 2010).

Dalšími podstatnými změnami v nádorových buňkách jsou změny fluidity biomembrány na podkladě změny složení mastných kyselin fosfolipidů. V membránách buněk karcinomu prsu byl ve srovnání s buňkami zdravé prsní tkáně prokázán vedle zvýšeného obsahu MUFA pokles obsahu PUFA (Chajes et al., 1995). Tyto změny profilu FA ve fosfolipidech biomembrán mají vliv na její vlastnosti v tom, že ovlivňují jejich fluiditu, vyšší podíl MUFA a nižší podíl PUFA způsobují nižší fluiditu a nepříznivé biologické vlastnosti karcinomových buněk. Změna fluidity následně ovlivňuje vlastnosti membránových raftů, které hrají důležitou úlohu v signálních drahách buněk. V biomembránách maligních buněk detekujeme snížený obsah exogenních FA, zatímco obsah nasycené mastné kyseliny palmitové a endogenních MUFA syntetizovaných v buňkách lipogenezí *de novo* a desaturací bývá zvýšen. Hilvo et al. (2012) prokázali vyšší množství kyseliny palmitové v membránovém fosfatidylcholinu buněk karcinomu prsu, které bylo asociováno i s kratší dobou přežití a vyšší malignitou nádorů. Další autoři prokázali zvýšené množství MUFA ve fosfolipidových třídách a potvrdili, že za tímto efektem stojí výše uvedené metabolické změny (např. Cífková et al., 2015).

Chajes et al. (1999) publikovali práci, ve které na základě analýzy poměru FA 18:0/18:1n-9 prokázali, že ženy s nižší aktivitou enzymu stearoyl-CoA desaturázy (SCD-1), která katalyzuje desaturační reakci, měřenou jako výše uvedený poměr FA, mají nižší riziko vzniku karcinomu prsu. Tento fakt potvrdily i další studie. U pacientek s karcinomem prsu byl prokázán nižší obsah kyseliny stearové jako důsledek vyšší aktivity SCD-1, katalyzující její desaturaci na kyselinu olejovou (Chajes et al., 1999). Aktivita enzymu SCD-1 může být ovlivněna mnoha faktory včetně působení samotných mastných kyselin nebo inzulínu. Inzulín stimuluje expresi SCD-1 a chronická hyperinzulinémie může být rizikovým faktorem pro rozvoj karcinomu prsu, což by přispělo k vysvětlení asociace obezity a nádorového onemocnění. U karcinomu prsu byla mimo jiné prokázána výrazná asociace zvýšeného rizika vzniku onemocnění s obezitou a nevhodným životním stylem. Metabolickými rizikovými faktory jsou vysoký kalorický příjem, nedostatek fyzické aktivity, strava bohatá na nasycené a transmononenasycené mastné kyseliny, rafinované cukry a nedostatek vlákniny.

Karcinom prsu se tak řadí k nádorům, jejichž incidence stoupá v západních zemích paralelně se vzrůstající epidemií obezity (Eheman et al., 2012). Obezita přítomná v době stanovení diagnózy karcinomu prsu zhoršuje i prognózu tohoto onemocnění (Protani et al., 2010). Bylo prokázáno, že restriktce kalorického příjmu, zvýšení fyzické aktivity a bariatrické operace, které vedou ke snížení tělesné hmotnosti, snižují riziko vzniku nádorových onemocnění včetně karcinomu prsu (Wolin a Colditz, 2008). Tyto poznatky byly potvrzeny i v experimentu na zvířecích modelech (Cowen et al., 2015).

Vedle zvýšené lipogeneze *de novo*, provázené zvýšením obsahu SFA i MUFA, bývá u nádorových onemocnění změněno i spektrum PUFA. Příčinou jsou změny v expresi desaturáz mastných kyselin. Delta-6 desaturáza (D6D) je ve zvýšené míře exprimována v nádorové tkáni a její aktivita je spjata se zvýšenou syntézou arachidonové kyseliny a z ní produkovaných proinflatorně působících prostaglandinů a leukotrienů (Pender-Cudlip et al., 2013). V experimentu na myších bylo zjištěno, že inhibice D6D vede ke zmenšení velikosti tumoru v důsledku inhibice zánětlivé odpovědi a angiogeneze (He et al., 2012),

což ukázalo na možnost užití inhibitorů D6D jako slibná léčebná modalita, a že obecně vhodné ovlivnění metabolických přeměn FA může mít význam v prevenci vzniku a růstu maligních nádorů.

Signifikantní roli hrají i endogenní volné mastné kyseliny. Z preklinických a klinických studií se množí důkazy, že u karcinomu prsu vykazují specifické třídy volných mastných kyselin, jako jsou nasycené, mononenasycené, transmastné kyseliny, prokancerogenní účinky. Na druhé straně u polynenasycených mastných kyselin, především PUFAn-3 s dlouhým řetězcem, se prokázaly inhibiční účinky proti rozvoji karcinomu prsu, ale i jiných zhoubných nádorů (Priyanka et al., 2022).

Důležitým faktorem pro vznik karcinomu prsu je i kvalitativní složení přijímaných mastných kyselin. Z tohoto pohledu jsou protektivně působícími především nasycené mastné kyseliny o střední délce řetězce (MCFAs, počet uhlíků C6-C12), jejichž zdrojem jsou například kokosový olej či palmová jádra a podílí se na cca 2 % energetického příjmu v lidské stravě (Lemarié et al., 2016). MCFAs mají *in vitro* prokázané antikancerogenní účinky u karcinomu prsu, kožních nádorů a kolorektálního karcinomu (Nagao et al., 2010). Kokosový olej by mohl být důležitým nutraceutikem v prevenci zhoubných onemocnění (Sheela et al., 2019). Nasycené mastné kyseliny o střední délce řetězce se rychle vstřebávají a portální žílou putují do jater, kde podléhají především  $\beta$ -oxidaci. Molekulární účinky zástupce MCFAs kyseliny kaprylové (C8) zahrnují inhibici exprese genů jako jsou CDK2, CDK4, CCNA2 a CCND1, které se uplatňují v buněčném dělení a progresi růstu karcinomových buněk (Sheela et al., 2019). Kaprylová kyselina hraje důležitou roli i v lipidovém metabolismu spojeném se zánětlivou odpovědí tím, že ovlivňuje signální dráhy spojené s ABCA1 a p-JAK2/pSTAT3 (Zhang et al., 2022). Nicméně je poctivě uvést, že některé práce týkající se ostatních nádorových onemocnění poukazují na negativní účinky kaprylové kyseliny. Jansen (Jansen et al., 2014) prokázali, že konzumace tučné diety obsahující osmiuhlíkatého zástupce MCFAs zvyšovalo na dávce závislé riziko karcinomu pankreatu. Wang a kolektiv (Wang et al., 2020) zjistili, že kaprylová kyselina zvyšuje expresi COX2 a PGE2 v kostní dřeni, zvyšuje tam proliferaci adipocytů a kostních metastáz karcinomu prostaty. Dle výsledků studie Iemota a kolektivu (Iemota et al., 2019) měli lidé s kolorektálním karcinomem a nízkými hladinami kyseliny kaprylové lepší prognózu než lidé s hodnotami vyššími. Kyselina laurová podporuje buněčnou smrt apoptózu prostřednictvím aktivace cest zprostředkovaných EGFR a Rho-kinázami a zvýšením intracelulárního obsahu reaktivních forem kyslíku (reactive oxygen species, ROS), což vede k snížení obsahu glutathionu a zastavení buněčného cyklu ve fázi G0/G1 and G2/M (Lappano et al., 2017, Sheela et al., 2019). Tyto patofyziologické předpoklady působení MCFAs u karcinomu prsu potvrzuje jedna z recentních studií, ve které bylo popsáno nižší množství kyseliny laurové a kaprylové u pacientek s karcinomem prsu (Roopashree et al., 2022).

Problematika vztahu konzumace tuku k riziku rozvoje nádorových onemocnění je nicméně komplexní. U pacientů s karcinomem prsu dochází nejen ke změně endogenního metabolismu FA, ale je podstatné i složení konzumovaných exogenních FA. Nasycené mastné kyseliny jsou pro jejich promaligní působení předmětem mnoha studií. Některá publikovaná data ukazují na zvýšené riziko karcinomu prsu u evropských žen konzumujících zvýšené množství nasycených mastných kyselin (Sieri et al., 2014). Dle metaanalýzy publikované Brennenem et al. (2015) mají nasycené mastné kyseliny negativní vliv na přežití pacientů s karcinomem prsu, další autorský kolektiv Shannona (2017) prokázal u karcinomu prsu zvýšené množství nasycených FA kyseliny palmitové a stearové. Existují však též práce, které tyto závěry nepotvrdily (Bannikopa et al., 2017). Například Chajes et al. (1999) zjistili, že vyšší obsah zástupce nasycených FA kyseliny stearové v plazmatických fosfolipidech snižuje riziko vzniku karcinomu prsu.

Humánní epidemiologické studie věnující se vlivu PUFAn-3 a n-6 poskytují nekonzistentní poznatky o vztahu příjmu PUFAn-3 a sníženým rizikem vzniku rakoviny prsu. Důvodem mohou být vlivy vyplývající z experimentální variability a rozdílných potravních zdrojích mezi animálními a humánními objekty (např. Astorg et al., 2009). Fay et al. (1997) postulovali na základě studia zvířecích modelů, že dieta bohatá na PUFAn-6 podporuje kancerogenezi a metastazování u karcinomu prsu, naproti tomu PUFAn-3 působí na stejné procesy inhibičně. Tento předpoklad potvrdili ve své studii Vatten et al. (1993), kteří prokázali negativní asociaci mezi sérovou hladinou PUFAn-6 a relativním rizikem vzniku karcinomu prsu u premenopauzálními a perimenopauzálními ženami. Ve studii zveřejněné v roce 2002 v USA byla prokázána pozitivní korelace mezi množstvím PUFAn-6 v tukové tkáni a rizikem karcinomu prsu (Bagga et al., 2002). Chajes et al. (1999) zase žádný vztah mezi hladinou PUFAn-6 či PUFAn-3 a rizikem vzniku karcinomu prsu u švédských žen neprokázali. Jiní autoři prokázali vyšší riziko vzniku karcinomu prsu u indických žen, které konzumovaly zvýšené množství sacharidů a snížené množství obou tříd PUFA (především PUFAn-3) (Bannikopa et al., 2017). Při zkoumání účinků PUFAn-3 na karcinom prsu byly prokázány protektivní účinky této FA třídy. U PUFAn-3 se totiž uvažuje o mnoha účincích před vznikem nádorů prsu, přehled těchto účinků při suplementaci PUFAn-3 je uveden na obrázku 13.5 (podle Newella, 2021). PUFAn-3 mají pozitivní vliv na remodelaci buněčné membrány (Rogers et al., 2010) a snižují aktivitu onkogenních signálních drah faktorů EGFR a CXCR4 (Rogers et al., 2010, Altenburg a Siddiqui, 2009). Mezi další významné mechanismy antionkogenního potenciálu PUFAn-3 u karcinomu prsu spočívá v inhibici mitogenních účinků estrogenů, a naopak k aktivaci inhibičně působícího E<sub>2</sub> (Cao et al., 2012). Zvláště zástupci řady PUFAn-3 kyselina eikosapentaenová a dokosahexaenová, které jsou součástí rybího oleje a mořských ryb, prokázali inhibiční vliv na karcinogenezi karcinomu prsu snížením růstu buněk i nádorové tkáně. Dostatečný důkaz protinádorového účinku PUFAn-3 s dlouhým řetězcem poskytly především buněčné a zvířecí studie (Kim et al., 2009).

Francouzská studie ukázala negativní korelaci mezi množstvím PUFAn-3 v tukové tkáni a rizikem vzniku karcinomu prsu (Maillard et al., 2002). Byl též porovnáván rozdíl ve vlivu dvou důležitých zástupců PUFAn-3 a to EPA a DHA na karcinom. DHA může mít větší efekt na potlačení vzniku metastáz u karcinomu prsu než EPA (Rahman et al., 2013).

#### 4. Mastné kyseliny a terapie nádorů

V nádorových buňkách dochází k výrazné alteraci metabolismu FA a toho lze využít v terapii onkologických onemocnění. V rámci preklinických studií byly vyzkoušeny různé inhibitory enzymů hrajících roli v lipidovém metabolismu (Koundouros a Pouligiannis, 2020). V úvahu připadají léčebné zásahy v dějích lipogeneze a lipolýzy. Inhibice enzymů, které se účastní lipogeneze, například ATP citrátlyázy, acetyl-CoA karboxylázy, syntázy mastných kyselin (FASN), acyl-CoA syntetázy (ligázy), vede v experimentálních studiích ke snížení intracelulární dostupnosti mastných kyselin a následně ke zpomalení buněčného růstu nádorových buněk bez účinku na buňky nenádorové (Currie et al., 2013). Navíc dochází k potenciaci cytotoxického účinku inhibitorů lipogeneze v prostředí chudém na přísun mastných kyselin (Zaidi et al., 2012). V nedávné době proběhlo klinické testování inhibitorů syntézy mastných kyselin ve fázi II. Tyto látky působí inhibičně na syntázu mastných kyselin (FASN). Molekula TVB-2640 prochází klinickou studií fáze II jako monoterapie u nemalobuněčného karcinomu plic s KRAS mutací (NCT03808558), v kombinační léčbě s paclitaxelem a trastuzumabem u „triple-negative“ karcinomu prsu (NCT03179904), či s antiangiogenním lékem bevacizumabem u pacientů s high-grade astrocytmem (NCT03032484). Preklinické studie prokazují účinnost inhibitorů acetyl-CoA karboxylázy (ACC) ND-646 a ND-654, které podstatně suprimovaly růst plicního tumoru myši. Další

ACC inhibitor ND-630, který byl původně vyvinut pro léčbu nealkoholové steatohepatitidy, prochází testy fáze I jako lék proti rakovině (NCT02876796). V experimentu u mnoha nádorů prokazuje pozitivní efekt benzen-trikarboxylátový analog inhibicí citrátového přenašeče ve vnitřní mitochondriální membráně, který je zvýšeně exprimován v nádorech se špatnou prognózou (Catalina-Rodriguez et al., 2012). Dalším slibným terapeutickým cílem je inhibice SCD-1, což vede ke snížení množství nenasycených FA a alteraci membránových dějů nádorových buněk (Ariyama et al., 2010). Selektivní inhibitor SCD-1, jehož součástí je mykotoxin cerulenin, zkracuje délku života nádorových buněk (Falvella et al., 2002).

Vzhledem ke složitému intracelulárnímu metabolismu FA se cílem potenciálního terapeutického zásahu může stát jakákoliv jeho část. V experimentálních studiích se zkouší ovlivnění řady dalších zúčastněných enzymů či proteinů řídících expresi genů zodpovědných za lipidový metabolismus (malonyl CoA dekarboxyláza, ovlivnění exprese SREBP-1).

V současné době je studován vliv PUFAn-3 při protinádorové terapii. Tyto PUFA mohou být využity jako adjuvantní protinádorová léčba. Je známo, že klasická chemoterapeutika i radioterapie mají vyšší účinnost při současné suplementaci PUFAn-3 s dlouhými řetězci (Murphy et al., 2011). PUFAn-3 mají pleiotropní protinádorové účinky. Inhibují angiogenezi a proces metastazování, nicméně přesné mechanismy nejsou ještě zcela objasněny. PUFAn-3 jsou důležité i pro jejich protektivní působení proti rozvoji nádorové kachexie. Suplementace těmito FA snižuje nádorově podmíněnou degradaci svalů tím, že PUFAn-3 snižují expresi podjednotek proteosomů zodpovědných za katabolismus proteinů a inhibují akutní zánětlivou reakci (Tvrzická et al., 2002).

*Podpořeno MZ ČR-RVO-VFN64165 a Cooperatio 1. LF UK*

## Literatura

**Altenburg JD., Siddiqui RA.** Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids Down-Modulate CXCR4 Expression and Function in MDA-MB-231 Breast Cancer Cells. n-3 PUFAs Decrease CXCR4 Surface Expression and Function. *Mol Cancer Res* 2009; 7(7): 1013-1020.

**Astorg P., Arnault N., Czernichow S., et al.** Dietary intakes and food sources of n-6 and n-3 PUFA in French adult men and women. *Lipids* 2004; 39(6): 527-535.

**Aucoin M., Cooley K., Knee C., et al.** Fish-derived omega-3 fatty acids and prostate cancer: A systematic review. *Integrat Cancer Therap* 2017; 16(1): 32-62.

**Ariyama H., Kono N., Matsuda S., et al.** Decrease in membrane phospholipid unsaturation induces unfolded protein response. *J Biol Chem* 2010; 285(29): 22027-22035.

**Bagga D., Anders KH., Wang HJ., Glaspy JA.** Long-chain n-3-to-n-6 polyunsaturated fatty acid ratios in breast adipose tissue from women with and without breast cancer. *Nutr Cancer* 2002; 42(2): 180-185.

**Bannikoppa P., Dhayanand J., Madhukumar R., et al.** Fatty acid intake and erythrocyte fatty acid profile in women with breast, ovarian and cervical cancers. *Clin Nutr ESPEN* 2017; 19: 59-63.

**Bramhecha YM., Guérard KP., Audet-Walsh É., et al.** Fatty acid oxidation enzyme  $\Delta 3$ ,  $\Delta 2$ -enoyl-CoA isomerase 1 (ECI1) drives aggressive tumor phenotype and predicts poor clinical outcome in prostate cancer patients. *Oncogene* 2022; 41(20): 2798-2810.

**Brasky TM., Darke AK., Song X., et al.** Plasma phospholipid fatty acids and prostate cancer risk in the SELECT trial. *J Natl Cancer Inst* 2013; 105(15): 1132-1141.

**Brennan SF., Woodside JV., Lunny PM., et al.** Dietary fat and breast cancer mortality: a systematic review and meta-analysis. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2015; 57(10): 1999-2008.

- Caini S., Chioccioli S., Pastore E., et al.** Fish Consumption and Colorectal Cancer Risk: Meta-Analysis of Prospective Epidemiological Studies and Review of Evidence from Animal Studies. *Cancers* 2022; 14(3): 640.
- Cao W., Ma Z., Rasenick MM., et al.** N-3 poly-unsaturated fatty acids shift estrogen signaling to inhibit human breast cancer cell growth. *PLoS one* 2012; 7(12): e52838.
- Catalina-Rodriguez O., Kolukula VK., Tomita Y., et al.** The mitochondrial citrate transporter, CIC, is essential for mitochondrial homeostasis. *Oncotarget* 2012; 3(10): 1220-1235.
- Cífková E., Holčapek M., Lisa M., et al.** Determination of lipidomic differences between breast cancer and surrounding normal tissues using HILIC-HPLC/ESI-MS and multivariate data analysis. *Anal Bioanal Chem* 2015; 407(3): 991-1002.
- Cowen S., McLaughlin SL., Hobbs G., et al.** High-fat, high-calorie diet enhances mammary carcinogenesis and local inflammation in MMTV-PyMT mouse model of breast cancer. *Cancers* 2015; 7(3): 1125-1142.
- Currie E., Schulze A., Zechner R., et al.** Cellular fatty acid metabolism and cancer. *Cell Metab* 2013; 18(2): 153-161.
- Di Gangi IM., Mazza T., Fontana A., et al.** Metabolomic profile in pancreatic cancer patients: a consensus-based approach to identify highly discriminating metabolites. *Oncotarget* 2016; 7(5): 5815-5829.
- Ding Y., Mullapudi B., Torres C., et al.** Omega-3 fatty acids prevent early pancreatic carcinogenesis via repression of the AKT pathway. *Nutrients* 2018; 10(9): 1289.
- Eheman C., Henley SJ., Ballard-Barbash R., et al.** Annual Report to the Nation on the status of cancer, 1975-2008, featuring cancers associated with excess weight and lack of sufficient physical activity. *Cancer* 2012; 118(9): 2338-2366.
- Falvella FS., Pascale RM., Gariboldi M., et al.** Stearoyl-CoA desaturase 1 (Scd1) gene overexpression is associated with genetic predisposition to hepatocarcinogenesis in mice and rats. *Carcinogenesis* 2002; 23(11): 1933-1936.
- Farrell SW., DeFina LF., Tintle NL., et al.** Association of the Omega-3 Index with Incident Prostate Cancer with Updated Meta-Analysis: The Cooper Center Longitudinal Study. *Nutrients* 2021; 13(2): 384.
- Fay MP., Freedman LS., Clifford CK., Midthune DN.** Effect of different types and amounts of fat on the development of mammary tumors in rodents: a review. *Cancer Res* 1997; 57(18): 3979-3988.
- Fernandes A., Messias M., Duarte G., et al.** Plasma lipid profile reveals plasmalogens as potential biomarkers for colon cancer screening. *Metabolites* 2020; 10(6): 262.
- Galet C., Gollapudi K., Stepanian S., et al.** Effect of a low-fat fish oil diet on proinflammatory eicosanoids and cell-cycle progression score in men undergoing radical prostatectomy. *Cancer Prev Res (Phila)* 2014; 7(1): 97-104.
- Gerber M.** Omega-3 fatty acids and cancers: a systematic update review of epidemiological studies. *Br J Nutr* 2012; 107(S2): S228-S239.
- Gevariya N., Besancon M., Robitaille K., et al.** Omega-3 fatty acids decrease prostate cancer progression associated with an anti-tumor immune response in eugonadal and castrated mice. *Prostate* 2019; 79(1): 9-20.
- Ghamarzad Shishavan N., Mohamadkhani A., Ghajarieh Sepanlou S., et al.** Circulating plasma fatty acids and risk of pancreatic cancer: Results from the Golestan Cohort Study. *Clin Nutr* 2021; 40(4): 1897-1904.
- Gorjao R., dos Santos CMM., Serdan TDA., et al.** New insights on the regulation of cancer cachexia by N-3 polyunsaturated fatty acids. *Pharmacol Ther* 2019; 196: 117-134.
- He Ch., Qu X., Wan J., et al.** Inhibiting Delta-6 Desaturase Activity Suppresses Tumor Growth in Mice. *PLOS ONE* 2012; 7(10): e47567.

- Hilvo M., Denkert C., Lehtinen L., et al.** Novel theronostic opportunities offered by characterization of altered membrane lipid metabolism in breast cancer progression. *Cancer Res* 2011; 71(9): 3236-3245.
- Hoxha M., Zappacosta B.** A review on the role of fatty acids in colorectal cancer progression. *Front Pharmacol* 2022; 13: 1032806.
- Chang L., Fang S., Gu W.** The molecular mechanism of metabolic remodeling in lung cancer. *J Cancer* 2020; 11(6): 1403-1411.
- Chajes V., Hulten K., Van Kappel AL., et al.** Fatty-acid composition in serum phospholipids and risk of breast cancer: an incident case control study in Sweden. *Int J Cancer* 1999; 83(5): 585-590.
- Chajes V., Lanson M., Fetissov F., et al.** Membrane fatty acids of breast carcinoma: contribution of host fatty acids and tumor properties. *Int J Cancer* 1995; 63(2): 169-175.
- Chu M., Rehfeld JF., Borch K.** Chronic endogenous hypercholecystokinemia promotes pancreatic carcinogenesis in the hamster. *Carcinogenesis* 1997; 18(2): 315-320.
- Iemoto T., Nishiumi S., Kobayashi T., et al.** Serum level of octanoic acid predicts the efficacy of chemotherapy for colorectal cancer. *Oncol Lett* 2019; 17(1): 831-842.
- Im DS.** Functions of omega-3 fatty acids and FFA4 (GPR120) in macrophages. *Eur J Pharmacol* 2016; 785: 36-43.
- Jansen RJ., Robinson DP., Frank RD., et al.** Fatty acids found in dairy, protein and unsaturated fatty acids are associated with risk of pancreatic cancer in a case-control study. *Int J Cancer* 2014; 134(8): 1935-1946.
- Kamimura H., Sato T., Natsui K., et al.** Molecular mechanisms and treatment of sarcopenia in liver disease: A review of current knowledge. *Int J Mol Sci* 2021; 22(3): 1425.
- Karmokar PF., Moniri NH.** Oncogenic signaling of the free-fatty acid receptors FFA1 and FFA4 in human breast carcinoma cells. *Biochem Pharmacol* 2022; 206: 115328.
- Kim J., Lim S-Y., Shin A., et al.** Fatty fish and fish omega-3 fatty acid intakes decrease the breast cancer risk: a case-control study. *BMC Cancer* 2009; 9: 216.
- Kim HY., Moon JY., Cho SK.** Heptadecanoic Acid, an Odd-Chain Fatty Acid, Induces Apoptosis and Enhances Gemcitabine Chemosensitivity in Pancreatic Cancer Cells. *J Med Food* 2023; 26(3): 201-210.
- Koundouros N., Poulogiannis G.** Reprogramming of fatty acid metabolism in cancer. *Br J Cancer* 2020; 122(1): 4-22.
- Kuemmerle NB., Rysman E., Lombardo PS., et al.** Lipoprotein lipase links dietary fat to solid tumor cell proliferation. *Mol Cancer Ther* 2011; 10(3): 427-436.
- Kuhajda FP., Piantadosi S., Pasternack GR.** Haptoglobin-related protein (Hpr) epitopes in breast cancer as a predictor of recurrence of the disease. *New Engl J Med* 1989; 321(10): 636-641.
- Lappano R., Sebastiani A., Cirillo F., et al.** The lauric acid-activated signaling prompts apoptosis in cancer cells. *Cell Death Discov* 2017; 3: 1-9.
- Lemarié F., Beauchamp E., Legrand P., Rioux V.** Revisiting the metabolism and physiological functions of caprylic acid (C8:0) with special focus on ghrelin octanoylation. *Biochimie* 2016; 120: 40-48.
- Liang P., Henning SM., Schokrpur S., et al.** Effect of dietary omega-3 fatty acids on tumor-associated macrophages and prostate cancer progression. *Prostate* 2016; 76(14): 1293-302.
- Liang P., Henning SM., Guan J., et al.** Role of host GPR120 in mediating dietary omega-3 fatty acid inhibition of prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 2019; 111(1): 52-59.
- Liang P., Henning SM., Grogan T., et al.** Effects of dietary omega-3 fatty acids on orthotopic prostate cancer progression, tumor associated macrophages, angiogenesis and T-cell activation-dependence on GPR120. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2022; 25(3): 539-546.

- Liput KP., Lepczyński A., Ogluszka M., et al.** Effects of Dietary n-3 and n-6 Polyunsaturated Fatty Acids in Inflammation and Cancerogenesis. *Int J Mol Sci* 2021; 22(13): 6965.
- Lu X., Yu H., Ma Q., et al.** Linoleic acid suppresses colorectal cancer cell growth by inducing oxidant stress and mitochondrial dysfunction. *Lipids Health Dis* 2010; 9: 106.
- Maillard V., Bougnoux P., Ferrari P., et al.** N-3 and N-6 fatty acids in breast adipose tissue and relative risk of breast cancer in a case-control study in Tours, France. *Int J Cancer* 2002; 98(1): 78-83.
- Macášek J., Vecka M., Žák A., et al.** Plasma fatty acid composition in patients with pancreatic cancer: correlations to clinical parameters. *Nutr Cancer* 2012; 64(7): 946-955.
- McGlory C., Calder PC., Nunes EA.** The influence of omega-3 fatty acids on skeletal muscle protein turnover in health, disuse, and disease. *Front Nutr* 2019; 6: 144.
- Mehraj U., Qayoom H., Shafi S., et al.** Cryptolepine targets TOP2A and inhibits tumor cell proliferation in breast cancer cells-an in vitro and in silico study. *Anticancer Agents Med Chem* 2022; 22(17): 3025-3037.
- Mehraj U., Aisha S., Sofi S., Mir MA.** Expression pattern and prognostic significance of baculoviral inhibitor of apoptosis repeat-containing 5 (BIRC5) in breast cancer: a comprehensive analysis. *Adv Cancer Biol-Metastas* 2022; 4: 100037.
- Minas TZ., Lord BD., Zhang AL., et al.** Circulating trans fatty acids are associated with prostate cancer in Ghanaian and American men. *Nat Commun* 2023; 14(1): 4322.
- Moreel X., Allaire J., Leger C., et al.** Prostatic and dietary omega-3 fatty acids and prostate cancer progression during active surveillance. *Cancer Prev Res (Phila)* 2014; 7(7): 766-776.
- Murphy RA., Mourtzakis M., Chu QS., et al.** Nutritional intervention with fish oil provides a benefit over standard of care for weight and skeletal muscle mass in patients with nonsmall cell lung cancer receiving chemotherapy. *Cancer* 2011; 117(8): 1775-1782.
- Nagao K., Yanagita T.** Medium-chain fatty acids: Functional lipids for the prevention and treatment of the metabolic syndrome. *Pharmacol Res* 2010; 61(3): 208-212.
- Newell M., Mazurak V., Postovit LM., Field CJ.** N-3 long-chain polyunsaturated fatty acids, eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid, and the role of supplementation during cancer treatment: A scoping review of current clinical evidence. *Cancers (Basel)* 2021; 13(6): 1206.
- Newmark HL., Wargovich MJ., Bruce WR.** Colon cancer and dietary fat, phosphate, and calcium: a hypothesis. *J Natl Cancer Inst* 1984; 72(6): 1323-1325.
- Nomura D., Long J., Niessen S., et al.** Monoacylglycerol lipase regulates a fatty acid network that promotes cancer pathogenesis. *Cell* 2010; 140(1): 49-61.
- Pang L., Shah H., Xu Y., Qian S.** Delta-5-desaturase: A novel therapeutic target for cancer management. *Transl Oncol* 2021; 14(11): 101207.
- Pender-Cudlip MC., Krag KJ., Martini D., et al.** Delta-6-desaturase activity and arachidonic acid synthesis are increased in human breast cancer tissue. *Cancer Sci* 2013; 104(6): 760-764.
- Petruželka L.** *Kolorektální karcinom*. 1. vyd. Praha: Farmakon Press, s r.o. 2018, 202 str.
- Pizer ES., Thupari J., Han WF., et al.** Malonyl-coenzyme-A is a potential mediator of cytotoxicity induced by fatty-acid synthase inhibition in human breast cancer cells and xenografts. *Cancer Res* 2000; 60(2): 213-218.
- Protani M., Coory M., Martin J.** Effect of obesity on survival of women with breast cancer: systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat* 2010; 123(3): 627-635.
- Rahman MM., Veigas JM., Williams P.J., Fernandes G.** DHA is a more potent inhibitor of breast cancer metastasis to bone and related osteolysis than EPA. *Breast Cancer Res Treat* 2013; 141(3): 341-352.

- Rogers KR., Kikawa KD., Mouradian M., et al.** Docosahexaenoic acid alters epidermal growth factor receptor-related signaling by disrupting its lipid raft association. *Carcinogenesis* 2010; 31(9): 1523-1530.
- Roopashree PG., Shetty SS., Shetty VV., Nalilu SK.** Medium-Chain Fatty Acids and Breast Cancer Risk by Receptor and Pathological Subtypes. *Nutrients* 2022; 14(24): 5351.
- Shannon J., King IB., Moshofsky R., et al.** Erythrocyte fatty acids and breast cancer risk: a case-control study in Shanghai, China. *Am J Clin Nutr* 2007; 85(4):1090-1097.
- Sheela DL., Narayanankutty A., Nazeem PA., et al.** Lauric acid induce cell death in colon cancer cells mediated by the epidermal growth factor receptor downregulation: An in silico and in vitro study. *Hum Exp Toxicol* 2019; 38(7): 753-761.
- Shivappa N., Godos J., Hébert JR., et al.** Dietary Inflammatory Index and Colorectal Cancer Risk-A Meta-Analysis. *Nutrients* 2017; 9(9): 1043.
- Sieri S., Chiodini P., Agnoli C., et al.** Dietary fat intake and development of specific breast cancer subtypes. *J Natl Cancer Inst* 2014; 106(5): dju068.
- Su X., Abumrad NA.** Cellular fatty acid uptake: a pathway under construction. *Trends Endocrinol Metab* 2009; 20(2): 72-77.
- Tobberup R., Carus A., Rasmussen HH., et al.** Feasibility of a multimodal intervention on malnutrition in patients with lung cancer during primary anti-neoplastic treatment. *Clin Nutr* 2021; 40(2): 525-533.
- Tokudome S., Kuriki K., Yokoyama Y., et al.** Dietary n-3/long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids for prevention of sporadic colorectal tumors: a randomized controlled trial in polypectomized participants. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2015; 94: 1-11.
- Tvrzická E., Vecka M., Staňková B., Žák A.** Analysis of fatty acids in plasma lipoproteins by gas chromatography–flame ionization detection: Quantitative aspects. *Anal Chim Acta* 2002; 465(1-2): 337-350.
- Umezawa S., Higurashi T., Komiya Y., et al.** Chemoprevention of colorectal cancer: Past, present, and future. *Cancer Sci* 2019; 110(10): 3018-3026.
- Vatten LJ., Bjerve KS., Andersen A., Jellum E.** Polyunsaturated fatty acids in serum phospholipids and risk of breast cancer: a case-control study from the Janus serum bank in Norway. *Eur J Cancer* 1993; 29A(4): 532-538.
- Wang C., Wang J., Chen K., et al.** Caprylic acid (C8:0) promotes bone metastasis of prostate cancer by dysregulated adi-po-osteogenic balance in bone marrow. *Cancer Sci* 2020; 111(10): 3600-3612.
- Wolin KY., Colditz GA.** Can weight loss prevent cancer? *Brit J Cancer* 2008; 99(7): 995-999.
- Wu X., Daniels G., Lee P., Monaco ME.** Lipid metabolism in prostate cancer. *Am J Clin Exp Urol* 2014; 2(2): 111-120.
- Yang K., Li H., Dong J., et al.** Expression profile of polyunsaturated fatty acids in colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2015; 21(8): 2405-2412.
- Young RSE., Bowman AP., Williams ED., et al.** Apocryphal FADS2 activity promotes fatty acid diversification in cancer. *Cell Rep* 2021; 34(6): 108738.
- Yu M., Liu H., Duan Y., et al.** Four types of fatty acids exert differential impact on pancreatic cancer growth. *Cancer Lett* 2015; 360(2): 187-194.
- Zaidi N., Swinnen JV., Smans K.** ATP-Citrate Lyase: A Key Player in Cancer Metabolism ATP-Citrate Lyase in Cancer Metabolism. *Cancer Res* 2012; 72(15): 3709-3714.
- Zhang J., Zhang L., Ye X., et al.** Characteristics of fatty acid distribution is associated with colorectal cancer prognosis. *Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids* 2013; 88: 355-360.
- Zhang Y., Zhao X., Deng L., et al.** High expression of FABP4 and FABP6 in patients with colorectal cancer. *World J Surg Oncol* 2019; 17(1): 171.
- Zhang X., Zhang P., Liu Y., et al.** Caprylic Acid Improves Lipid Metabolism, Suppresses the Inflammatory Response and Activates the ABCA1/p-JAK2/pSTAT3 Signaling Pathway in C57BL/6J Mice and RAW264.7 Cells. *Biomed Environ Sci* 2022; 35(2): 95-106.



## LIPIDY A DOMÁCÍ PARENTERÁLNÍ VÝŽIVA

### LIPIDS AND HOME PARENTERAL NUTRITION

**E. Meisnerová**

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

#### **Abstrakt**

Pacienti se selháním střevní funkce vyžadují komplexní metabolickou péče, jejíž součástí je dlouhodobá domácí parenterální výživa. Lipidové emulze, které jsou nedílnou součástí parenterální výživy mají funkci energetickou. Jsou zdrojem esenciálních mastných kyselin, ale také ovlivňují zánětlivou reakci organismu.

**Klíčová slova:** střevní selhání, domácí parenterální výživa, lipidové emulze

#### **Abstract**

Patients with failure of intestinal function require complex metabolic care which also includes home parenteral nutrition. Lipid emulsions have an energy function, are a source of essential fatty acids, but also affect inflammatory reaction.

**Key words:** intestinal failure, home parenteral nutrition, lipid emulsions

Střevní selhání (IF) je definováno jako redukce absorpční funkce gastrointestinálního traktu pod nezbytné minimum potřebné k resorpci makronutrientu a/ nebo vody a elektrolytu vyžadující parenterální suplementaci k zachování zdraví a/ nebo růstu (Pironi, 2015). Pacienti s IF představují značně heterogenní skupinu. IF rozdělujeme podle kritérií – etiologie, rychlosti rozvoje, doby trvání a objemu výživy a hydratace do několika skupin. Léčba IF zahrnuje dietní poradenství, u syndromu krátkého střeva inhibitory protonové pumpy a léky zpomalující pasáž gastrointestinálním traktem. Nedílnou součástí léčby u IF je parenterální substituce vody a elektrolytu včetně parenterální výživy. Při chronickém IF je součástí léčby parenterální výživa. Domácí parenterální výživa (DPV) je léčebnou modalitou při IF, v české republice je program DPV od 90. let 20. století. Metabolické centrum IV, interní kliniky VFN má program DPV od 11/2003, aktuální počet pacientů v programu DPV je 85. IF se řadí mezi vzácná onemocnění v české republice je roční prevalence 5,92 a incidence 1,5/100000 (Koudelková 2023). Komplikace parenterální výživy rozdělujeme na komplikace asociované s cévním vstupem – mechanické, okluze či trombózy katetru či infekční komplikace lokální nebo katéetrové sepse. Mezi metabolické komplikace chronická jaterní leze, metabolická kostní nemoc a renální selhání.

Intravenózní lipidové emulze (LE) v parenterální výživě jsou zdrojem energie a esenciálních mastných kyselin, ovlivňují imunitní a jaterní funkce, zlepšují glykemické profily. První lipidová emulze je 100% sójový olej (LCT tuk) s vysokým obsahem polynenasycených mastných kyselin (PUFA). Nevýhodou čistých LCT tuku je vysoký poměr n-6 /n-3 PUFA (7:1), který aktivuje zánět a zvyšuje hepatopatii a zvyšuje hladinu triacylglycerolu. V 90. letech 20. století byly LE změněna přidáním kokosového nebo olivového oleje. Poté se objevuje 4. generace lipidových emulzí, která obsahuje rybí tuk.

V letech 2012 - 2016 probíhala na IV. interní klinice 1. LF UK a VFN klinická studie u 12 pacientů na DPV, vylučovací kritéria byla malignita a imunodeficience: Před zařazením do studie byl pacient minimálně 2 měsíce bez infekční komplikace ve stabilním klinickém stavu a nedošlo ke změně složení infuzního režimu. Každému byly podány 3 cykly různých komerčních lipidových emulzí v individuálně připravené parenterální výživě po 6 týdnech

každé lipidové emulze byly po 4 týdny přidání rybí oleje, hladina lipidu zůstala zachována. Primárním cílem naší studie bylo vyhodnotit dopad 3 různých LE s doplněnými dávkami rybího oleje na koncentraci cytokinu v seru a produkci cytokinu in vitro u pacientu na DPV. Pacienti na DPV ve srovnání se zdravými kontrolami vykazovali vyšší koncentraci IL-6, IL-8, TNF v seru a polysacharidem (LPS) stimulovanou produkci IL-6 stejně jako nižší N-6/N-3 PUFA v fosfolipidech erytrocytu. LPS stimulovaná produkce IL-6 negativně korelovala s parenterální v dávkou kyseliny eikosapentaneové a dokosaheptaenové kyseliny. Závěrem lze říct, že parenterální výživa doplněná rybím olejem e potlačovala produkci cytokinu in vitro (Nova 2019).

### **Závěr**

Lipidové emulze obohacené rybím olejem ovlivňují zánětlivou reakci organismus produkcí cytokinu. Intravenózní lipidové emulze jsou základními složkami dlouhodobé parenterální výživy, složení je vhodné upravovat dle aktuálních potřeb a klinické situace a potřeb daného pacienta.

*Podpořeno MZ ČR-RVO-VFN64165 a Cooperatio 1. LF UK*

### **Literatura**

**Espen practical guideline:** Clinical nutrition in chronic intestinal failure, Clinical Nutrition 2021.

**Koudelková K., Waldauf P., Wohl P., et al.** Třicet let národního registru pacientů na domácí parenterální výživě. Diabetes metabolismus, endokrinologie 2023; 20(1): 25-35.

**Novák F., Vecka M., Meisnerová E., et al.** Fish oil supplementation with various lipid emulsions suppresses in vitro cytokine release in home parenteral nutrition patients: a crossover study. Nutr Res 2019; 72: 70-79.

**Pironi L., Agostini F., Guidetti M.** Intravenous lipids in home parenteral nutrition. World Rev Nutr Diet 2015; 112: 141-149.

## SOLUBILNÍ ENDOGLIN A JEHO ROLE V CARDIOMETABOLICKÝCH ONEMOCNĚNÍCH

### SOLUBLE ENDOGLIN AND ITS ROLE IN CARDIOMETABOLIC DISEASES

**P. Nachtigal**

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

#### **Abstract**

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

#### **1. Introduction**

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

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

Soluble endoglin (sEng) is a product of the cleavage of Eng by matrix metalloproteinases (MMPs). Two MMPs, namely MMP-12 and MMP-14, have been identified to cleave membrane Eng from tissues [12, 13]. Interestingly Krüppel-like factor 6 (Klf6), a transcription factor that belongs to the Krüppel-like factor (KLF) family, was demonstrated to upregulate MMP-14 expression suggesting its participation in the regulation of sEng levels [13]. sEng is an anti-angiogenic factor contributing to the pathogenesis of preeclampsia, which is associated with proteinuria, hypertension, hemolysis, premature labor, thrombocytopenia, liver abnormalities, seizures, and death [14, 15]. Moreover, sEng has been reported as a biomarker of different liver-related diseases such as cystic fibrosis liver diseases [16], biliary atresia [17], non-alcoholic steatohepatitis (NASH) [18] and intrahepatic

cholestasis [19]. Indeed sEng is a biomarker of liver disorders and was also suggested to aggravate NASH [18] and endothelial dysfunction [20].

## 2. Role of membrane endoglin in inflammation with respect to endothelial dysfunction

Several studies showed the crucial role of Eng in inflammation and endothelial dysfunction. We explored the acute effect of 7-ketocholesterol (7K) (simulating oxidized LDL (ox-LDL) effects in atherogenesis) in HAECs [21]. It was demonstrated that 7K induces Eng expression in HAECs via simultaneous activation of transcription factors regulating Eng expression, including Krüppel like factor 6 (KLF6) [22, 23] nuclear factor kappa B p65 – hypoxia-inducible factor 1 (RELA-HIF-1) [24, 25] and liver X receptor (LXR) nuclear receptor subfamily 1 group H member 3 (NR1H3) [26, 27]. Increased expression of Eng was associated with increased expression of eNOS and phosphorylated form of eNOS (p-eNOS) protein levels, which may suggest activation of potential protective mechanisms of Eng after oxidized cholesterol treatment in HAECs. On the other hand, significantly increased protein levels of Eng after 7K treatment was associated with significantly increased levels of cell adhesion proinflammatory molecules (E/P-selectins, VCAM-1, and ICAM-1). Consequent increased adhesion and transmigration of monocytes through 7K pre-treated endothelial monolayer confirmed the development of endothelial dysfunction. After the silencing of Eng, induction of adhesion and transmigration was prevented [10], suggesting a crucial role of Eng in endothelial dysfunction in acute (12 hours) hypercholesterolemic conditions *in vitro*.

In addition, we studied the possible effects of direct Eng blockage by the anti-Eng antibody TRC105 that blocks Eng and its signaling [28]. We have investigated TRC105 effects on the Eng expression, signaling, and function in endothelial dysfunction induced by hypercholesterolemia (simulated by 7-ketocholesterol [7K], the most common oxysterol in plasma) and hyperglycemia (simulated by high glucose [HG]). 7K and HG treatment increased protein levels of Eng, as well as adhesion and transmigration of monocytes through HAECs monolayer. TRC105 pre-treatment decreased Eng protein levels and Smad signaling. Despite increased protein levels of cell adhesion molecules (P-selectin and VCAM-1), TRC105 pre-treatment was able to prevent adhesion and transmigration of monocytes through endothelial monolayer. These results suggest that TRC105-mediated Eng blockage can prevent the 7K and HG-induced endothelial dysfunction in HAECs, suggesting that Eng might be a potential therapeutic target in disorders associated with elevated cholesterol and glucose.

## 3. Membrane endoglin and liver alteration

Profibrotic changes in the liver are a part of the pathophysiology of diseases such as nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and nonalcoholic steatohepatitis (NASH). NAFLD is often recognized as a hepatic manifestation of metabolic syndrome related to obesity and fat accumulation in the liver. Some NAFLD patients may develop a more severe form termed NASH, which may progress to cirrhosis and permanent liver damage [29].

Eng is known to play an important role in fibrosis development in the liver [30, 31]. Meurer et al. reported high protein expression of Eng in isolated liver hepatic stellate cells, myofibroblast-like cells, liver macrophages (Kupffer cells), and liver sinusoidal endothelial cells, however, no expression of Eng in hepatocytes neither in HepG2 cell line was found. Up-regulation of Eng expression was observed during hepatic stellate cells activation and transdifferentiation to myofibroblast-like cells in cell culture and both mice and rat experimental models of liver injury (CCl<sub>4</sub> application or bile duct ligation) [32] [33]. Although the study mentioned above suggests the profibrotic effect of Eng, it is still unclear whether Eng stimulates or inhibits fibrosis since the conducted studies support both hypotheses. Alsamman et al. suggested Eng as protective against fibrotic injury when they

found that a deficiency of Eng significantly aggravates liver fibrosis in response to liver injury [9].

#### **4. Soluble endoglin as a biomarker of cardiometabolic disorders**

sEng levels are increased in patients with hypercholesterolemia [34] and Familial hypercholesterolemia [35]. In addition, sEng levels were also increased in the experimental mouse model of atherosclerosis with hypercholesterolemia before the formation of visible atherosclerosis in the aorta and during the formation of advanced lesions [10, 36, 37]. Moreover, a correlation of sEng levels with cholesterol levels in hypercholesterolemic mice was demonstrated [38].

Hypercholesterolemia is a crucial risk factor for the development of atherosclerosis, and oxidative modification of cholesterol (ox-LDL) plays an important role in the pathogenesis. It was demonstrated that sEng levels are higher in mice with more prominent atherosclerotic lesions [36, 37]. However, no correlation between atherosclerotic plaque size and sEng levels was confirmed [38]. Interestingly, sEng showed a positive linear correlation with carotid intima-media thickness in 978 patients suggesting that sEng might be an interesting biomarker of subclinical carotid atherosclerosis [39].

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

#### **5. Soluble endoglin and type II diabetes mellitus**

Hyperglycemia is considered a risk factor for the development of cardiometabolic disorders, especially type II diabetes mellitus (DM). Plasma concentration of sEng was increased in patients with advanced DM, and the concentration of sEng positively correlates with the severity of diabetic vascular alterations such as retinopathy [1], diabetic peripheral neuropathy [40] and nephropathy [41, 42]. The increase of sEng is related to reducing NO concentration in adolescents with type I diabetes mellitus compared to the control group of healthy adolescents [43], and middle-age men with diabetes mellitus type II compared to middle-aged men without diabetes mellitus [44].

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

#### **6. Soluble endoglin and liver diseases (NAFLD, NASH, Fibrotic changes)**

Increased circulating levels of sEng were described in the serum of patients with hepatic fibrosis featuring chronic hepatitis C virus infection (HCV) [45], patients with biliary atresia [46], cystic fibrosis-associated liver disease (CFLD)[47] and patients with liver cirrhosis and carcinoma [48]. Moreover, ongoing studies at our laboratory show that circulating sEng levels are also increased in rodent diet-induced NASH model and experimental model of estrogen-induced intrahepatic cholestasis (unpublished data).

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

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

#### **7. Soluble endoglin as an inducer of cardiometabolic disorders or their complications**

Venkatesha et al. showed that placenta-derived sEng from pregnant preeclamptic women is able to inhibit capillary tube formation *in vitro* and increase vascular permeability and induce

arterial hypertension *in vivo*. sEng was able to inhibit TGF $\beta$ 1 binding and signaling in endothelial cells, which resulted in decreased activation of eNOS and impaired vasodilatation in isolated rat renal microvessels and mesenteric vessels. Authors concluded that sEng plays an essential role in the pathogenesis of arterial hypertension, proteinuria, and glomerular endotheliosis [49]. Besides, in an experimental model of preeclampsia, transgenic mice overexpressing human sEng (sEng levels higher than 2000 ng/ml) had higher systolic blood pressure when compared to wild-type littermates [27]. Furthermore, we showed that sEng treatment-induced inflammation (represented by increased NF- $\kappa$ B and IL6) in HUVECs, suggesting sEng has a proinflammatory potential as well [50].

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

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

It was demonstrated that high levels of sEng did not affect aortic endothelial function either at the protein or at the functional level, suggesting possibly no contribution to endothelial dysfunction when sEng is operating as a single factor [51]. In general, it is accepted that endothelial dysfunction and atherosclerosis “requires” hypercholesterolemia. Thus, we combined high sEng levels with high-fat diet (HFD) administration for six months. We showed significant aggravation of endothelial dysfunction characterized by reduced Eng, p-eNOS/eNOS, pSMAD2/3/SMAD2/3 signaling pathway only in mice with high sEng levels. Thus, we might suggest that sEng, especially combined with other risk factors of metabolic syndrome, might be considered a risk factor for the development of endothelial dysfunction/inflammation and possibly atherosclerosis.

## 8. Conclusion

In conclusion, we propose Eng plays a crucial role in the development of endothelial dysfunction and inflammation. On the other hand, sEng is a circulating biomarker of metabolic syndrome-related symptoms and pathologies, including hypercholesterolemia, hyperglycemia, diabetes mellitus, arterial hypertension, and liver damage. In addition, sEng is able to participate in the aggravation of endothelial dysfunction and promote the development of arterial hypertension, and liver alteration suggesting that high levels of sEng promote metabolic syndrome symptoms and its complications. Therefore, we suggest that the treatment of metabolic syndrome should take into account the importance of Eng in the endothelial function and levels of sEng as a biomarker and risk factor of related pathologies.

## Acknowledgments

*This research was supported by grants from Czech Science Foundation [GACR No. 22-14961S], Grant Agency of Charles University [GAUK No. 362221], Specific University Research [SVV 260 633], and Efficiency and safety improvement of current drugs and nutraceuticals: advanced methods new challenge grant [EFSA-CDN; No. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_019/0000841].*

## References

1. Blazquez-Medela AM., Garcia-Ortiz L., Gomez-Marcos MA., et al. Increased plasma soluble endoglin levels as an indicator of cardiovascular alterations in hypertensive and diabetic patients. BMC Med 2010; 8: 86.

2. **Bot PT., Hoefler IE., Sluijter JP., et al.** Increased expression of the transforming growth factor-beta signaling pathway, endoglin, and early growth response-1 in stable plaques. *Stroke* 2009; 40(2): 439-447.
3. **St-Jacques S., Forte M., Lye SJ., Letarte M.** Localization of endoglin, a transforming growth factor-beta binding protein, and of CD44 and integrins in placenta during the first trimester of pregnancy. *Biol Reprod* 1994; 51(3): 405-413.
4. **Meurer S., Wimmer AE., Leur EV., Weiskirchen R.** Endoglin Trafficking/Exosomal Targeting in Liver Cells Depends on N-Glycosylation. *Cells* 2019; 8(9): 997.
5. **Lastres P., Bellon T., Cabanas C., et al.** Regulated expression on human macrophages of endoglin, an Arg-Gly-Asp-containing surface antigen. *Eur J Immunol* 1992; 22(2): 393-397.
6. **McAllister KA., Grogg KM., Johnson DW., et al.** Endoglin, a TGF-beta binding protein of endothelial cells, is the gene for hereditary haemorrhagic telangiectasia type 1. *Nat Genet* 1994; 8(4): 345-351.
7. **Kapur NK., Morine KJ., Letarte M.** Endoglin: a critical mediator of cardiovascular health. *Vasc Health Risk Manag* 2013; 9: 195-206.
8. **Qu R., Silver MM., Letarte M.** Distribution of endoglin in early human development reveals high levels on endocardial cushion tissue mesenchyme during valve formation. *Cell Tissue Res* 1998; 292(2): 333-343.
9. **Alsamman M., Sterzer V., Meurer SK., et al.** Endoglin in human liver disease and murine models of liver fibrosis-A protective factor against liver fibrosis. *Liver Int* 2018; 38(5): 858-867.
10. **Vicen M., Vitverova B., Havelek R., et al.** Regulation and role of endoglin in cholesterol-induced endothelial and vascular dysfunction in vivo and in vitro. *FASEB J* 2019; 33(5): 6099-6114.
11. **Rossi E., Sanz-Rodriguez F., Eleno N., et al.** Endothelial endoglin is involved in inflammation: role in leukocyte adhesion and transmigration. *Blood* 2013; 121(2): 403-415.
12. **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.
13. **Zhang XH., Zhang HY., Lu S., et al.** MMP-14 aggravates onset of severe preeclampsia by mediating soluble endoglin release. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2018; 22(5): 1209-1215.
14. **Venkatesha S., Toporsian M., Lam C., et al.** Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med* 2006; 12(6): 642-649.
15. **Luft FC.** Soluble endoglin (sEng) joins the soluble fms-like tyrosine kinase (sFlt) receptor as a pre-eclampsia molecule. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21(11): 3052-3054.
16. **Rath T., Hage L., Kügler M., et al.** Serum proteome profiling identifies novel and powerful markers of cystic fibrosis liver disease. *PloS One* 2013; 8(3): e58955.
17. **Motawi TK., Rizk SM., Ibrahim IAR., El-Emady YF.** Alterations in circulating angiogenic and anti-angiogenic factors in type 2 diabetic patients with neuropathy. *Cell Biochem Funct* 2014; 32(2): 155-163.
18. **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.
19. **Igreja Sá IC., Tripska K., Alaei Faradonbeh F., et al.** Labetalol and soluble endoglin aggravate bile acid retention in mice with ethinylestradiol-induced cholestasis. *Front Pharmacol* 2023; 14: 1116422.



20. **Vitverova B., Blazickova K., Najmanova I., et al.** Soluble endoglin and hypercholesterolemia aggravate endothelial and vessel wall dysfunction in mouse aorta. *Atherosclerosis* 2018; 271: 15-25.
21. **Vicen M., Vitverova B., Havelek R., et al.** Regulation and role of endoglin in cholesterol-induced endothelial and vascular dysfunction in vivo and in vitro. *FASEB J* 2019; 33(5): 6099-6114.
22. **Botella LM., Sanchez-Elsner T., Sanz-Rodriguez F., et al.** Transcriptional activation of endoglin and transforming growth factor-beta signaling components by cooperative interaction between Sp1 and KLF6: their potential role in the response to vascular injury. *Blood* 2002; 100(12): 4001-4010.
23. **Gallardo-Vara E., Blanco FJ., Roque M., et al.** Transcription factor KLF6 upregulates expression of metalloprotease MMP14 and subsequent release of soluble endoglin during vascular injury. *Angiogenesis* 2016; 19(2): 155-171.
24. **Sanchez-Elsner T., Botella LM., Velasco B., et al.** Endoglin expression is regulated by transcriptional cooperation between the hypoxia and transforming growth factor-beta pathways. *J Biol Chem* 2002; 277(46): 43799-43808.
25. **van Uden P., Kenneth NS., Rocha S.** Regulation of hypoxia-inducible factor-1alpha by NF-kappaB. *Biochem J* 2008; 412(3): 477-484.
26. **Henry-Berger J., Mouzat K., Baron S., et al.** Endoglin (CD105) expression is regulated by the liver X receptor alpha (NR1H3) in human trophoblast cell line JAR. *Biol Reprod* 2008; 78(6): 968-975.
27. **Valbuena-Diez AC., Blanco FJ., Oujo B., et al.** Oxysterol-induced soluble endoglin release and its involvement in hypertension. *Circulation* 2012; 126(22): 2612-2624.
28. **Tripska K., Igreja Sá IC., Vasinova M., et al.** Monoclonal anti-endoglin antibody TRC105 (carotuximab) prevents hypercholesterolemia and hyperglycemia-induced endothelial dysfunction in human aortic endothelial cells. *Front Med (Lausanne)* 2022; 9: 845918.
29. **Rinella ME.** Nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review. *JAMA* 2015; 313(22): 2263-2273.
30. **Finnson KW., Philip A.** Endoglin in liver fibrosis. *J Cell Commun Signal* 2012; 6(1): 1-4.
31. **Garcia-Pozo L., Miquilena-Colina ME., Lozano-Rodriguez T., Garcia-Monzon C.** [Endoglin: structure, biological functions, and role in fibrogenesis]. *Rev Esp Enferm Dig* 2008; 100(6): 355-360.
32. **Meurer SK., Tihaa L., Borkham-Kamphorst E., Weiskirchen R.** Expression and functional analysis of endoglin in isolated liver cells and its involvement in fibrogenic Smad signalling. *Cell Signal* 2011; 23(4): 683-699.
33. **Meurer SK., Alsamman M., Scholten D., Weiskirchen R.** Endoglin in liver fibrogenesis: Bridging basic science and clinical practice. *World J Biol Chem* 2014; 5(2): 180-203.
34. **Blann AD., Wang JM., Wilson PB., Kumar S.** Serum levels of the TGF-beta receptor are increased in atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1996; 120(1-2): 221-226.
35. **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.
36. **Strasky Z., Vecerova L., Rathouska J., et al.** Cholesterol effects on endoglin and its downstream pathways in ApoE/LDLR double knockout mice. *Circ J* 2011; 75(7): 1747-1755.
37. **Rathouska J., Vecerova L., Strasky Z., et al.** Endoglin as a possible marker of atorvastatin treatment benefit in atherosclerosis. *Pharmacol Res* 2011; 64(1): 53-59.
38. **Rathouska J., Jezkova K., Nemeckova I., Nachtigal P.** Soluble endoglin, hypercholesterolemia and endothelial dysfunction. *Atherosclerosis* 2015; 243(2): 383-388.



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

**NOVÉ DIAGNOSTICKÉ MARKERY PRI RAKOVINE PRSNÍKA****NOVEL DIAGNOSTIC MARKERS OF BREAST CANCER****D. Szaboová<sup>1</sup>, R. Beňačka<sup>1</sup>, Z. Hertelyová<sup>2</sup>, Z. Guľašová<sup>2</sup>, J. Radoňák<sup>3</sup>**<sup>1</sup> *Department of pathophysiology, Faculty of medicine, UPJŠ, Košice*<sup>2</sup> *Center of Clinical and Preclinical Research MEDIPARK, Faculty of Medicine, UPJŠ, Košice*<sup>3</sup> *1st Department of Surgery, Faculty of Medicine, UPJŠ, Košice***Abstract**

Breast cancer is a serious heterogeneous disorder of tumor transformation of ductal and lobular breast cells into malignant tumor cells, which subsequently spread to surrounding tissues (but also to the most distant parts of the body), thanks to which the tumor grows at the expense of healthy cells. Currently, worldwide, breast cancer is the most common type of cancer in the female population. Differences in tumor behavior can be observed in the clinical course of the disease, response to treatment or disease recurrence. Early detection and subsequent continuous monitoring are important aspects of breast cancer treatment that improve outcomes and provide patients with a positive prognosis. Currently, the goal is to find a greater variety of molecules or their combinations at the level of DNA, RNA, proteins or even metabolites that can serve as reliable biomarkers.

MicroRNAs (miRNAs) are a class of small non-coding multifunctional RNA molecules (18 – 24 nt), their role in the cell lies in regulation of several cellular processes by repressing translation of targeted mRNAs. miRNAs either cleave, mark for degradation or pair to the targeted mRNA molecules through perfect base complementarity at the 3' untranslated regions. miRNAs have been extensively studied in context of various cancers based on their involvement in tissue development, cell proliferation, differentiation and apoptosis. Aberrantly expressed microRNAs can act as either oncogenes (up-regulated microRNAs suppress expression of targeted tumour suppressor genes) or tumour suppressor genes (down-regulated microRNAs are unable to inhibit the expression of oncogenes) and their dysregulation in cells leads to malignancy.

**Úvod**

Rakovina prsníka je v súčasnosti najviac diagnostikovaným typom rakoviny u žien. V roku 2020 dosiahla incidencia rakoviny prsníka 2,26 milióna a mortalita 684 996 prípadov celosvetovo. Incidencia a mortalita neustále stúpajú, odhaduje sa, že v roku 2040 by mohla incidencia dosiahnuť až 3,19 milióna a mortalita 1,04 milióna prípadov (Siegel a kol., 2022). Medzi rizikové faktory vzniku rakoviny prsníka sa radí pohlavie, starnutie, rodinná anamnéza, skorá menštruácia, neskorá menopauza, neskoré prvé tehotenstvo, estrogén a životný štýl (Sun a kol., 2017).

Ide o ochorenie fenotypovo aj genotypovo heterogénne, k vzniku dochádza malignou transformáciou buniek ductov a lobulov ako následkom mutácií o vybraných častiach genómu, zodpovedajúce za reguláciu bunkového cyklu, delenia buniek, opravy DNA a programovanej bunkovej smrti – apoptózy. Medzi hlavné gény súvisiace s rozvojom rakoviny prsníka patria BRCA1, BRCA2, PIK3CA, P53, RB1, MYC, GATA3, CCND1, PTEN, FGFR1, ERBB2 a MAP3K1 (Sun a kol., 2017). Nahromadením špecifických mutácií získavajú bunky nádorový charakter (Hinck a kol., 2011).

V dôsledku akumulácie ďalších mutácií sa takáto heterogenita môže vzťahovať nielen na interindividuálne variácie, ale aj na intraindividuálne rozdiely v nádore v rámci rôznych štádií ochorenia. Takéto modifikácie v správaní nádoru možno pozorovať v klinickom priebehu, reakcii na liečbu alebo recidíve ochorenia. Včasná detekcia a následné neustále monitorovanie sú významné aspekty liečby rakoviny prsníka, ktoré zlepšujú jej výsledky a poskytujú pacientom pozitívnu prognózu (Pace a kol., 2014). V súčasnosti je cieľom nájsť väčšiu rozmanitosť molekúl alebo ich kombinácií na úrovni DNA, RNA, proteínov alebo dokonca metabolitov, ktoré môžu slúžiť ako spoľahlivé biomarkery v postdiagnostických, liečebných a udržiavacích štádiách rakoviny (Litton a kol., 2019).

### **MikroRNA a rakovina prsníka**

MikroRNA (miRNA) patria do skupiny krátkych nekódujúcich molekúl RNA (18 – 24 nt), ktorých úloha v bunke spočíva v regulácii viacerých bunkových procesov potlačením translácie cieleň mRNA, miRNA sa spárujú s cieľovými molekulami mRNA prostredníctvom komplementarity báz v 3' neprekľadaných oblastiach (Ambros, 2001; Zhang et al., 2007).

MikroRNA boli rozsiahle študované v súvislosti s karcinogézou na základe ich zapojenia do vývoja tkaniva (Zhao et al., 2007), bunkovej proliferácie, diferenciácie (Chen et al., 2006) a apoptózy (Lynam-Lennon et al., 2009). Spojenie medzi dysregulovanými mikroRNA a rakovinou prsníka prvýkrát pozoroval tím Iorio a kol. v roku 2005. Počas štúdia 76 vzoriek rakoviny prsníka a 10 normálnych vzoriek prsníka potvrdili významnú dereguláciu 29 mikroRNA. Vďaka súboru 15 mikroRNA bol schopní správne rozlíšiť nádor od normálneho tkaniva ženského prsníka so 100% presnosťou (Iorio et al., 2005).

Aberantne exprimované mikroRNA môžu pôsobiť buď ako onkogény (up-regulované mikroRNA potláčajú expresiu cieleň tumor-supresorových génov) alebo tumor-supresorové gény (down-regulované mikroRNA nie sú schopné inhibovať expresiu onkogénov) a ich dysregulácia v bunkách vedie k malignancii. Rôzne gény sú ovplyvnené rôznymi podskupinami mikroRNA, každý epigenetický účinok má vplyv na vývoj nádoru a vlastnosti a správanie nádoru - podpora proliferácie, angiogenézy, migrácie, metastázovania a inhibícia apoptózy (Zhang et al., 2007; Iorio et al., 2008).

### **Vybrané onkogénne microRNA**

**miR-10b** je exprimovaný vo vyššej miere v metastatických bunkách rakoviny prsníka. miR-10b podporuje migráciu, metastázovanie a inváziu prostredníctvom priameho zacielenia a potlačania syntézy proteínu HOXD10 a *Syndecan-1*. HOXD10 je negatívny regulátor, jeho supresia vedie k expresii prometastatických génov *RhoC*, alfa3-integrínu, *MT1-MMP* a urokinázového plazminogénového aktivačného receptora (uPAR), expresia miR-10b je indukovaná transkripčným faktorom Twist, preto sú vyššie hladiny Twistu spojené aj s metastatickým potenciálom (Lund, 2010; Ma, 2010)

**miR-9** je výrazne up-regulovaný vo vzdialených metastatických ložiskách v porovnaní s primárnym nádorom. miR-9 zvyšuje schopnosť nádoru metastázovať a dáva nádorovým bunkám vlastnosti podobné kmeňovým bunkám, čím podporuje ich rast, pohyblivosť a invazívnosť. miR-9 pôsobí prostredníctvom priameho zacielenia na *CDHI* (E-kadherín), *FOXO1*, *STARD13* a *LIFR*. Potlačenie *CDHI*, *FOXO1*, *STARD13* má za následok epitelový-mezenchymálny prechod (EMT), zvýšenú motilitu a invazívnosť. Inhibovaná expresia *CDHI* tiež vedie k angiogenéze prostredníctvom aktivácie signálnej dráhy beta-katenínu a zvýšenej expresie vaskulárneho endotelového rastového faktora (VEGF). Expresia miR-9 je indukovaná aktivitou *MYC*, *MYCN* a *PDGFR* (Ma et al., 2010; Selcuklu et al., 2012; Li et al., 2020).

**miR-21** je významne upregulovaný v pokročilom štádiu metastatických nádorov rakoviny prsníka. Vysoká expresia miR-21 podporuje EMT, proliferáciu, inváziu, metastázy a rádiorezistenciu prostredníctvom potlačenia expresie *PTEN* a *TPM1*. *PTEN* podporuje proliferáciu, inváziu a rádiorezistenciu prostredníctvom aktivácie *AKT*. Potlačenie *PDCD4* vedie k aktivácii *ELF4e*, aktivácii c-jun, zvýšeniu expresie *CDK1* a zníženiu expresie p21, čo vedie k zníženej apoptóze a podporovanej proliferácii buniek, supresia *MARK* vedie k zvýšenej pohyblivosti buniek a supresii *TIMP3* a *Maspin* zvyšuje inváziu a metastázy. Expresia miR-21 je indukovaná aktivitou *STAT3*, *NFkB* a *ERK1/2* (Chen et al., 2014; Petrovič 2016; O'Bryan et al., 2017).

### **Vybrané tumor-supresorové microRNA**

**Let-7** je down-regulovaný v nádorových bunkách rakoviny prsníka. V normálnych bunkách pôsobí let-7 ako tumor-supresor, ktorý zaisťuje inhibíciu proliferácie a tvorby metastáz prostredníctvom svojich cieľových génov. Let-7 potláča expresiu *CDK6*, *IGF2BP1* a cyklínu D1, aby inhiboval proliferáciu. Potlačenie *HMGAI* vedie k zníženým hladinám cyklínu B1 (inhibícia proliferácie) a inhibícii signalizácie TGF-beta (metastázy a inhibícia EMT). Potlačenie *CCR7* vedie k metastázam a inhibícii invázie. V rakovinových bunkách spôsobuje down-regulácia let-7 abnormálnu bunkovú proliferáciu, rast a získavanie invazívneho charakteru (Yu et al., 2007; Thammaiah et al., 2016).

**miR-34** má tumor-supresorický charakter, v normálnych bunkách miR-34 inhibuje proliferáciu, indukuje apoptózu, zastavenie bunkového cyklu a starnutie. miR-34 pôsobí priamym zacielením na mnoho génov zapojených do regulácie bunkového cyklu. Potlačenie *LMTK3*, *MDM4*, *CDK4/6*, cyklínu D1, *CDC23*, *PRKCA*, *Src*, *LDHA* vedie k inhibícii proliferácie. Má negatívny vplyv na životaschopnosť rakovinových buniek a môže zastaviť tvorbu metastáz. Potlačenie *FRA1*, *SNAIL1*, *TWIST1*, *ZEB1* má vplyv na inhibíciu EMT. miR-34 inhibuje kmeňový potenciál prostredníctvom supresie *NOTCH 1/4*, apoptózu prostredníctvom inhibície *BCL2* a proliferáciu a migráciu prostredníctvom inhibície *AXL* (Yamakuchiet al., 2009; Yang, et al., 2013; Agostini et al., 2014).

### **Záver**

V súčasnosti je celosvetovo karcinóm prsníka najčastejším typom nádorového ochorenia v ženskej populácii. Neustály celosvetový nárast incidencie karcinómu prsníka nás navádza k nadobúdaniu nových poznatkov v tejto oblasti výskumu. Včasná detekcia a následné neustále monitorovanie sú významné aspekty liečby rakoviny prsníka, súčasným cieľom je nájsť väčšiu rozmanitosť molekúl alebo ich kombinácií na úrovni DNA, RNA, proteínov alebo dokonca metabolitov, ktoré môžu slúžiť ako spoľahlivé biomarkery.

### **Pod'akovanie**

*Táto práca vznikla vďaka podpore VEGA grantu č. 1/0622/20, interného grantu VVGS-2022-2199 a projektu PROBIO-3, Bioaktívne látky pre podporu zdravia a prevenciu chronických ochorení.*

### **Reference**

- Agostini M., Knight RA.** miR-34: from bench to bedside. *Oncotarget* 2014; 5(4): 872-881.  
**Ambros V.** microRNAs: tiny regulators with great potential. *Cell* 2001; 107(7): 823-826.  
**Hinck L., Näthke I.** Changes in cell and tissue organization in cancer of the breast and colon. *Curr Opin Cell Biol* 2014; 26: 87-95.  
**Chen J., Wang X.** MicroRNA-21 in breast cancer: diagnostic and prognostic potential. *Clin Transl Oncol* 2014; 16(3): 225-233.

- Chen JF., Mandel EM., Thomson JM., et al.** The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation. *Nat Genet* 2006; 38(2): 228-233.
- Iorio MV., Ferracin M., Liu CG., et al.** MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer Res* 2005; 65(16): 7065-7070.
- Iorio MV., Casalini P., Tagliabue E., et al.** MicroRNA profiling as a tool to understand prognosis, therapy response and resistance in breast cancer. *Eur J Cancer* 2008; 44(18): 2753-2759.
- Li X., Zeng Z., Wang J., et al.** MicroRNA-9 and breast cancer. *Biomed Pharmacother* 2020; 122: 109687.
- Litton JK., Burstein HJ., Turner NC.** Molecular Testing in Breast Cancer. *Am Soc Clin Oncol Educ Book* 2019; 39: e1-e7.
- Lund AH.** miR-10 in development and cancer. *Cell Death Differ* 2010; 17(2): 209-214.
- Lynam-Lennon N., Maher SG., Reynolds JV.** The roles of microRNA in cancer and apoptosis. *Biol Rev Camb Philos Soc* 2009; 84(1): 55-71.
- Ma L.** Role of miR-10b in breast cancer metastasis. *Breast Cancer Res* 2010; 12(5): 210.
- Ma L., Young J., Prabhala H., et al.** miR-9, a MYC/MYCN-activated microRNA, regulates E-cadherin and cancer metastasis. *Nat Cell Biol* 2010; 12(3): 247-256.
- O'Bryan S., Dong S., Mathis JM., Alahari SK.** The roles of oncogenic miRNAs and their therapeutic importance in breast cancer. *Eur J Cancer*. 2017; 72: 1-11.
- Pace LE., Keating NL.** A systematic assessment of benefits and risks to guide breast cancer screening decisions. *JAMA* 2014; 311(13): 1327-1335.
- Petrović N.** miR-21 Might be Involved in Breast Cancer Promotion and Invasion Rather than in Initial Events of Breast Cancer Development. *Mol Diagn Ther* 2016; 20(2): 97-110.
- Selcuklu SD., Donoghue MT., Rehmet K., et al.** MicroRNA-9 inhibition of cell proliferation and identification of novel miR-9 targets by transcriptome profiling in breast cancer cells. *J Biol Chem* 2012; 287(35): 29516-29528.
- Siegel RL., Miller KD., Fuchs HE., Jemal A.** Cancer statistics, 2022. *CA Cancer J Clin* 2022; 72(1): 7-33.
- Sun YS., Zhao Z., Yang ZN., et al.** Risk Factors and Preventions of Breast Cancer. *Int J Biol Sci* 2017; 13(1), 1387-1397.
- Thammaiah CK., Jayaram S.** Role of let-7 family microRNA in breast cancer. *Noncoding RNA Res* 2016; 1(1): 77-82.
- Yamakuchi M., Lowenstein CJ.** MiR-34, SIRT1 and p53: the feedback loop. *Cell Cycle* 2009; 8(5): 712-715.
- Yang S., Li Y., Gao J., et al.** MicroRNA-34 suppresses breast cancer invasion and metastasis by directly targeting Fra-1. *Oncogene* 2013; 32(36): 4294-4303.
- Yu F., Yao H., Zhu P., et al.** let-7 regulates self renewal and tumorigenicity of breast cancer cells. *Cell* 2007; 131(6): 1109-1123.
- Zhang B., Pan X., Cobb GP., Anderson TA.** microRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *Dev Biol* 2007; 302(1): 1-12.
- Zhao Y., Srivastava D.** A developmental view of microRNA function. *Trends Biochem Sci* 2007; 32(4): 189-197.

## STEROLOVÉ LIPIDY U JATERNÍ STEATÓZY

### STEROL LIPIDS IN LIVER STEATOSIS

M. Vecka<sup>a</sup>, A. Žák, B. Staňková, Z. Hertelyová<sup>b</sup>

<sup>a</sup> IV. interní klinika I. LF UK a VFN v Praze, <sup>b</sup> Centrum klinického a predklinického výskumu MEDIPARK, LF UPJŠ Košice

#### Abstract

The disturbed lipid homeostasis within hepatocytes is the basis for the onset of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) which can be presented as the sole liver steatosis or can proceed into stages complicated with inflammation (NASH) and/or fibrosis.

One type of lipids, sterol lipids, play also a role in the pathogenesis of NAFLD. The adverse effects of cholesterol accumulation in the hepatocytes led to the formulation of CASH (cholesterol induced steatohepatitis), the type of steatohepatitis induced by adverse effects of cholesterol on hepatocytes. Other sterol lipid subclasses include oxysterols, which interfere with mitochondrial respiration, bile acids, whose metabolic pathways are under scrutiny for compounds potentially effective for NASH treatment, and vitamin D, the secosterol with beneficial effect on liver lipids.

Conclusions: The metabolism of lipids is closely connected with pathogenesis and development of liver steatosis. One type of lipids, sterol lipids, play an important role in the many pathophysiological events of NASH.

#### Úvod

V metabolismu lipidů hrají centrální roli játra, ve kterých probíhá mnoho důležitých pochodů zahrnující všechny lipidové třídy, ať už na úrovni biosyntézy, nebo vychytávání, skladování, popřípadě jejich uvolňování. Nadměrné ukládání tuků je podkladem vzniku nealkoholové tukové choroby jater (NAFLD), která zahrnuje stavy od prosté steatózy, přes zánětlivé (NASH) až fibrotické komplikace do jaterní cirhózy nebo hepatocelulárního karcinomu. Počáteční patofyziologické děje jsou podle současných představ spojeny s přebytkem tuků v hepatocytech, který je ukládán ve formě lipidových kapének. Další progresse NAFLD do steatohepatitidy je způsobena následným prohloubením oxidačního stresu a zánětu („two-hit hypothesis“) nebo současným působením mnoha faktorů, jako oxidačního stresu, zánětu, inzulínové rezistence, mitochondriální dysfunkce, střevní mikrobioty, genetických a epigenetických faktorů („multiple-hit hypothesis“) (Zadoorian et al. 2023).

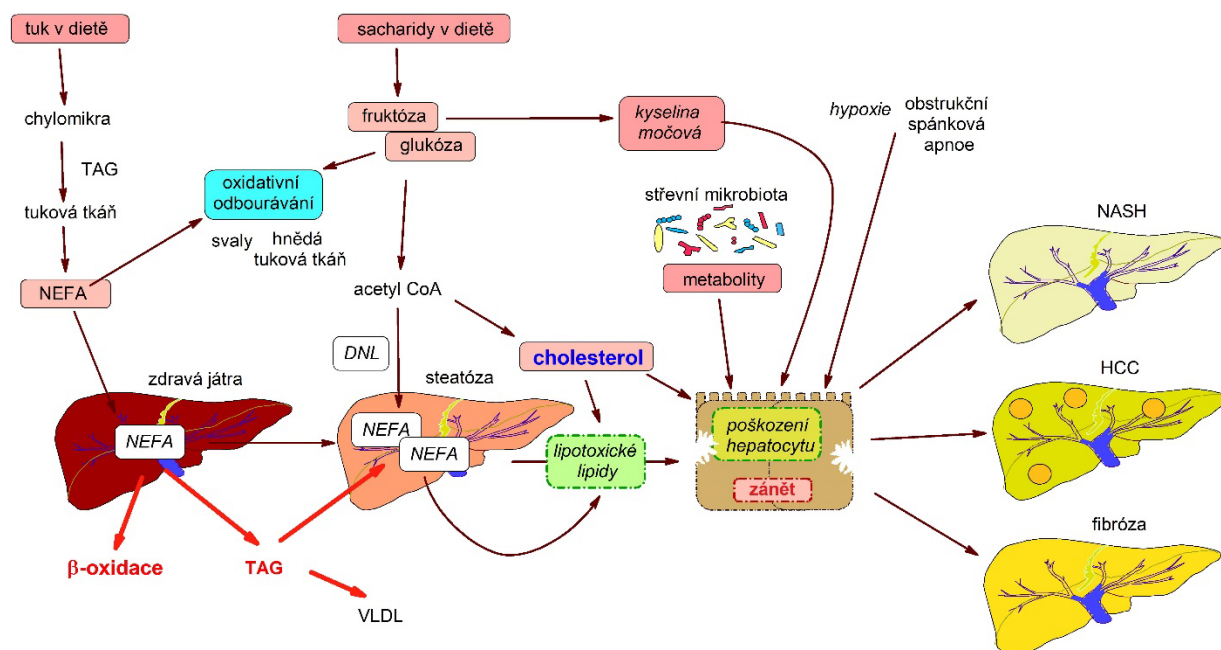
#### Patogeneze jaterní steatózy

Molekulární děje na počátku patogeneze NAFLD nesporně zahrnují biogenezi cytoplazmatických mikroskopických útvarů obsahujících tuky, které mohou fungovat jednak jako zásobní formy napolárních lipidů, nebo jako prostředek zmírňující lipotoxický stres celé buňky, případně endoplazmatického retikula. Neutrální lipidy obsažené ve vznikajících tukových kapénkách zahrnují vedle triacylglycerolů (TAG) také volný (FC) nebo esterifikovaný (CE) cholesterol. Majoritní třídou v kapénkách jsou TAG, ale ty jsou považovány spíše za „bezpečnou“ formu ukládaných tuků (Videla et al. 2004) oproti volným mastným kyselinám, diacylglycerolům, ceramidům nebo cholesterolu, jehož nadbytek je též pokládán za lipotoxickou látku (Wouters et al. 2010).

Akumulace tuků v játrech je zčásti důsledkem zvýšené tvorby TAG z nesterifikovaných mastných kyselin (NEFA) přijatých z cirkulace (za podmínek IR dochází k ektopické

akumulaci tuků mimo tukovou tkáň, až 60 % tuků ve steatotických játrech pochází z lipolýzy dysfunkční tukovou tkání). Při tvorbě TAG dochází též ke zvýšení hladin DAG (zhoršují jaterní signalizaci přes aktivaci PKC $\epsilon$ , s následnou podporou glukoneogeneze. Další proces zvyšující zastoupení tuků v hepatocytech je tvorba lipidů ze sacharidů (de novo lipogeneze, DNL) upregulací inzulínem/glukózou pomocí aktivace transkripčních faktorů SREBP1 a ChREBP (u obezity/IR až 25 % lipidů v hepatocytu vzniká pomocí DNL, okolo 40 % lipidů ve steatotických játrech pochází z diety – tuků a sacharidů) (Brunt et al. 2015, obrázek 1).

**Obr. 1 Úloha lipidů v patogenezi jaterního poškození**



*DNL – lipogeneze de novo, HCC – hepatocelulární karcinom, NASH – jaterní steatohepatitis, NEFA – neesterifikované mastné kyseliny, TAG – triacylglyceroly, VLDL – lipoproteiny o velmi nízké hustotě (podle Brunt 2014)*

## Sterolové lipidy a steatóza

### Steroly

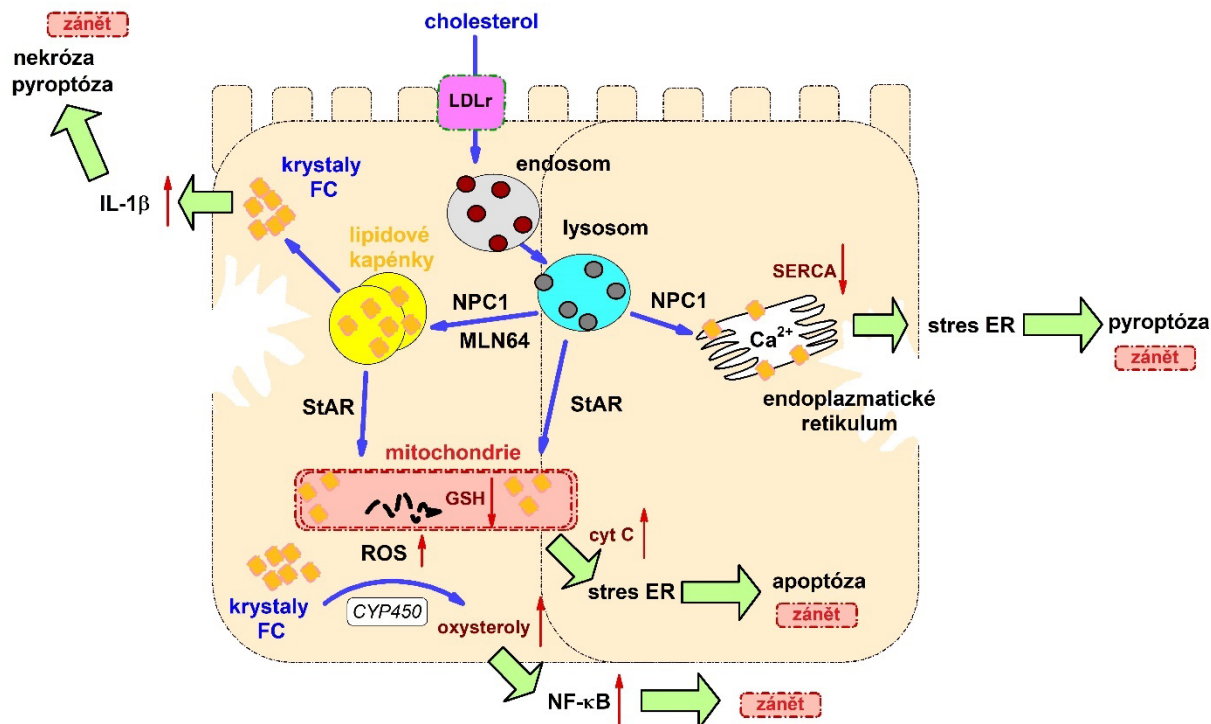
#### Cholesterol

I když je dobře znám nepříznivý účinek nasycených mastných kyselin při patogenezi NASH, při dietní indukci NASH hraje cholesterol důležitější roli než TAG (Song et al. 2021). Snadnější vyvolání NASH pouze pomocí vysokotukové diety u myších modelů je možné vlivem příznivých teplotních podmínek chovu (Giles et al. 2017), přidání cholesterolu vznik a závažnost NASH podporuje (Van Rooyen et al. 2011). U lidí je asociace cholesterolu s jaterní steatózou v literatuře zmiňována méně, ale existují data z několika studií, která spojují zvýšený dietní příjem cholesterolu a progresí cirhózy u pacientů s NAFLD, přičemž celkový obsah tuků zde nehraje roli (Ioannou et al. 2009, Nouredin et al. 2020).

V hepatocytech s porušenou rovnováhou mezi biosyntézou, vychytáváním a exkrecí cholesterolu dochází k hromadění volného cholesterolu a následným stresovým odpovědím, jako mitochondriální dysfunkci, prozánětlivému stavu, pyroptóze nebo buněčné smrti. Navíc nadbytek volného cholesterolu (FC) v hepatocytu může indukovat nevratné změny v okolních buňkách (Horn et al. 2022, Gan et al. 2014) a tvorba krystalů FC je u lidí spojena s rychlejší progresí steatózy do NASH (Deng et al. 2022). Výše zmíněné nepříznivé účinky cholesterolu

dokonce vedly k navržení termínu *steatohepatitida spojená s cholesterolem* (cholesterol-associated steatohepatitis, CASH) (Horn et al. 2022). Čtyři hlavní procesy, kterými hromadění cholesterolu usnadňuje vznik a pokračování zánětu vedoucí k poškození hepatocytu a při trvalejším účinku i zánik hepatocytů, jsou znázorněny na obrázku 2.

**Obr. 2** Nepříznivé účinky akumulace cholesterolu v hepatocytu



*cyt C* – cytochrom C, *CYP450* – rodiny enzymů cytochromu P450, *GSH* – redukovaný glutathion, *ER* – endoplazmatické retikulum, *FC* – volný cholesterol, *LDLr* – receptor pro LDL částice, *MLN64* – metastatický lymfoidní protein 64, *NPC1* – Niemann-Pickův protein typ 1, *ROS* – reaktivní formy kyslíku, *SERCA* – transportní protein pro Ca<sup>2+</sup> v ER, *StAR* – steroidogenní akutní regulační protein (podle Horn 2022)

Lipogeneze v játrech je regulována na úrovni transkripčních faktorů, proteinů modulujících aktivitu enzymů/transportních proteinů/receptorů nebo transportními proteiny. Některé z těchto regulačních procesů byly spojeny s patogenezí NAFLD (Arguello et al. 2015, Li et al. 2021).

U pacientů s NAFLD nebo NASH jsou většinou popisovány vyšší hladiny SREBP-2 spolu s HMGCoAR (Horn et al. 2022),

Rovnováha mezi volnou a esterifikovanou formou cholesterolu je udržována primárně poměrem aktivit esterifikujícího enzymu, ACAT2, a hydrolytického enzymu, CE hydrolas. U zdravých jedinců je aktivita CE hydrolasy udržována na přibližně konstantní úrovni, takže rovnováha procesu je určena aktivitou ACAT2 (Horn et al. 2022). Pacienti s NAFLD mají několikanásobně vyšší aktivitu neutrální CE hydrolasy, což dále podporuje akumulaci volného cholesterolu v hepatocytech (Min et al. 2012).

Apolipoprotein J (apo J) je součástí stresové odpovědi v Golgiho aparátu, kde funguje jako molekulární chaperon. Zvýšení obsahu cholesterolu v membránách Golgiho komplexu podporuje interakci apoJ s ACAT2 pro zachování úrovně esterifikace cholesterolu (Sun et al. 2023).



Jako příklad transferového proteinu pro cholesterol, který byl spojen s patogenetickými mechanismy NAFLD, lze uvést protein SCP-2. SCP-2 je důležitý transportní protein pro intracelulární lipidy, do intracelulárního mechanismu cholesterolu zasahuje na úrovni zvýšení sekrece VLDL, esterifikace cholesterolu a tvorby žlučových kyselin a snížení biosyntézy cholesterolu (Xu et al. 2022). Myši s chybějící transportní aktivitou SCP-2 vykazovaly fenotypické rysy velmi podobné NAFLD (Klipsisic et al. 2015).

U člověka syntetizují játra přibližně polovinu z cholesterolu přístupného systémové cirkulaci, další zdroje cholesterolu jsou spojené s distribucí absorbovaného a endogenního cholesterolu tvořeného mimo játra (Luo et al. 2020), která je závislá na metabolismu lipoproteinových částic. Polymorfismy některých genů spojených s metabolismem lipoproteinů jsou spojovány se vznikem NAFLD, NASH nebo i jaterní cirhózy, jako PNPLA3, TM6SF2 nebo mutace v apoB. Další kandidátní geny zmiňované ve studiích zahrnují FDFT1 (kódující skvalen syntasou, enzym biosyntetické dráhy cholesterolu), LIPA (lyzosomální kyselou lipázu důležitou pro odbourávání CE), HSD17B13 (17 $\beta$  hydroxysteroidní dehydrogenázu 13) (Horn et al. 2022).

### ***Biosyntéza cholesterolu a steatóza***

Jak již bylo zmíněno, jaterní steatóza je spojována s vyšší expresí HMGCoAR, klíčového enzymu biosyntézy cholesterolu (Horn et al. 2022).

### ***Absorpce cholesterolu a steatóza***

Příznivý vliv fytoosterolů, nepřímých ukazatelů absorpce cholesterolu, na progresi NAFLD je většinou spojován se snížením obsahu cholesterolu v játrech u myších modelů NAFLD, nebo se zlepšením jaterních funkcí u pacientů s NAFLD po suplementaci  $\beta$ -sitosterolem (Frasinariu et al. 2022).

### **Oxysteroly**

Vedle nepříznivých účinků samotné molekuly cholesterolu na progresi poškození hepatocytů je nutné zmínit také tvorbu dalších molekul, jako potenciálně toxických oxysterolů, např. 25-hydroxycholesterolu aktivujícího prozánětlivou NF- $\kappa$ B signalizaci nebo 5 $\alpha$ -cholestan-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triolu interferujícího s mitochondriální respirací (Bellanti et al. 2014). Oxysteroly jsou intermediáty při tvorbě dalších typů sterolových lipidů – žlučových kyselin a steroidních hormonů, a některé z nich byly spojeny s progresí NAFLD (Kakiyama et al. 2023).

Důležitou rolí oxysterolů je také jejich schopnost být ligandy transkripčních faktorů LXR $\alpha$  (podpora reverzního transportu cholesterolu) nebo SREBP-2 (inhibice biosyntézy cholesterolu *de novo*) (Horn et al. 2022).

### **Žlučové kyseliny**

Roli žlučových kyselin patogenezi jaterní steatohepatitidy (NASH) nelze popsat jednoznačně jako příznivou nebo nepříznivou, některé studie prokázaly souvislost některých žlučových kyselin (jejich derivátů) s progresí NASH, jiné ukázaly terapeutický vliv. Pacienti s NASH mívají vyšší koncentrace kyseliny chenodeoxycholové (CDCA), kyseliny deoxycholové (DCA) nebo kyseliny ursodeoxycholové (UDCA). Plazmatické koncentrace dalších žlučových kyselin – kyseliny glykocholové (GCA), glykodeoxycholové (GDCA), taurocholové (TCA), taurodeoxycholové (TDCA) byly také popisovány jako vyšší u NASH (Jian et al. 2020). Obecně tyto nálezy spolu se zvýšeným poměrem primárních ku sekundárním žlučovým kyselinám, zvýšeného ukazatele biosyntézy žlučových kyselin (C4) ukazují na inhibici osy FXR-SHP u NASH. Navíc zvýšené množství cholesterolu v mitochondriích může podporovat tvorbu žlučových kyselin alternativní cestou (Goicoechea et al 2023).

Terapeutické možnosti ovlivnění progresu NASH spojené s metabolismem žlučových kyselin jsou v současné době intenzívně zkoumány, jako velmi nadějně se jeví analoga žlučových kyselin (kyselina obeticholová), inhibitory transportních molekul (ASBT inhibitory), agonisté receptorů FXR nebo agonisté TGR5.

### **Sekosteroly – role vitamínu D**

Účinky vitamínu D jsou zprostředkovány pomocí vazby na příslušný receptor (VDR), který funguje jako heterodimer s retinoidním X receptorem (RXR) jako jaderný transkripční faktor. Negenomové funkce vitamínu D zahrnují aktivaci signalizačních molekul (fosfolipáz C a A<sub>2</sub>) nebo iniciaci vápenatých a chloridových kanálů (Hii a Ferrante 2016). Asociace deficitu vitamínu D a NAFLD byla popsána už před 15 lety (Tarher et al. 2007), ale první informace o vztahu vitamínu D a NASH/NAFLD pocházejí až z dat velkých studií (např. NHANES III, Liangpunsakul a Chalasani 2011), případně metaanalýz (Eliades et al. 2013), které ukázaly na nízkou hladinu 25OH vitamínu D u pacientů s NAFLD. Je známo, že vitamín D reguluje mnoho drah spojených s rizikovými faktory NAFLD, jako inzulinová rezistence, diabetes nebo obezita (Sarkat 2023). Prokázání příznivé role suplementace vitamínem D u pacientů s NAFLD naráží na nekonzistentní metodologické přístupy, jako např. různé analytické metody nebo množství podávané látky (Barchetta et al. 2017).

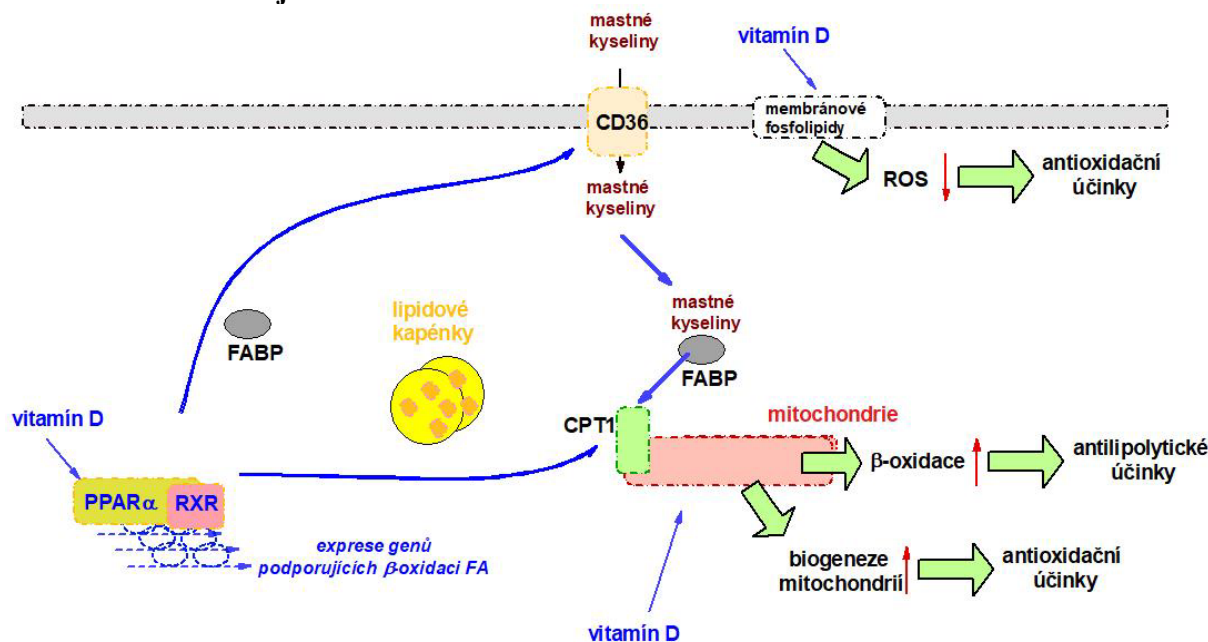
V adipocytech reguluje vitamín D energetický metabolismus (zvyšuje tvorbu leptinu a snižuje uvolňování adiponektinu, zvyšuje úroveň  $\beta$ -oxidace a lipolýzu a tím snižuje akumulaci tuků) adipogenezi (zamezuje tvorbě jaderných transkripčních faktorů PPAR $\gamma$ , C/EBP $\alpha$  i  $\beta$ ) a reguluje zánětlivé procesy potlačením tvorby cytokinů nebo prozánětlivých miRNA či signalizace pomocí NF-kB a p38 (Bennour et al. 2022). Vyšší hladiny vitamínu D<sub>3</sub> (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) podporují dekompozici tukových kapének v adipocyty i jejich objem (Xiang et al. 2020).

Úloha vitamínu D ve zlepšování hladin glukózy u diabetiků s DM2 není zcela jasná, ale v literatuře jsou popisovány některé příznivé molekulární mechanismy účinku vitamínu  $\beta$ -buňky pankreatu. Vitamín D podporuje zvyšování intracelulárních koncentrací vápníku, uvolňování inzulínu, snižuje zde zánětlivé procesy i stress endoplazmatického retikula (Wu et al. 2023).

Imunomodulační účinky vitamínu D jsou dobře známy (Ghaseminejad-Raeini et al. 2023). Pro patogenezi NAFLD jsou zajímavé vztahy ke střevní homeostáze. Signalizace pomocí receptoru VDR ve střevním epitelu aktivuje Panethovy buňky a B-lymfocyty v lamina propria, a tak pomáhá bránit vstupu nežádoucích bakterií do intersticia. Na případnou infiltraci imunitní systém odpovídá aktivací složek vrozené imunity (makrofágů), nebo adaptivních složek (dendritických buněk, Th1/Th17 lymfocytů). Role vitamínu D v znovuoústavění imunitní rovnováhy spočívá v inhibici Th1/Th17 lymfocytů za současné stimulace regulačních T-lymfocytů (Fakhoury et al. 2020).

Zánětlivé procesy potlačuje vitamín D také v játrech. Zde navíc snižuje peroxidaci lipidů, koncentrace redukováného glutathionu, malondialdehydu a aktivitu superoxiddismutázy 1 (Sarkar 2023). U myšího modelu NAFLD (vyvolaného vysokotukovou dietou obsahující 20 % tuku) vitamín D snižoval jaterní expresi SREBP1 a zvyšoval expresi PPAR $\alpha$  s následným zvýšením  $\beta$ -oxidace mastných kyselin v hepatocytech (Beda et al. 2023). Vliv vitamínu D na metabolismus lipidů v hepatocyty je znázorněn na obrázku 3.

Obr. 3 Vitamín D a játra



CD36 – transferový protein pro mastné kyseliny, CPT – karnitin:palmitoyl transferáza, FABP – protein vázající mastné kyseliny, PPAR – receptor aktivovaný peroxizomálními proliferátory, ROS – reaktivní formy kyslíku, RXR - retinoidní receptor X. Podle (Du 2023, Kwok 2013, Sarkar 2023)

*Práce byla podpořena granty Cooperatio 1. LF UK and RVO-VFN64165.*

### Literatura

- Arguello G., Balboa E., Arrese M., et al.** Recent insights on the role of cholesterol in non-alcoholic fatty liver disease. *Bioch Biophys Acta* 2015; 1852: 1765-1778.
- Barchetta I., Cimini F.A., Cavallo M.G.** Vitamin D Supplementation and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Present and Future. *Nutrients* 2017; 9(9): 1015.
- Bellanti F., Mitarotonda D., Tamborra R., et al.** Oxysterols induce mitochondrial impairment and hepatocellular toxicity in non-alcoholic fatty liver disease. *Free Radic Biol Med* 2014; 75(Suppl 1): S16-S17.
- Bennour I., Haroun N., Sicard F., et al.** Recent insights into vitamin D, adipocyte, and adipose tissue biology. *Obes Rev* 2022; 23: e13453.
- Brunt EM., Wong V.W-S., Nobili V., et al.** Nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Rev Dis Primers* 2015; 1: 1-22.
- Deng K-Q., Huang X., Lei F., et al.** Role of hepatic lipid species in the progression of nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Physiol Cell Physiol* 2022; 323: C630-C639.
- Du T., Xiang L., Zhang J., et al.** Vitamin D improves hepatic steatosis in NAFLD via regulation of fatty acid uptake and b-oxidation. *Front Endocrinol* 2023; 14: 1138078.
- Eliades M., Spyrou E., Afrawal N., et al.** Meta-analysis: vitamin D and non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 38: 246-254.
- Fakhoury H.M.A., Kvietyš P.R., Alkattan W., et al.** Vitamin D and intestinal homeostasis: Barrier, microbiota, and immune modulation. *J Steroid Biochem Mol Bio*, 2020; 200:105663.
- Frasinariu O., Serban R., Trandafir L.M., et al.** The Role of Phytosterols in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Nutrients* 2022; 14: 2187.

- Gan L.T., Van Rooyen D.M., Koina M.E., et al.** Hepatocyte free cholesterol lipotoxicity results from JNK1-mediated mitochondrial injury and is HMGB1 and TLR4-dependent. *J Hepatol* 2014; 61: 1376–1384.
- Ghaseminejad-Raeini A., Ghaderi A., Sharafi A., et al.** Immunomodulatory actions of vitamin D in various immune-related disorders: a comprehensive review. *Front Immunol* 2023; 14: 950465.
- Giles D.A., Moreno-Fernandez M.E., Stankiewicz T.E., et al.** Thermoneutral housing exacerbates nonalcoholic fatty liver disease in mice and allows for sex-independent disease modeling. *Nat Med* 2017; 23: 829–838.
- Goicoechea L., Conde de la Rosa L., Torres S., et al.** Mitochondrial cholesterol: Metabolism and impact on redox biology and disease. *Redox Biol* 2023; 61: 102643.
- Heeren J. a Scheja L.** Metabolic-associated fatty liver disease and lipoprotein metabolism. *Mol Metab* 2021; 50: 101238.
- Hii Ch.-S. a Ferrante A.** The Non-Genomic Functions of Vitamin D. *Nutrients* 2016; 8: 135.
- Horn CL., Morales AL., Savard C., et al.** Role of cholesterol-associated steatohepatitis in the development of NASH. *Hepatol Commun* 2022; 6: 12–35.
- Ioannou G.N., Morrow O.B., Connole M.L., et al.** Association between dietary nutrient composition and the incidence of cirrhosis or liver cancer in the United States population. *Hepatology* 2009; 50: 175-184.
- Jiao T-y., Ma Y-d., Guo X-z., et al.** Bile acid and receptors: biology and drug discovery for nonalcoholic fatty liver disease. *Acta Pharmacol Sinica* 2022; 43: 1103-1119.
- Kakiyama G., Rodriguez-Agudo D. a Pandak W.M.** Mitochondrial Cholesterol Metabolite in a Bile Acid Synthetic Pathway Drive Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Revised “Two-Hit” Hypothesis. *Cells* 2023; 12: 1434.
- Klipsic D., Landrock D., Martin G.G., et al.** Impact of SCP-2/SCP-x gene ablation and dietary cholesterol on hepatic lipid accumulation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2015; 309: G387–99.
- Liangpunsakul S., Chalasani N.** Serum vitamin D concentrations and unexplained elevation in ALT among US adults. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 2124-2129.
- Li H., Yu X.-H., Ou X., et al.** Hepatic cholesterol transport and its role in non-alcoholic fatty liver disease and atherosclerosis. *Prog Lipid Res* 201; 83: 101109.
- Luo J., Yang H., a Song B.L.** Mechanisms and regulation of cholesterol homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2020; 21: 225–245.
- Min H.-K., Kapoor A., Fuchs M., et al.** Increased hepatic synthesis and dysregulation of cholesterol metabolism is associated with the severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Cell Metab* 2012; 15: 665-674.
- Noureddin M, Zelber-Sagi S, Wilkens LR, et al.** Diet associations with nonalcoholic fatty liver disease in an ethnically diverse population: the multiethnic cohort. *Hepatology* 2020; 71; 1940-1952.
- Reda D., Elshopakey G.E., Albukhari T.A., et al.** Vitamin D3 alleviates nonalcoholic fatty liver disease in rats by inhibiting hepatic oxidative stress and inflammation via the SREBP-1-c/PPAR $\alpha$ -NF- $\kappa$ B/IR-S2 signaling pathway. *Front Pharmacol* 2023; 14: 1164512.
- Sarkat S.** Molecular Crosstalk Between Vitamin D and Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Explor Res Hypothesis Med* 2023; doi: 10.14218/ERHM.2023.00019.
- Song Y., Liu J., Zhao K., et al.** Cholesterol-induced toxicity: An integrated view of the role of cholesterol in multiple diseases. *Cell Metabol* 2021; 33: 1911-1925.
- Sun H.-Y., Chen T.-Y., Tan Y.-Ch., et al.** Sterol O-acyltransferase 2 chaperoned by apolipoprotein J facilitates hepatic lipid accumulation following viral and nutrient stresses. *Commun Biol* 2022; 4: 564.

**Targher G., Bertolini L., Scala L., et al.** Associations between serum 25-hydroxyvitamin D3 concentrations and liver histology in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2007; 17: 517-524.

**Van Rooyen D.M., Larter C.Z., Haigh W.G., et al.** Hepatic free cholesterol accumulates in obese, diabetic mice and causes nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 2011; 141: 1393–1403.

**Videla L.A., Rodrigo R., Orellana M, et al.** Oxidative stress-related parameters in the liver of non-alcoholic fatty liver disease patients. *Clin Sci (Lond)* 2004; 106: 261-268.

**Wouters K., van Bilsen M., van Gorp P.J., et al.** Intrahepatic cholesterol influences progression, inhibition and reversal of non-alcoholic steatohepatitis in hyperlipidemic mice. *FEBS Lett* 2010; 584: 1001-1005.

**Wu J., Atkins A., Downes M., et al.** Vitamin D in Diabetes: Uncovering the Sunshine Hormone's Role in Glucose Metabolism and Beyond. *Nutrients* 2023; 15: 1997.

**Xiang W., Cheng S., Zhou Y., et al.** Effects of 1,25(OH)(2) D(3) on lipid droplet growth in adipocytes. *BioFactors (Oxford England)* 2020; 46(6): 943–954.

**Xu C., Li H., Tang Ch.-K.** Sterol carrier protein 2 in lipid metabolism and non-alcoholic fatty liver disease: Pathophysiology, molecular biology, and potential clinical implications. *Metabolism* 2022; 131: 155180.

**Zadoorian A., Du X., Yang H.,** Lipid droplet biogenesis and functions in health and disease. *Nat Rev Endocrinol* 2023; 19: 443-459.

**MASTNÉ KYSELINY A MOZEK****FATTY ACIDS AND BRAIN****M. Zeman, J. Macáček, B. Staňková, E. Tvrzická, M. Vecka, A. Žák***Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, IV. interní klinika, Všeobecná fakultní nemocnice v Praze***Abstract**

According to the length of the chain of the fatty acids, we distinguish short chain fatty acids (SCFA) with 2 - 5 carbons in the chain, medium chain fatty acids (MCFA) with 6 to 11 carbons, long chain fatty acids (LCFA) with 12 to 21 carbons - sometimes those with 22 C are also counted, and very long chain fatty acids (VLCFA) with more than 22 carbons in the chain. Moreover, according to the number of double bonds present in side chains fatty acids can be classified as saturated FAs (SFAs, no double bonds), monounsaturated FAs (MUFAs, a single double bond), and polyunsaturated FAs (PUFAs,  $\geq 2$  double bonds). All these FAs play different roles in the pathophysiology of the brain. The spectrum of fatty acids found in the brain is different from the composition of FA in plasma lipids, in adipocytes of adipose tissue and other tissues. About 50 – 60 % of the dry matter of the adult human brain consists of lipids. Of this, about 35 % are long-chain fatty acids among which arachidonic acid and docosahexaenoic acid predominate. In the fat of the frontal cortex of people who died at the age of 25 - 45, NcNamara and Carlson found 36 % SFAs, where stearic acid and palmitic acid were represented almost exclusively. The share of total PUFA n-6 was 17 % (predominantly arachidonic acids) and the share of total PUFA n-3 was about 14 % (practically only docosahexaenoic acid). MUFA n-9 fatty acids were represented by 20 % (virtually only oleic acid). Saturated and monounsaturated FAs can be synthesized *de novo* in the brain, while PUFAs enter the brain mainly from the bloodstream. The diverse roles of all abovementioned fatty acids in the pathophysiology of the brain are described in the work.

**Úvod**

Mastné kyseliny (MK) mají v mozku řadu různých funkcí. Jsou složkami membrán, kde regulují membránovou fluiditu a permeabilitu, tvorbu vezikul a jejich transport, buněčnou integritu a neuroplasticitu. Za určitých podmínek mohou být využity i jako zdroj energie (oxidace MK). V centrálním (CNS) i periferním nervovém systému jsou MK nezbytnými substráty pro syntézu sloučenin, jako jsou např. cerebrosidy, gangliosidy aj. a také pro lipidovou modifikaci strukturních a signálních proteinů. Řada MK a jejich metabolitů v mozku působí protizánětlivě a neuroprotektivně (Romano et al. 2017, Montesinos 2020). Mastné kyseliny zahrnují širokou škálu molekul, a proto i spektrum jejich účinků ve vztahu k mozku a jeho funkcím je pestré. Mastné kyseliny se z krevního oběhu do mozku dostávají buď pasivní difuzí nebo s pomocí různých transportérů (FATP – *fatty acid transport protein*, translokáza FAT/CD36 a FABP – *fatty acid binding proteins*), které jsou exprimovány v mozkových endoteliích, vystylajících stěny cév (Schönfeld a Reiser 2021).

Nasyčené a mononenasyčené mastné kyseliny mohou být také v mozku syntezovány *de novo*, zatímco polyenenasyčené mastné kyseliny (PUFA) se do CNS dostávají převážně z krevního oběhu. Mozková tkáň je sice vybavena enzymy, potřebné k tvorbě PUFA, ovšem přísun z oběhu je kvantitativně významnější (Bazinet a Layé 2014). Na počátku vývoje lidského organismu, se v mozku hromadí mastné kyseliny, nacházející se v myelinových pochvách, zejména kyselina olejová (FA 18:1n-9). V posledním trimestru těhotenství se v mozku ve

zvýšené míře hromadí PUFA, zejména kyselina dokosahexaenová (DHA) (Kuipers et al. 2012).

V této práci je podán přehled o mastných kyselinách s krátkým řetězcem (*short chain fatty acids*, SCFA), nasycených a monoenoových (SFA a MUFA), polynenasycených MK (PUFA) a mastných kyselinách s velmi dlouhým řetězcem (VLC-FA).

### SCFA

Mikrobiota, sídlící ve střevě, jsou vybavena enzymy, schopnými trávit vlákninu ze stravy. Hlavními konečnými produkty těchto enzymatických reakcí jsou mastné kyseliny s krátkým řetězcem (*short chain fatty acids*, SCFA). SCFA jsou alifatické karboxylové kyseliny obsahující jeden až pět atomů uhlíku. Vznikají ve střevě činností mikrobiot z vlákniny obsažené ve stravě, jsou také intermediárními produkty metabolismu. Propionát je tvořen např. mikroby *Bacteroidetes*, *Negativicutes* a *Lachnospiraceae*, butyrát produkují *Faecalibacterium prausnitzii*, *Eubacterium rectale*, a *Eubacterium halli*, acetát je vytvářen různými mikroby z acetyl-CoA (Nogal et al. 2021). Asi 95 % SCFA tvoří kyselina octová (FA 2:0), propionová (FA 3:0) a máselná (FA 4:0), které se v tlustém střevě a stolici nacházejí v molárním poměru asi 60:20:20 (Takagi et al. 2016). V různých oddílech lidského střeva je obsah SCFA různý. V terminálním ileu byly nalezeny jejich koncentrace nízké, výrazně stoupaly ve vzestupném tračníku a pak zase klesají v sestupném tračníku (Blaak et al. 2020). Propionát a butyrát ovlivňují periferní orgány nepřímo aktivací hormonálních a nervových systémů (pro přehled viz Koh et al. 2016).

SCFA jsou ligandy pro receptory volných mastných kyselin (FFAR), konkrétně GPR41/FFAR3, GPR43/FFAR2 nebo olfaktorický receptor Olfr78 a v případě butyrátu i GPR109A (Kimura et al. 2020). Souhrnně jsou tyto receptory označovány jako SCFA receptory (SCFAR). Jsou exprimovány v řadě tkání (např. střevo, játra, sval, plíce, tuková tkáň, periferní sympatické neurony a také mozek) (Lympheropoulos et al. 2022), což poukazuje na jejich možnou účast v patofyziologii nejrůznějších onemocnění, jako diabetes mellitus, obezita, kardiovaskulární choroby i neuropsychiatrická onemocnění. SCFA jsou také inhibitory histonových deacetyláz (HDAC), a tak mohou ovlivňovat epigenetické regulace řady různých genů.

**Působení SCFA v mozku.** SCFA produkované činností střevních mikrobiot mohou v mozku sloužit jako zdroj energie v situaci snížené utilizace glukosy (Chen et al. 2022). Všechny tři hlavní SCFA jsou detekovatelné v lidské cerebrospinální tekutině (CSF) v koncentracích vyšších, než v periferní krvi (Hoyles et al. 2017, Silva et al. 2020). Do CNS se SCFA dostávají buď po vazbě na příslušné receptory v hematoencefalické bariéře (HEB), nebo procházejí přímo přes HEB. SCFA významně ovlivňují funkce neuronů mimo jiné modulací hladin neurotransmitterů a neurotrofních faktorů. SCFA regulují enzym tryptofan 5-hydroxyláza 1, který se účastní syntézy neurotransmiteru serotoninu a tyrosinhydroxylázy, která se podílí na regulaci biosyntézy jiných mediátorů - dopaminu, noradrenalinu a adrenalinu (Silva et al. 2020). Acetát ovlivňuje hladiny glutamátu, glutaminu a GABA v hypothalamu a zvyšují expresi anorexigenního neuropeptidu. V experimentu deplece mikrobiot po antibioticích vedla k poruše neurogeneze v hippocampu a k poruše paměti, pravděpodobně v důsledku změn exprese signálních molekul jako je mozkový neurotrofní faktor BDNF (*brain derived neurotrophic factor*), N- methyl- D-aspartátový receptor (NMDAR) podjednotka 2B, transportér serotoninu a neuropeptid Y (Fröhlich et al. 2016). Vedle BDNF modulují SCFA také regulaci nervového růstového faktoru (NGF). Tyto faktory regulují růst, přežití a diferenciaci neuronů a synapsí v CNS (Savignac et al. 2013). SCFA urychlují růst nervových progenitorových buněk, což by se mohlo uplatňovat při regulaci časného nervového vývoje. Podávání butyrátu v experimentu snižuje příjem potravy, aktivitu orexigenních neuronů, exprimujících neuropeptid Y v hypothalamu a snižuje neuronální aktivitu nucleus tractus solitarius (Li et al. 2018). Některé účinky SCFA jsou zprostředkované

aktivací receptorů GPR41/GPR43. Další efekty SCFA, zejména propionátu a butyrátu, jsou zprostředkovány jejich HDAC inhibiční aktivitou (Patnala 2017).

Střevní mikrobiota hraje klíčovou roli ve vývoji a funkčnosti imunitního systému v CNS, přičemž klíčovou úlohu v komunikaci v ose mikrobiota-střevo-mozek hrají SCFA, které regulují homeostázu mikroglíí, vykonávajících funkci monocyto-makrofágového systému. Experimenty u myši prokázaly, že aplikace SCFA (acetátu, propionát a butyrátu) myším bez přítomných mikrobiot (*germ-free*) vedla k úpravě porušených funkcí mikroglíí (Erny et al. 2015). Nedostatečné vyživování mikroglíí bylo zjištěno u myši s deficitem FFAR2 (Gautiar et al. 2012). SCFA aktivací receptoru GPR109A snižovaly tvorbu prozáněťových cytokinů TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$  a IL-6 (Fu et al. 2015). Dysfunkce mikroglíí je spojena s neuropsychiatrickými poruchami jako např. deprese, Alzheimerova demence nebo Parkinsonova choroba (Xiao et al. 2020).

**SCFA u patologických stavů CNS.** Experimentální studie ukázaly na možné uplatnění SCFA v patogeneze onemocnění CNS jako jsou např. Alzheimerova demence, Parkinsonova nemoc, ale i deprese či schizofrenie. U myšího modelu AD byly odlišné složení střevního mikrobiomu a snížená hladina SCFA, asociovány s depozicí amyloidu a ultrastrukturálními abnormalitami ve střevech. V patologii AD se tak vedle přímého poškození mozku může uplatňovat depozice amyloidu ve střevě s následnou změnou mikrobiomu a poklesem hladin SCFA (Zhang et al. 2017). V řadě experimentálních studií byly nalezeny mechanismy, kterými SCFA mohou zasahovat do patogenetických pochodů vedoucích k neurodegeneraci (Chen et al. 2022). SCFA hrají roli v epigenetické regulaci, kdy upravují expresi neuroprotektivních genů změnami acetylace nebo metylace DNA. Např. u experimentálního myšího modelu Alzheimerovy demence funkcí podporoval butyrát sodný acetylaci histonů v hippocampu inhibicí enzymu histon-deacetylasy, což bylo spojeno se zvýšenou expresí genů účastnících se asociativního učení a k úpravě asociativní paměti i u pokročilých stavů (Govindarajan et al. 2011). SCFA interferovaly s tvorbou toxických solubních agregátů A $\beta$ , přičemž nejúčinnější byla kyselina valerová, a pak máselná a propionová (Nankova et al. 2014). SCFA interferují s agregací amyloidových peptidů A $\beta$ -40 a A $\beta$ -42 do rozpustných neurotoxických agregátů A $\beta$  (Ho et al. 2018). Podávání probiotik u myšího modelu AD vedlo k poklesu akumulace amyloidu v mozku i hladin prozáněťových cytokinů (Bonfili et al. 2017). Klinické studie zjistily, že u lidí mírná kognitivní porucha (MCI, *mild cognitive impairment*), která je považována za prekurzor AD, může být spojena se specifickým střevním mikrobiomem, a že ketogenní Středomořská dieta může tento mikrobiom příznivě modulovat a upravovat hladinu biomarkerů AD v mozkomíšním moku (Nagpal et al. 2019). Rovněž u Parkinsonovy nemoci (PD) byl zkoumán význam střevního mikrobiomu a SCFA. Ve vzorcích stolice nemocných s PD byl zaznamenán pokles populace *Bacteroidetes a Prevotellaceae*, zatímco podíl *Enterobacteriaceae* byl zvýšen. Současně byla snížena tvorba SCFA (Unger et al. 2016). Li a spolupracovníci zjistili, že nemocní s PD mají alterované složení střevního mikrobiomu, které koreluje s progresí onemocnění, zřejmě v důsledku poklesu podílu bakteriálních kmenů, štěpících vlákninu a současně vzestupu podílu patobiontů (*Escherichia-Shigella*, *Streptococcus*, *Proteus*, *Enterococcus*). To vede k poklesu tvorby SCFA, zatímco produkce endotoxinu a neurotoxinu stoupá (Li et al. 2017). Význam změn střevního mikrobiomu a SCFA je zkoumán i u poruch nálady. U pacientů s depresí byly ve stolici prokázány snížené hladiny SCFA (Skonieczna-Zydecka et al. 2018). Na zvířecích modelech butyrát různé projevy deprese příznivě ovlivňoval (Valvassori et al. 2015). Butyrát korigoval manické i depresivní chování u potkanů (Resende et al. 2013) a měl antidepresivní účinky u myši (Sun 2016). Nedávno byly publikovány výsledky studie, zkoumající vztah SCFA k riziku manifestace schizofrenie (Sch). Po dobu dvou let byly sledovány osoby s vysokým rizikem vzniku psychózy („*ultra-high-risk*“, UHR). Při srovnání se zdravými osobami a nemocnými s manifestní Sch byly u pacientů se Sch i u skupiny osob UHR,



konvertujících ke Sch, zjištěny nižší koncentrace kyseliny valerové (FA 5:0). Navíc hladiny kyseliny kapronové (FA 6:0) významně korelovaly s některými kognitivními funkcemi osob skupiny UHR (Peng et al. 2022). SCFA by se mohly v budoucnu stát novými léčebnými prostředky, příznivě ovlivňujícími neurodegenerativní procesy. Výsledky všech ovšem nejsou studií konzistentní a interakce jednotlivých činitelů je složitá, takže praktické využití poznatků v terapii není zatím aktuální (Xiao et al. 2020, Chen et al. 2022).

### **Nasyčené mastné kyseliny s dlouhým řetězcem**

Nasyčené mastné kyseliny, zejména kyselina laurová (FA 12:0), myristová (FA 14:0) a palmitová (FA 16:0) zvyšují kardiovaskulární riziko zřejmě tím, že zvyšují hladinu celkového a LDL-cholesterolu (Mensink 1993) a aktivaci TLR 4 (toll-like receptor 4) s následnou expresí prozáněťových transkripčních faktorů, jako je NFκB (nuclear factor kappa B) (Rocha et al. 2016). Nasyčené MK se různými mechanismy významně uplatňují i v patogenezi onemocnění CNS (Vesga-Jiménez et al. 2022). Nasyčené MK s lichým počtem uhlíků (zejména FA 15:0 a FA 17:0) mají účinky příznivé, jejich plasmatické hladiny jsou negativně asociovány s rizikem kardiovaskulárních onemocnění i diabetes mellitus 2. typu (Jenkins et al. 2015). Volné mastné kyseliny (FFA) se v mozku, (podobně i v pankreatických β-buňkách adipocytech, a v dalších tkáních) vážou na GPR receptor (G-protein coupled receptor) neboli FFAR (free fatty acid receptor). Uvnitř buňky jsou FFA ukládány do triacylglycerolů a následně do tukových kapének (*lipid droplets*) nebo podléhají β-oxidaci v mitochondriích. Vysoká hladina FFA, zejména nasyčených, např. palmitové, inhibuje β-oxidaci, vznikají toxické lipidové produkty (diacylglyceroly - DAG, ceramidy), jejichž působení vede k oxidačnímu stresu, stresu endoplasmatického retikula a je aktivován signální systém, který indukuje tvorbu prozáněťových cytokinů (Chaurasia et al. 2020). Hlavním představitelem SFA v lidském těle je kyselina palmitová (16:0, PA), která je obsažena ve stravě nebo je produkována endogenní syntézou z jiných MK, ze sacharidů nebo aminokyselin. PA představuje asi 20 – 30 % celkových MK v membránových fosfolipidech a triglyceridech tukové tkáně (Carta et al. 2017). Vysoký příjem nasyčených tuků v potravě může vést k rozvoji záněťového stavu v mozku (neuroinflamaci) a k inzulínové rezistenci v mozku. Mechanismy, které se na těchto pochodech podílejí, byly zkoumány v experimentálních studiích. Kyselina palmitová působí inzulínovou rezistenci v neuronech (Mayer a Belsham 2010). Bylo prokázáno, že neurony mohou při vysokých koncentracích využít PA jako energetický substrát (Flores-León 2019). Palmitová kyselina několika mechanismy působí inzulínovou rezistenci v neuronech. Podílí se na tom produkce reaktivních forem kyslíku (ROS) a oxidační stres, aktivace proteinu MyD88, spojená s internalizací inzulínového receptoru, poklesem aktivity fosfofruktokinázy a GLUT3 (Sánchez Alegría a Arias 2022). Dalším mechanismem, kterým se PA podílí na vzniku neuronální inzulínové rezistence, je již zmíněná produkce ceramidů. Hladina palmitoyl-CoA, který aktivuje klíčový enzym serin-palmitoyl transferázu určuje úroveň syntézy ceramidů de novo. Ceramidy jsou signální molekulami, zúčastněné v pochodech, spojených s vývojem neuronů i jejich stárnutí a zániku (Sánchez Alegría a Arias 2022). Hromadění ceramidů v endoplasmatickém retikulu a mitochondriích působí buněčný stres a porušuje působení inzulínu (Chavez a Summers 2012). Ceramidy stimulují aktivaci fosfatasy 2A (PP2A), která defosforyluje klíčové aktivační zbytky AKT/protein kinasa PKB (Stratford et al. 2004) a aktivují proteinkinázu C theta PKCθ, která fosforyluje a rovněž inhibuje AKT/(PKB) a tak působí inzulínovou rezistenci a interferuje s antiapoptotickým působením inzulínu (Chaurasia et al. 2020). Akumulace ceramidů v astrocytech působí sekreci cytokinů TNFα and IL-1β, a aktivuje signální kaskádu v neuronech a zvýšenou expresi proamyloidogenního enzymu BACE-1 (Liu et al. 2013). Nasyčené mastné kyseliny s dlouhým řetězcem aktivují ještě ne zcela objasněným mechanismem TLR4 receptory v hypothalamu. Je aktivována cesta IKB kináza/ NF-κB i

JNK, s následným zvýšením exprese interleukinu (IL)-1 $\beta$ , IL-6, tumor nekrotizačního faktoru TNF $\alpha$  a dalších prozáněťových faktorů (Dionysopoulou et al. 2021). Aktivovány jsou i mikroglie. Hypothalamus je funkčně propojen s mnoha oblastmi mozku, např. s těmi spojenými s ovlivněním kognitivních funkcí a nálady, jako hippocampus, amygdala a okrsky mozkové kůry. Předpokládá se, že zánět v hypothalamu se podílí v patogenetických pochodech deprese (Miller a Raison 2016). Zvýšená hladina záněťových cytokinů může působit dysfunkci osy hypothalamus-hypofýza nadledvina s následnou zvýšenou hladinou CRF a kortisolu, jak je pozorována u deprese (Pariante a Lightman 2008). Na rozdíl od nasycených mastných kyselin, jako je palmitová a stearová, MUFA a PUFA neaktivují signální cesty regulované TLR4 a naopak působí v tomto smyslu protektivně (Valdearcos et al. 2015). Palmitová kyselina v hypothalamu aktivuje receptory FFAR1/GPR40, což působí dysregulaci autofagie a snižuje inzulinovou senzitivitu hypothalamických neuronů. Na druhou stranu aktivace GPR40 kyselinou dokosaheptaenovou brání nepříznivým účinkům zánětu a inzulinové rezistence v mozku (Sánchez Alegría a Arias 2022).

### **Monoenové mastné kyseliny s dlouhým řetězcem**

Monoenové mastné kyseliny mají v mozku významné zastoupení. Jednotlivé oblasti mozku se jejich obsahem, zejména poměru MUFA k PUFA, liší. Nejvyšší obsah při vyjádření v mol % mají v mozku tyto mastné kyseliny: FA 18:1n-9, FA 20:1n-9, FA 20:4n-6, FA 22:4n-6, a FA 22:6n-3. Kyselina olejová (18:1 n-9) je obsažena nejvíce (mezi 24-36 %), zatímco kyselina dokosaheptaenová (DHA, 22:6n-3) a arachidonová (20:4n-6) jsou převládajícími PUFA ve všech oblastech mozku, se společným obsahem cca 5 až 16 mol % (Naudí et al. 2017). Předpokládá se, že vysoký obsah kyseliny olejové v mozku je důsledkem vývojové adaptace, která snižuje náchylnost buněčných membrán k oxidačnímu stresu, jelikož OA je mnohonásobně odolnější vůči oxidační modifikaci než mastné kyseliny s více dvojnými vazbami. Přítomnost OA v membránách neuronů přispívá k ochraně před oxidací lipidů bez současného snížení membránové fluidity (Hulbert 2021). Během vývoje mozku je OA využívána k tvorbě myelinu, podporuje růst axonů a dendritů, migraci neuronů a tvorbu synapsí (Song et al. 2019). Experimentální práce ukazují, že kyselina olejová hraje roli v příznivém ovlivnění inzulinové citlivosti v mozku. V experimentu zvýšené hladiny OA v mozkomíšním likvoru vedou k poklesu příjmu potravy spojenému se signalizací cestou receptoru melanocortinu 4 v hypothalamu (Chudoba et al. 2019). Kyselina olejová, podávaná současně s kyselinou palmitovou (PA) mění metabolický osud PA tak, že zvyšuje její inkorporaci do TG a zvyšuje expresi genů určujících mitochondriální beta-oxidaci. Tak brání akumulaci DAG a aktivaci proteinkinázy C, která působí inzulinovou rezistencí v mozku (Coll et al. 2008). Výsledky klinických a experimentálních studií ukazují na pravděpodobný příznivý ovlivnění patofyziologie neuropsychiatrických onemocnění. V mozcích pacientů s Alzheimerovou nemocí i depresí byl prokázán pokles obsahu OA (Martín et al. 2010, Hamazaki et al. 2012). V experimentu na hlodavčích modelech Alzheimerovy nemoci kyselina olejová redukovala amyloidózu a snižovala toxické účinky 7-ketocholesterolu, markeru lipoperoxidace, který je u neurodegenerativních onemocnění zvýšen (Song et al. 2019). V některých klinických studiích požívání tradiční středomořské stravy, která obsahuje významný podíl MUFA, zejména OA, bylo spojeno s pomalejším věkem podmíněným úbytkem kognitivních funkcí a se sníženým rizikem rozvoje Alzheimerovy demence (Morris et al., 2015). Byly také prokázány neuroprotektivní účinky OA u experimentální mozkové ischemie, pravděpodobně spojené s aktivací PPAR- $\gamma$  a následnou protizáněťovou signalizací (Song et al. 2019).

### Polynenasycené mastné kyseliny

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 (PUFAs), zejména kyselina dokosaheptaenová (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, (Bazinet a Layé 2014). Kyselina arachidonová je obsažena ve všech tkáních, zatímco DHA převažuje v šedé hmotě mozku, v sítnici a testes. Obsah AA a DHA v mozku přibývá zejména v období největšího růstu mozku, cca 3 měsíce před porodem a krátce v postnatálním období (Wainwright 2002). Nasycené a mononenasycené mastné kyseliny mohou být v mozku syntezovány de novo, zatímco PUFA se do CNS dostávají převážně z krevního oběhu. Mozková tkáň je vybavena enzymy, které jsou zapotřebí k tvorbě AA i DHA, ovšem přísun z oběhu je kvantitativně významnější (Bazinet a Layé 2014). Na počátku vývoje lidského organismu, se v mozku hromadí mastné kyseliny, nacházející se v myelinových pochvách, zejména kyselina olejová (OA, FA 18:1n-9). V posledním trimestru těhotenství se v mozku ve zvýšené míře hromadí PUFA, zejména DHA (Kuipers et al. 2012).

Mechanismy působení PUFA v CNS zahrnují hlavně: 1. ovlivnění vlastností membrán neuronů a složek, v nich obsažených; 2. ovlivnění nitrobuňkové signalizace, genové exprese a transkripce; 3. modulace imunitních a zánětlivých pochodů; 4. ovlivnění neurogeneze; 5. ovlivnění neurotransmise, zejména serotoninové a dopaminové (Zeman et al. 2012). DHA a AA jsou nejvíce zastoupené mastné kyseliny v mozku, kde mají role jak strukturální, tak 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 (Mallick et al. 2021). Je distribuována v okřscích mozkové kůry, v synaptických membránách, v mitochondriích sítnicových buněk a ve fotoreceptorech (Zhao et al. 2011), nejvíce je zastoupena ve fosfolipidech fosfatidylethanoaminech (PE) a fosfatidylserinech (PS). Zvýšený příjem DHA vede ke zvýšené tvorbě PS, které se účastní buňkové signalizace. Zvýšené hladiny PS usnadňují translokaci *raf-1* kinasy, protein-kinasy C a Akt do plazmatické membrány. Důsledkem těchto přesunů je pokles aktivace kaspasy-3, inhibice apoptózy a zvýšené přežívání neuronů (Marszalek a Lodish 2005). DHA ovlivňuje fluiditu a asymetrii membrán mozkových buněk, charakteristiky raftů s následným ovlivněním permeability pro malé molekuly a funkce membránových proteinů (Palacios et al. 2010, Díaz et al. 2021). DHA zvyšuje hladinu neurotrofinů, jako je BDNF (*brain derived neurotrophic factor*), zvyšuje expresi GLUT1 a usnadňuje vychytávání glukosy v mozku a podporuje funkci fotoreceptorů v sítnici (Palacios et al. 2010). Po odštěpení z fosfolipidu působením fosfolipasy A<sub>2</sub> je volná DHA prekurzorem dokosanoidů a elovanooidů (s 32 nebo 34 uhlíky v molekule), které mají neuroprotektivní účinek a chrání fotoreceptory (Bazan 2018) i dalších významných biologických mediátorů, jako jsou např. specializované pro-rezoluční mediátory (SPMs), epoxidy a větvené estery hydroxy mastných kyselin (Christie a Harwood 2020). Za účasti 12- a 15-lipoxygenas vznikají deriváty, (rezolviny, Rvs, neuroprotektiny, NP a mareziny, Mar) (Serhan et al. 2011). Rezolviny (*resolution-phase interaction products*) a dokosatrieny mají významné protizánětlivé a imunoregulační vlastnosti a antagonizují převážně prozánětlivé účinky derivátů AA (prostaglandinů, leukotrienů a tromboxanů) (Serhan et al. 2011). Rezolviny blokují tvorbu IL-1 v mikroglíích a snižují infiltraci mozku polymorfonukleáry. V experimentu DHA zvyšovala hladiny BDNF v mozku, který pozitivně ovlivňuje neurogenezi i přežívání neuronů (Mattson et al. 2004). Deriváty DHA snižují expresi prozánětlivých faktorů jako např. NFκβ, TLR4 a působí proti oxidačnímu stresu (Zhao et al. 2011, Mallick et al. 2021). Zánětlivé cytokiny, jako je interleukin-1 beta (IL-1β), IL-2, IL-6, interferon-gamma a tumor nekrotizující faktor alfa (TNFα) se uplatňují

v patogeneze neurodegenerativních onemocnění, jako jsou Alzheimerova demence nebo Parkinsonova choroba. Aktivují zde osu hypothalamus-hypofýza, snižují hladiny prekurzorů neurotransmitterů a působí změny metabolismu neurotransmitterů (Maes a Smith 1998). Neuroprotektin D<sub>1</sub> (NPD<sub>1</sub>) chrání neurony v procesu stárnutí a působí proti neurodegenerativním onemocněním zvýšenou expresí genů kodujících antiapoptotické proteiny BCL2 (B-cell lymphoma 2), BCLXL, BCL2A1 a současným poklesem exprese proapoptotických proteinů BAD (*BCL2-associated agonist of cell death*), BAX, BID a BIK (Lukiw et al. 2005, Bazan et al. 2011). NPD<sub>1</sub> upregulací receptorů PPAR $\gamma$  podporuje neamyloidogenní štěpení APP a snižuje amyloidogenní cestu downregulací  $\beta$ -APP (Zhao et al. 2011). Významným derivátem DHA je synaptamid (*N-docosahexaenylethanolamin*), strukturální analog *N*-arachidonylethanolaminu (anandamidu), endokannabinoidu tvořeného z arachidonové kyseliny. Synaptamid je mnohonásobně účinnějším promotorem neurogeneze, synaptogeneze a synaptické funkce, než samotná DHA (Kim a Spector 2013). Neenzymatickou oxidací vznikají z DHA neuroprostany s předpokládanými antioxidačními a neuroprotektivními účinky (Palacios et al. 2010). 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, endokannabinoidů, ligand receptorů aktivovaných peroxisomálními proliferátory (PPAR) či aktivátor proteinkinasy C (Hindenes et al. 2000). 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), synaptický přenos, funkční aktivitu receptorů (např. GABA receptory), podobně jako DHA má pozitivní neurotropní efekty (Talima et al. 2018, Biringer et al. 2019). AA je také prekurzorem kyseliny adrenové (FA 22:4n-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) (Talima et al. 2018). Po uvolnění z fosfolipidů působením PLA<sub>2</sub> je přeměňována na řadu metabolitů, často s prozánětlivými účinky (eikosanoidy, hydroxyeikosatetraeny – HETE, či hydroperoxyeikoísatetraeny – HPETE), ale i s účinky protizánětlivými (lipoxiny). AA má však i různé další funkce, které dosud nejsou objasněny do té 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 (Malick et al. 2021). Obsah AA v hippocampu koreloval s prostorovou pamětí a moduloval dlouhodobou potenciaci kaliovými kanály v postsynaptické membráně (Angelova a Müller 2009). AA také aktivuje protein syntaxin-3 v membráně neuronů, který se podílí na růstu a reparaci neuritů (Darios a Davletov 2006). Na druhou stranu je AA prekurzorem prostaglandinu E<sub>2</sub>, který se uplatňuje v patogenetických mechanismech neuropsychiatrických onemocnění (Bosetti et al. 2002). Volná AA ve vyšší koncentraci má v buňce proapoptotické účinky. Může být také neenzymaticky oxidována na izoprostany, které slouží jako biomarkery oxidačního stresu a jejich hladiny bývají zvýšeny u různých neurodegenerativních onemocnění (Biringer et al. 2019). Arachidonová kyselina stimuluje syntézu glutamátu, jehož nadbytek potencuje destrukci neuronů v důsledku nadprodukce kyslíkových radikálů. Poruchy metabolismu AA v mozku jsou popisovány u řady neurodegenerativních i psychiatrických onemocnění, např. u Alzheimerovy nemoci, schizofrenie či depresivní poruchy a dalších (Bosetti et al. 2002, Teismann et al. 2003, Sublette et al. 2004). Jak AA, tak i DHA jsou také prekurzory endokannabinoidů. Endokannabinoidy jsou vysoce lipofilní signální molekuly, které jsou uvolňovány z membránových fosfolipidů příslušnými lipasami po stimulaci buňky (Fišar 2006, Pertwee et al. 2010). Jsou součástí endokannabinoidního systému. Endokannabinoidní systém se skládá

z kanabinoidních receptorů CB<sub>1</sub> a CB<sub>2</sub> (patří mezi receptory spřažené s G-proteiny), vlastních endokanabinoidů, které jsou agonisty těchto receptorů a z enzymů, katalyzujících syntézu a metabolismus endokanabinoidů (Cristino et al. 2014). Aktivace CB<sub>1</sub> a CB<sub>2</sub> receptorů je spojena s modulací motivačních procesů, emocí, odpovědí na stres, bolest, energetické rovnováhy apod. Nejvíce prostudovanými endokanabinoidy jsou deriváty kyseliny arachidonové (2-arachidonoyl-glycerol, 2-AG) a anandamid (N-arachidonoyl-ethanolamid, AEA), které kromě CB<sub>1</sub> a CB<sub>2</sub> receptorů aktivují také vaniloidní receptory TRPV1 (*transient receptor potential cation channel subfamily V member 1*). Anandamid je také agonistou některých podtypů receptorů PPAR. K endokanabinoidům patří ovšem také deriváty jiných mastných kyselin, včetně PUFA n-3 (např. docosaheptaenoyl-ethanolamid, DHEA a eicosapentaenoyl-ethanolamide, EPEA) (Komarnytsky et al. 2021). Vztahy mezi endokanabinoidním systémem, PUFA n-3 a PUFA n-6 jsou komplexní. Např. dlouhodobá suplementace DHA a EPA snižuje hladiny AEA a 2-AG s recipročními vzestupy hladin analogických molekul odvozených z EPA a DHA a tak může ovlivňovat aktivitu CB<sub>1</sub> ve specifických oblastech mozku (prefrontální kortex, *nc. accumbens*) (Dyall 2017). Endokanabinoidní systém v organismu hraje významnou roli v regulaci energetické homeostázy. Působí v mozku, zejména v hypotalamu, mozkovém kmeni, kortikolimbickém systému a také v metabolicky relevantních periferních orgánech, jako játra, pankreas, kosterní sval a tuková tkáň (Cristino et al. 2014). V mozku jsou receptory CB<sub>1</sub> exprimovány zejména v neuronech, zatímco CB<sub>2</sub> receptory byly nalezeny zejména v gliích a mikrogliích (Bazinet a Layé 2014). Endokanabinoidy se v CNS podílejí na proliferaci neuronů, jejich diferenciaci, morfogenezi a synaptogenezi (Harkany et al. 2008), jsou klíčovými modulátory synaptických funkcí. Působí zejména jako retrográdní poslové na presynaptických receptorech CB<sub>1</sub>, suprimujících uvolňování neurotransmitterů, např. glutamátu, GABA, monoaminů, opioidů a acetylcholinu jak na excitačních tak i inhibičních synapsích. Modulací synaptických funkcí mohou endokanabinoidy v CNS regulovat potravní chování, kognitivní funkce nebo bolest (Castillo et al. 2012). Pro integritu synapsí má význam DHA tvorbou tzv. komplexu SNARE (akronym odvozený z "SNAP (Soluble NSF Attachment Protein) REceptor") (Bazinet a Layé 2014). Dysfunkce endokanabinoidního systému se může uplatňovat v patofyziologii neuropsychiatrických onemocnění, jako např. deprese (Rana et al. 2021). Přenos na synapsích modulují endokanabinoidy také působením na receptor TRPV1 (*transient receptor potential vanilloid type 1*), který je umístěn postsynapticky a na receptory na astrocytech. Podle Marrone et al. (2017) může TRPV1 v mozku působit jako potenciální detektor škodlivých podnětů a být klíčovým faktorem komunikace mezi neurony a mikroglii. V současné době jsou zkoumány možnosti modulace endokanabinoidního systému pro léčebné ovlivnění chronické bolesti, epilepsie, neurodegenerativních onemocnění a dalších (Lowe et al. 2021).

### **Mastné kyseliny s velmi dlouhým řetězcem – nasycené a monoenoové**

Pojmem mastné kyseliny s velmi dlouhým řetězcem (VLCFA) jsou označovány mastné kyseliny, které obsahují více než 22 uhlíků v molekule; někdy se sem zařazují i struktury s 22 uhlíky v molekule (Kyselová et al. 2022). VLCFA vznikají v endoplasmatickém retikulu z prekurzorových mastných kyselin čtyřstupňovým elongačním cyklem katalyzovaným enzymy uloženými v membránách. Jsou pak inkorporovány většinou do sfingolipidů, ale jsou přítomny i ve fosfatidylinositolu a také jako zásobní lipidy v tukových kapénkách; některé VLCFA jsou také prekurzory lipidových mediátorů (Erdbrügger a Fröhlich 2021). Mezi VLCFAs jsou nasycené MK (VLC-SFA) - např. kyselina lignocerová (FA 24:0), cerotová (FA 26:0), montanová (FA 28:0), mononenasycené (VLC-MUFA) – např. kyselina eruková (FA 22:1n-9), kyselina nervonová (FA 24:1 n-9) i polynenasycené (VLC-PUFA). Většina monoenoových a nasycených VLCFA je uložena ve sfingolipidech, což je heterogenní třída lipidů, jejichž základem je molekula 18 ti uhlíkatého alkoholu sfingosinu, který je syntezován

z palmitoyl-CoA a serinu enzymem serin palmitoyl-CoA transferáza (SPT). Acylací sfingosinu vzniká ceramid, Cer (N-acyl-sfingosin). Mastnou kyselinou je většinou nasycená nebo monoenoová mastná kyselina. Mastné kyseliny ve sfingolipidech se liší v jednotlivých tkáních. V nervovém systému neurony syntetizují zejména C 18 sfingolipidy, zatímco oligodendrocyty a Schwannovy buňky syntetizují převážně C 24 sfingolipidy (Sassa a Kihara 2014). Poruchy metabolismu VLCFA jsou spojeny s některými onemocněními. Známa je X-adrenoleukodystrofie (X-ALD), způsobená mutací genu *ABCD1* (*ATP binding cassette subfamily D member 1*), který kóduje ALD protein s následnou poruchou peroxisomální degradace VLCFA, kdy dochází akumulaci a další elongaci působením ELOVL1, ke hromadění produktů ve tkáních a k poškození tkání, např. destabilizaci multilamelární struktury myelinu. Akumulují se zejména FA 24:0, FA 26:0 a nejvíce FA 26:1 (Hama et al. 2020). V experimentu bylo zjištěno, že behenová (FA 22:0), lignocerová (FA 24:0) a cerotová (C24:0) mastná kyselina ve vyšších koncentracích měly toxický účinek na astrocyty, neurony a nejvíce na oligodendrocyty (Hein et al. 2008). Kyselina eruková (FA 22:1 n-9) je ligandem jaderného receptoru PPAR $\delta$ , jehož aktivace přímo inhibuje neuronální smrt, zvyšuje biogenezu mitochondrií, snižuje hladinu a neurotoxicitu vláken amyloidu  $\beta$  a podporuje myelinizaci (Altinoz a Ozpinar 2019). Kyselina eruková byla považována za toxickou látku, s negativními účinky na funkci myokardu a jaterní steatozu. V asijských zemích je však kyselina eruková běžně požívána v hořčičném nebo řepkovém oleji bez nepříznivých následků pro myokard. Kyselina eruková může být elongována na kyselinu nervonovou (FA 24:1 n-9), jež je základním prvkem pro strukturu myelinu, Možnosti využití kyseliny erukové v léčbě demyelinizačních onemocnění jsou zkoumány (Goyal et al. 2023). Kyselina nervonová hraje významnou roli v rozvoji mozku, její syntéza je klíčovým krokem v homeostáze myelinových pochv neuronů. Deficit kyseliny nervonové je prokázán u demyelinizačních onemocnění (Song et al. 2022). Kyselina nervonová se nachází jen v několika olejích (semena *Acer truncatum* – Javor uřatý, semena *Malaria oleifera* – Moringa olejodárná a v oleji ze žraloka) (Zhang et al. 2022).

### **Mastné kyseliny s velmi dlouhým řetězcem – polynenasycené**

V mozcích, sítnici a spermatozoích savců se nacházejí VLC-PUFA s více než 24 uhlíky. Fosfatidylcholin v mozku obsahuje n-3 i n-6 VLC-PUFAs, které mají čtyři až šest dvojných vazeb a až 38 uhlíků, vázané v *sn* – 1 pozici. Fosfatidylcholin v lidské sítnici obsahuje v *sn* – 1 pozici mastné kyseliny, mající až 36 uhlíků a 3 až 6 dvojných vazeb (Kihara 2012). V mozcích pacientů se Zellwegerovým syndromem (s deficitem peroxisomů) se nacházejí zvýšené koncentrace n-6 mastných kyselin, které mají v řetězci až 40 uhlíků a 5 až 6 dvojných vazeb (Poulos et al., 1988), což poukazuje na význam VLC-PUFA v mozku (Kihara 2012). Elongaci LC-PUFA a LC-SFA na VLC-PUFA a VLC-SFA zajišťuje enzym ELOVL (*Elongation of Very Long Chain-Fatty Acids*)<sup>4</sup>, který může dále řetězec prodlužovat až na deriváty s 38 uhlíky (Agbaga et al. 2010). ELOVL<sup>4</sup> je specializována pro syntézu tzv. „ultra dlouhých mastných kyselin“ (ULCFA), tedy mastných kyselin s více než 26 uhlíky v řetězci. ULC-PUFA v rozvíjejícím se i v dospělém mozku mají významné, dosud ne zcela známé funkce. Mutace genu pro ELOVL<sup>4</sup> odpovídá za autosomálně dominantní formu Stargardtovy makulární degenerace (STGD). Makulární degenerace je charakterizována degenerativními změnami fotoreceptorů a atrofií retinálních pigmentových epitelů (Karan et al. 2005) a je zjišťován deficit fosfatidylcholinů obsahujících ULC-PUFA s 32 až 36 uhlíky (McMahon et al. 2007). Pro normální funkci sítnice tedy není důležitá jen DHA, ale také ULC-PUFA. Velmi dlouhé polynenasycené mastné kyseliny v buňkách retinálního pigmentového epitelu s řetězci o 32-34 uhlících (FA 32:6n-3, FA 34:6n-3) jsou prekurzory mono- nebo di-

hydroxyderivátů, které jsou označovány jako elovanoidy (Bazan 2021). Elovanoidy mají významné cytoprotektivní účinky v sítnici i v mozku, podrobný přehled viz (Dyall et al. 2022).

*Práce byla podpořena MZ ČR-RVO-VFN64165 a Cooperatio 1. LF UK*

### Literatura

**Agbaga M., Mandal MN., Anderson RE.** Retinal very long chain PUFAs: new insights from studies on ELOVL4 protein. *J Lipid Res* 2010; 51(7): 1624-1642.

**Altinoz MA., Ozpınar A.** PPAR- $\delta$  and erucic acid in multiple sclerosis and Alzheimer's Disease. Likely benefits in terms of immunity and metabolism. *Int Immunopharmacol* 2019; 69: 245-256.

**Angelova PR., Müller WS.** Arachidonic acid potently inhibits both postsynaptic-type Kv4.2 and presynaptic-type Kv1.4 IA potassium channels. *Eur J Neurosci* 2009; 29(10): 1943-1950.

**Bazan NG.** Docosanoids and elovanooids from omega-3 fatty acids are pro-homeostatic modulators of inflammatory responses, cell damage and neuroprotection. *Mol Aspects Med* 2018; 64: 18-33.

**Bazinet RP., Layé S.** Polyunsaturated fatty acids and their metabolites in brain function and disease. *Nat Rev Neurosci* 2014; 15(12): 771-785.

**Biringer RG.** The Role of Eicosanoids in Alzheimer's Disease. *Int J Environ Res Public Health* 2019; 16(14): 2560.

**Blaak EE., Canfora EE., Theis S., et al.** Short chain fatty acids in human gut and metabolic health. *Benef Microbes* 2020; 11(5): 411-455.

**Bonfili L., Cecarini V., Berardi S., et al.** Microbiota modulation counteracts Alzheimer's disease progression influencing neuronal proteolysis and gut hormones plasma levels. *Sci Rep* 2017; 7(1): 1-21.

**Bosetti F., Rintala J., Seemann R., et al.** Chronic lithium downregulates cyclooxygenase-2 activity and prostaglandin E (2) concentration in rat brain. *Mol Psychiatry* 2002; 7(8): 845-850.

**Carta G., Murru E., Banni S., Manca C.** Palmitic Acid: Physiological Role, Metabolism and Nutritional Implications. *Front Physiol* 2017; 8: 902.

**Castillo PE., Younts TJ., Chávez AE., et al.** Endocannabinoid signaling and synaptic function. *Neuron* 2012; 76(1): 70-81.

**Coll T., Eyre E., Rodríguez-Calvo R., et al.** Oleate reverses palmitate-induced insulin resistance and inflammation in skeletal muscle cells. *J Biol Chem* 2008; 283(17): 11107-11116.

**Cristino L., Becker T., Di Marzo V.** Endocannabinoids and energy homeostasis: an update. *Biofactors* 2014; 40(4): 389-397.

**Darios F., Davletov B.** Omega-3 and omega-6 fatty acids stimulate cell membrane expansion by acting on syntaxin 3. *Nature* 2006; 440(7085): 813-817.

**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.

**Dionysopoulou S., Charmandari E., Bargiota A., et al.** The Role of Hypothalamic Inflammation in Diet-Induced Obesity and Its Association with Cognitive and Mood Disorders. *Nutrients* 2021; 13(2): 498.

**Dyall SC.** Interplay Between n-3 and n-6 Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids and the Endocannabinoid System in Brain Protection and Repair. *Lipids* 2017; 52(11): 885-900.

- Erdbrügger P., Fröhlich F.** The role of very long chain fatty acids in yeast physiology and human diseases. *Biol Chem* 2021; 402(1): 25-38.
- Erny D., De Angelis ALH., Jaitin D., et al.** Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS. *Nat Neurosci* 2015; 18(7): 965-977.
- Fišar Z.** Endokannabinoidy. *Chem Listy* 2006; 100(5): 314-322.
- Flores-León M., Pérez-Domínguez M., González-Barrios R., Arias C.** Palmitic Acid-Induced NAD<sup>+</sup> Depletion is Associated with the Reduced Function of SIRT1 and Increased Expression of BACE1 in Hippocampal Neurons. *Neurochem Res* 2019; 44(7): 1745-1754.
- Fröhlich EE., Farzi A., Mayerhofer R., et al.** Cognitive impairment by antibiotic-induced gut dysbiosis: analysis of gut microbiota-brain communication. *Brain Behav Immun* 2016; 56: 140-155.
- Fu SP., Liu BR., Wang JF., et al.**  $\beta$ -Hydroxybutyric acid inhibits growth hormone-releasing hormone synthesis and secretion through the GPR109A/extracellular signal-regulated 1/2 signalling pathway in the hypothalamus. *J Neuroendocrinol* 2015; 27(3): 212-222.
- Gautiar EL., Shay T., Miller J., et al.** Gene expression profiles and transcriptional regulatory pathways that underlie the identity and diversity of mouse tissue macrophages. *Nat Immunol* 2012; 13(11): 1118-1128.
- Govindarajan N., Agis-Balboa RC., Walter J., et al.** Sodium butyrate improves memory function in an Alzheimer's disease mouse model when administered at an advanced stage of disease progression. *J Alzheimers Dis* 2011; 26(1): 187-197.
- Goyal A., Dubey N., Verma A., Agrawal A.** Erucic Acid: A Possible Therapeutic Agent for Neurodegenerative Diseases. *Curr Mol Med* 2023; May 9.
- Hama K., Fujiwara Y., Takashima S., et al.** Hexacosenoyl-CoA is the most abundant very long-chain acyl-CoA in ATP binding cassette transporter D1-deficient cells. *J Lipid Res* 2020; 61(4): 523-536.
- Hamazaki K., Hamazaki T., Inadera H.** Fatty Acid Composition in the Postmortem Amygdala of Patients with Schizophrenia, Bipolar Disorder, and Major Depressive Disorder. *J Psychiatr Res* 2012; 46(8): 1024-1028.
- Harkany T., Keimpema E., Barabás K., et al.** Endocannabinoid functions controlling neuronal specification during brain development. *Mol Cell Endocrinol* 2008; 286(1-2 Suppl 1): S84-90.
- Hein S., Schönfeld P., Kahlert S., Reiser G.** Toxic effects of X-linked adrenoleukodystrophy-associated, very long chain fatty acids on glial cells and neurons from rat hippocampus in culture. *Hum Mol Genet* 2008; 17(12): 1750-1761.
- 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.
- Ho L., Ono K., Tsuji M., et al.** Protective Roles of Intestinal Microbiota derived Short Chain Fatty Acids in Alzheimer's Disease-type Beta-Amyloid Neuropathological Mechanisms. *Expert Rev Neurother* 2018; 18(1): 83-90.
- Hoyles L., Snelling T., Umlai U-K., et al.** Microbiome-host systems interactions: protective effects of propionate upon the blood-brain barrier. *Microbiome* 2018; 6(1): 55.
- Hulbert AJ.** The under-appreciated fats of life: the two types of polyunsaturated fats. *J Exp Biol* 2021; 224(8): jeb232538.
- Chaurasia B., Talbot CL., Summers SA.** Adipocyte Ceramides-The Nexus of Inflammation and Metabolic Disease. *Front Immunol* 2020; 11: 576347.



- Chavez JA., Summers SA.** Characterizing the effects of saturated fatty acids on insulin signaling and ceramide and diacylglycerol accumulation in 3T3-L1 adipocytes and C2C12 myotubes. *Arch Biochem Biophys* 2003; 419(2): 101-109.
- Chen H., Meng L., Shen L.** Multiple roles of short-chain fatty acids in Alzheimer disease. *Nutrition* 2022; 93: 111499.
- Christie WW., Harwood JL.** Oxidation of polyunsaturated fatty acids to produce lipid mediators. *Essays Biochem* 2020; 64(3): 401-421.
- Chudoba C., Wardelmann K., Kleinridders A.** Molecular effects of dietary fatty acids on brain insulin action and mitochondrial function. *Biol Chem* 2019; 400(8): 991-1003.
- Jenkins B., West JA., Koulman A.** A review of odd-chain fatty acid metabolism and the role of pentadecanoic Acid (c15:0) and heptadecanoic Acid (c17:0) in health and disease. *Molecules* 2015; 20(2): 2425-2444.
- Karan G., Lillo C., Yang Z., et al.** Lipofuscin accumulation, abnormal electrophysiology, and photoreceptor degeneration in mutant ELOVL4 transgenic mice: a model for macular degeneration. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(11): 4164-4169.
- Kihara A.** Very long-chain fatty acids: elongation, physiology and related disorders. *J Biochem* 2012; 152(5): 387-395.
- Kim HY., Spector AA.** Synaptamide, endocannabinoid-like derivative of docosahexaenoic acid with cannabinoid-independent function. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2013; 88(1): 121-125.
- Kimura I., Ichimura A., Ohue-Kitano R., Igarashi M.** Free Fatty Acid Receptors in Health and Disease. *Physiol Rev* 2020; 100(1): 171-210.
- Koh A., De Vadder F., Kovatcheva-Datchary P., Bäckhed F.** From Dietary Fiber to Host Physiology: Short-Chain Fatty Acids as Key Bacterial Metabolites. *Cell* 2016; 165(6): 1332-1345.
- Komarnytsky S., Rathinasabapathy T., Wagner C., et al.** Endocannabinoid System and Its Regulation by Polyunsaturated Fatty Acids and Full Spectrum Hemp Oils. *Int J Mol Sci* 2021; 22(11): 5479.
- Kuipers RS., Luxwolda MF., Offringa PJ., et al.** Gestational age dependent changes of the fetal brain, liver and adipose tissue fatty acid compositions in a population with high fish intakes. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2012; 86: 189-199.
- Kyselová L., Vítová M., Řezanka T.** Very long chain fatty acids. *Prog Lipid Res* 2022; 87: 101180.
- Liu L., Martin R., Chan C.** Palmitate-activated astrocytes via serine palmitoyltransferase increase BACE1 in primary neurons by sphingomyelinases. *Neurobiol Aging* 2013 ;34(2): 540-550.
- Li W., Wu X., Hu X., et al.** Structural changes of gut microbiota in Parkinson's disease and its correlation with clinical features. *Sci China Life Sci* 2017; 60(11): 1223-1233.
- Li Z., Yi CX., Katiraei S., et al.** Butyrate reduces appetite and activates brown adipose tissue via the gut-brain neural circuit. *Gut* 2018; 67(7): 1269-1279.
- Lowe H., Toyang N., Steele B., et al.** The Endocannabinoid System: A Potential Target for the Treatment of Various Diseases. *Int J Mol Sci* 2021; 22(17): 9472.
- Lukiw WJ., Cui JG., Marcheselli VL., et al.** A role for docosahexaenoic acid-derived neuroprotectin D1 in neural cell survival and Alzheimer disease. *J Clin Invest* 2005; 115(10): 2774-2783.
- Lymperopoulos A., Suster MS., Borges JL.** Short-Chain Fatty Acid Receptors and Cardiovascular Function. *Int J Mol Sci* 2022; 23(6): 3303.

- Maes M., Smith RS.** Fatty acids, cytokines, and major depression. *Biol Psychiatry* 1998; 43(5): 313-314.
- 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.
- Marrone MC., Morabito A., Giustizieri M., et al.** TRPV1 channels are critical brain inflammation detectors and neuropathic pain biomarkers in mice. *Nat Commun* 2017; 8: 15292.
- Marszalek JR., Lodish HF.** Docosahexaenoic acid, fatty acid-interacting proteins, and neuronal function: breastmilk and fish are good for you. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2005; 21: 633-657.
- 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.
- Mattson MP., Maudsley S., Martin B.** BDNF and 5-HT: a dynamic duo in age-related neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neurosci* 2004; 27(10): 589-594.
- Mayer CM., Belsham DD.** Palmitate attenuates insulin signaling and induces endoplasmic reticulum stress and apoptosis in hypothalamic neurons: rescue of resistance and apoptosis through adenosine 5' monophosphate-activated protein kinase activation. *Endocrinol* 2010; 151(2): 576-585.
- McMahon A., Jackson SN., Woods AS., Kedzierski WA.** Stargardt disease-3 mutation in the mouse *Elovl4* gene causes retinal deficiency of C32-C36 acyl phosphatidylcholines. *FEBS Lett* 2007; 581(28): 5459-5463.
- Mensink RP.** Effects of the individual saturated fatty acids on serum lipids and lipoprotein concentrations. *Am J Clin Nutr* 1993; 57(5 Suppl): 711S-714S.
- Miller AH., Raison CL.** The role of inflammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target. *Nat Rev Immunol* 2016; 16(1): 22-34.
- Montesinos J., Guardia-Laguarta C., Area-Gomez E.** The fat brain. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2020; 23(2): 68-75.
- Morris MC., Tangney CC., Wang Y., et al.** MIND diet associated with reduced incidence of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2015; 11(9): 1007-1014.
- Nagpal R., Neth BJ., Wang S., et al.** Modified Mediterranean-ketogenic diet modulates gut microbiome and short-chain fatty acids in association with Alzheimer's disease markers in subjects with mild cognitive impairment. *EBioMedicine* 2019; 47: 529-542.
- Naudí A., Cabré R., Ayala V., et al.** Region-specific vulnerability to lipid peroxidation and evidence of neuronal mechanisms for polyunsaturated fatty acid biosynthesis in the healthy adult human central nervous system. *Biochim. Biophys. Acta-Mol. Cell Biol Lipids* 2017; 1862(5): 485-495.
- 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.
- Pariante CM., Lightman SL.** The HPA axis in major depression: classical theories and new developments. *Trends Neurosci* 2008; 31(9): 464-468.
- Patnala R., Arumugam TV., Gupta N., Dheen ST.** HDAC inhibitor sodium butyrate-mediated epigenetic regulation enhances neuroprotective function of microglia during ischemic stroke. *Mol Neurobiol* 2017; 54(8): 6391-6411.
- Peng H., Ouyang L., Li D., et al.** Short-chain fatty acids in patients with schizophrenia and ultra-high risk population. *Front Psychiatry* 2022; 13: 977538.

- Pertwee RG., Howlett AC., Abood ME., et al.** International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIX. Cannabinoid receptors and their ligands: beyond CB<sub>1</sub> and CB<sub>2</sub>. *Pharmacol Rev* 2010; 62(4): 588-631.
- Poulos A., Sharp P., Johnson D., Easton C.** The occurrence of polyenoic very long chain fatty acids with greater than 32 carbon atoms in molecular species of phosphatidylcholine in normal and peroxisome-deficient (Zellweger's syndrome) brain. *Biochem J* 1988; 253(3): 645-650.
- Rana T., Behl T., Sehgal A., et al.** Integrating Endocannabinoid Signalling In Depression. *J Mol Neurosci* 2021; 71(10): 2022-2034.
- Resende WR., Valvassori SS., Réus GZ., et al.** Effects of sodium butyrate in animal models of mania and depression: implications as a new mood stabilizer. *Behav Pharmacol* 2013; 24(7): 569-579.
- Rocha DM., Caldas APOD., Oliveira LL., et al.** Saturated fatty acids trigger TLR4-mediated inflammatory response. *Atherosclerosis* 2016; 244: 211-215.
- Romano A., Koczwara JB., Gallelli CA., et al.** Fats for thoughts: An update on brain fatty acid metabolism. *Int J Biochem Cell Biol* 2017; 84: 40-45.
- Sánchez-Alegría K., Arias C.** Functional consequences of brain exposure to saturated fatty acids: From energy metabolism and insulin resistance to neuronal damage. *Endocrinol Diabetes Metab* 2023; 6(1): e386.
- Sassa T., Kihara A.** Metabolism of very long-chain Fatty acids: genes and pathophysiology. *Biomol Ther (Seoul)* 2014; 22(2): 83-92.
- Savignac HM., Corona G., Mills H., et al.** Prebiotic feeding elevates central brain derived neurotrophic factor, N methyl-d-aspartate receptor subunits and d-serine. *Neurochem Int* 2013; 63(8): 756-764.
- 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.
- Schönfeld P., Reiser G.** How the brain fights fatty acids' toxicity. *Neurochem Int* 2021; 148: 105050.
- Silva YP., Bernardi A., Frozza RL.** The Role of Short-Chain Fatty Acids From Gut Microbiota in Gut-Brain Communication. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2020; 11: 25.
- Skonieczna-Zydecka K., Grochans E., Maciejewska D., et al.** Faecal short chain fatty acids profile is changed in Polish depressive women. *Nutrients* 2018; 10(12): E1939.
- Song J., Kim YS., Lee DH., et al.** Neuroprotective effects of oleic acid in rodent models of cerebral ischaemia. *Sci Rep* 2019; 9(1): 10732.
- Song W., Zhang K., Xue T., et al.** Cognitive improvement effect of nervonic acid and essential fatty acids on rats ingesting *Acer truncatum* Bunge seed oil revealed by lipidomics approach. *Food Funct* 2022; 13(5): 2475-2490.
- Stratford S., Hoehn KL., Liu F., Summers SA.** Regulation of insulin action by ceramide: dual mechanisms linking ceramide accumulation to the inhibition of Akt/protein kinase B. *J Biol Chem* 2004; 279(35): 36608-36615.
- Sublette ME., Russ MJ., Smith GS.** Evidence for a role of the arachidonic acid cascade in affective disorders: a review. *Bipolar Disord* 2004; 6(2): 95-105.
- Sun J., Wang F., Hong G., et al.** Antidepressant like effects of sodium butyrate and its possible mechanisms of action in mice exposed to chronic unpredictable mild stress. *Neurosci Lett* 2016; 618: 159-166.
- Takagi R., Sasaki K., Sasaki D., et al.** (2016) A Single-Batch Fermentation System to Simulate Human Colonic Microbiota for High-Throughput Evaluation of Prebiotics. *PLoS ONE* 2016; 11(8): e0160533.

- Tallima H., El Ridi R.** Arachidonic acid: Physiological roles and potential health benefits - A review. *J Adv Res* 2017; 11: 33-41.
- Teismann P., Vila M., Choi DK., et al.** COX-2 and neurodegeneration in Parkinson's disease. *Ann NY Acad Sci* 2003; 991: 272-277.
- Unger MM., Spiegel J., Dillmann KU., et al.** Short chain fatty acids and gut microbiota differ between patients with Parkinson's disease and age-matched controls. *Park Relat Disord* 2016; 32: 66-72.
- Valdearcos M., Xu AW., Koliwad SK.** Hypothalamic inflammation in the control of metabolic function. *Ann Rev Physiol* 2015; 77: 131-160.
- Valvassori S., Resende W., Budni J., et al.** Sodium butyrate, a histone deacetylase inhibitor, reverses behavioral and mitochondrial alterations in animal models of depression induced by early- or late-life stress. *Curr Neurovasc Res* 2015; 12(4): 312-320.
- Vesga-Jiménez DJ., Martín C., Barreto GE., et al.** Fatty Acids: An Insight into the Pathogenesis of Neurodegenerative Diseases and Therapeutic Potential. *Int J Mol Sci* 2022; 23(5): 2577.
- Wainwright P.** Dietary essential fatty acids and brain function: A developmental perspective on mechanisms. *Proc Nutr Soc* 2002; 61(1): 61-69.
- Xiao S., Jiang S., Qian D., Duan J.** Modulation of microbially derived short-chain fatty acids on intestinal homeostasis, metabolism, and neuropsychiatric disorder. *Appl Microbiol Biotechnol* 2020; 104(2): 589-601.
- Zeman M., Jiráček 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.
- Zhang L., Wang Y., Xiayu X., et al.** Altered gut microbiota in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Alzheimer's Dis* 2017; 60(4):1241-1257.
- Zhang Y., Yang C., Xia J., et al.** Overproducing nervonic acid by synergism of fatty acid elongases in engineered *Saccharomyces cerevisiae*. *Process Biochem* 2022; 122(Part 1): 341-346.
- Zhao Y., Calon F., Julien C., et al.** Docosahexaenoic acid-derived neuroprotectin D1 induces neuronal survival via secretase- and PPAR $\gamma$ -mediated mechanisms in Alzheimer's disease models. *PLoS One* 2011; 6(1): e15816.

## MENTÁLNÍ ANOREXIE - VÝSLEDKY PILOTNÍ STUDIE A KOMENTOVANÝ PŘEHLED SE ZAMĚŘENÍM NA MASTNÉ A ŽLUČOVÉ KYSELINY

### ANOREXIA NERVOSA – RESULTS OF A PILOT STUDY AND NARRATIVE REVIEW FOCUSING ON FATTY AND BILE ACIDS

<sup>1/</sup>A. Žák, <sup>1/</sup>M. Floriánková, <sup>1,3/</sup>M. Vecka, <sup>2/</sup>P. Szitanyi, <sup>4/</sup>M. Burda, <sup>1,3/</sup>B. Staňková, <sup>2/</sup>P. Uhlíková

<sup>1/</sup> IV. interní klinika, 1. Lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Všeobecná fakultní nemocnice v Praze

<sup>2/</sup> Klinika pediatrie a dědičných metabolických chorob, 1. Lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Všeobecná fakultní nemocnice v Praze

<sup>3/</sup> Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky, 1. Lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Všeobecná fakultní nemocnice v Praze

<sup>4/</sup> Ústav pro výzkum a aplikaci fuzzy modelování, Ostravská Univerzita

#### Abstract

Anorexia nervosa (AN) is frequently associated with dyslipidemia and distorted fatty acid (FA) metabolism. Gut microbiota is supposed to be an important factor in the etiopathogenesis of AN. It significantly affects the size and composition of bile acid (BA) pool and BA plasma composition. Apart from digestive function of BAs, these compounds have multiple metabolic functions, due to activation of specific receptors (FXR, TGR5).

**Objective/aims:** The aims of the study were to investigate biochemical measures including plasma lipids (lipoproteins, respectively), fatty acid (FA) patterns, and profile of plasma BAs in AN patients and healthy controls (CON). Furthermore, using multiple linear regression analysis, concentrations of plasma lipids/lipoproteins (as dependent variables) and levels of individual FAs (as independent variables) were studied in both groups (i.e., AN, CON).

**Methods/Results:** Plasma phospholipid FA profiles were analyzed in 39 females with restrictive type of AN (AN-R; median age 17 years), and in 35 CON females (median age 20 years). Subjects with AN had statistically significant decreased body mass index (BMI), both fat mass index (FMI) and lean body mass index (LBMI), thyroid hormones, resting energy expenditure (REE), insulin and HOMA-IR. Furthermore, in comparison with CON, AN had increased concentration of HDL-C (1.56 vs 28, mmol/l,  $P < 0.001$ ), increased level of palmitic acid (29.532 vs 26.813, mol%,  $P < 0.05$ ) and a decreased proportion of linoleic acid (23.653 vs 25.529, mol%,  $P < 0.05$ ). Moreover, AN had a drop in level of the sum of PUFA n-6 (38.365 vs 39.819, mol%,  $P < 0.001$ ) and increased delta 9 desaturase activity for stearic acid (0.908 vs 0.811, ratio,  $P < 0.01$ ). In AN, we found decreased levels of plasma tauroursodeoxycholic acid both in absolute (0.003 vs 0.010,  $\mu\text{mol/L}$ ,  $P < 0.05$ ) and relative values (0.140 vs 0.397, mol%,  $P < 0.05$ ). In AN concentration of 22:5n-6, 16:0, 20:3n-6 and FMI were significant independent variables for HDL-C levels ( $R^2=65.8$ , %). Coefficients of determination of total cholesterol (LDL-C, resp.) ( $R^2=53.0$ ; 57.7, resp., %) were independently influenced by proportion of 22:4n-6 and 18:1n-9. Ratio of LDL/HDL is independently influenced by 22:4n-6 ( $R^2=53.7$  %). In CON, HDL-C level is independently influenced by 20:0 ( $R^2=38.9$  %), total cholesterol (LDL-C, resp.) by 16:0 and the sum of PUFA n-6 ( $R^2=67.6$ , 80.0, resp., %), LDL-C/HDL-C by 16:0 ( $R^2=67.4$ , %). ApoB was independently influenced by 16:0, 18:2n-6, 20:4n-6, 20:0 and BMI ( $R^2=78.0$  %).

**Conclusion:** Patient with AN-R revealed increased concentration of HDL-C, decreased levels of the total PUFA n-6, and increased activity of delta 9 desaturase for stearic acid. Furthermore, AN exerts

decreased levels of tauroursodeoxycholic acid. HDL-C level is determined by 65.8 % by levels of 22:5n-6, 20:3n-6, 16:0 and FMI. TC, LDL-C, and ratio LDL-C/HDL-C were influenced by 22:4n-6, 18:1-9. In conclusion, in AN group increased HDL-C levels. were associated with specific FA pattern. Moreover, AN group was found decreased plasma tauroursodeoxycholic acid levels.

**Keywords:** anorexia nervosa, lipids and lipoproteins, fatty acid pattern, plasma bile acid composition, multiple linear regression analysis; long-chain polyunsaturated fatty acids of n-6 family

## Úvod

**Charakteristika poruchy.** Mentální anorexie (AN, anorexia nervosa) je závažné psychiatrické onemocnění charakterizované výrazným omezením příjmu potravy, intenzivním strachem z přírůstku hmotnosti a zkresleným vnímáním tvaru vlastního těla. Chronické hladovění vede k závažné ztrátě tělesné hmotnosti na úkor ztráty tukové tkáně [DSM-5, 2013]. AN má zvyšující se prevalenci a postihuje především mladé ženy; k nástupu AN dochází obvykle mezi 15-25 rokem. AN se vyskytuje během života až u 4 % žen a 0,2 % mužů [Bulik et al., 2019]. V běžné populaci se prevalence AN odhaduje na 1,7 % [Smink et al., 2014]. Jedná se o onemocnění s častými relapsy (až 50 %) a nejistou prognózou. AN představuje nejčastější poruchu příjmu potravy s nejvyšší mortalitou [Katzman et al., 2005].

**Etiologie a patogeneza.** Do současnosti etiologie AN zůstává nejasná. Předpokládá se multifaktoriální příčina s významným podílem genetických faktorů i činitelů zevního prostředí. Mezi hlavní rizikové faktory predisponující k rozvoji AN patřily environmentální a sociální aspekty (životní styl a strava, sociální síť, nepříznivé rodinné prostředí atd.), biologické vlivy (pohlaví, etnický původ, sexuální vývoj a složení střevní mikroflóry), psychologické rysy (úzkost, deprese, perfekcionismus, nízké sebevědomí, obsedantně-kompulzivní porucha), stejně jako genetické faktory [Watson et al., 2019; Mayo-Martinez et al., 2021]. Heritabilita AN kolísá mezi 20 – 58 % [Mack et al., 2022].

**Komorbidity.** Energetická restrikce a malnutrice mají u pacientů s AN velký dopad na řadu orgánů a systémů. Pacienti s AN vykazují četné psychiatrické i somatické komorbidity související s chronickým hladověním a změněným stravovacím chováním. Mezi nejčastější psychiatrické komorbidity patří poruchy nálady, obsedantně-kompulzivní porucha, charakteristické osobnostní rysy (úzkost, deprese, perfekcionismus, nízké sebevědomí), užívání návykových látek a neuro-psychiatrické vývojové poruchy (autistické spektrum, ADHD – porucha pozornosti s hyperaktivitou) [Frostad, 2022]. Dále je AN spojena s řadou somatických komorbidit. Fenotyp AN závisí na mnoha faktorech, jako je věk při nástupu AN, trvání a závažnost onemocnění [Katzman et al., 2005; Frostad, 2022; Winston, 2012]. Ze somatických komorbidit nejzávažnější jsou srdeční komplikace (Tabulka 1).

**Dyslipidémie** (hypercholesterolemie) je častou biochemickou abnormalitou zjišťovanou u mentální anorexie (AN). Hypercholesterolemie byla u AN popsána již v polovině 60. let 20. století [Klinefelter, 1965]. Studie publikované v dalších letech zjistily, že hypercholesterolemie se vyskytuje u 20 - 50 % pacientů s AN [Mordasini a kol., 1978, Mira a kol., 1987; Gotto a Pownall, 1999]. Hypercholesterolemie u AN je podmíněna zvýšenou koncentrací HD-cholesterolu (HDL-C) [Arden et al., 1990], případně HDLC- a VLDL-C [Žák et al., 2005]. U normolipidemických pacientů s AN byly popsány posuny spektra lipoproteinů k aterogenním podtřídám [Stadler et al., 2022]. Rozsáhlá metaanalýza analyzující účinky AN na plazmatické lipidy ukázala, že nemocní pacienti s AN měli v porovnání se zdravými kontrolami v průměru zvýšené hladiny celkového cholesterolu (TC) o 0,60 mmol/l, LDL-cholesterolu o 0,32, HDL-C o 0,09 a TG o 0,09 mmol/l [Hussain et al., 2019]. Příčiny hypercholesterolemie u AN nejsou dosud zcela objasněny. Hypercholesterolemie je

pravděpodobně důsledkem zvýšené absorpce cholesterolu [Zak et al., 2005; Nestel et al., 1974]., nicméně narušené hormonální prostředí (hyper-kortizolémie, vzestup reverzního trijodtyroninu a dalších hormonů) by mohlo přispívat k rozvoji dyslipidémie [Hussain et al., 2019; Feillet et al., 2000]. Obnovení tělesné hmotnosti normalizovalo plazmatické lipidy (resp. lipoproteiny) [Hussain et al., 2019; Föcker et al., 2021].

**Dysregulace metabolismu mastných kyselin** (FAs, fatty acids) spojená se změnou spektra FAs v základních lipidových třídách esterifikovaných FAs, je charakteristickým rysem chorob jako je obezita a mentální anorexie [Yehuda a Rabinowitz, 2016; Kunešová et al., 2002]. Publikované změny profilu FAs u AN závisí na způsobu analýzy FAs, konkrétně zda jsou koncentrace individuálních FAs měřeny v mol % nebo v absolutních koncentracích. Konzistentním nálezem změn FAs u AN jsou odchylky ve složení polyenových mastných kyselin s dlouhým řetězcem (LC-PUFA) [Shih et al., 2017; Shimizu et al., 2020; Satogami et al., 2019]. Někteří autoři prokázali u AN pokles PUFA řady n-3 [Nguyen et al., 2019; Caspar-Bauguil et al., 2012]. V jiných studiích byl naopak nalezen pokles LC-PUFA řady n-6 [Satogami et al., 2019; Shimizu et al., 2020]. Metaanalýza zkoumající složení PUFA u AN zjistila, ve srovnání s kontrolami, vyšší plazmatické hladiny kyseliny ALA (18:3n-3), EPA (20:5n-3), kyseliny stearidonové (20:4n-3), kyseliny osbondové (22:5n-6), kyseliny palmitolejové (POA, 16:1n-7), kyseliny olejové (OA, 18:1n-9) a celkových PUFA řady n-3 v kombinaci s nižšími hladinami celkových PUFA řady n-6 a poměru řady n-6/n-3. Dále byl prokázán pokles koncentrace kyseliny adrenové (22:4n-6), kyseliny arachidonové (20:4n-6) a celkových PUFA n-6 ve fosfolipidech erytrocytárních membrán [Satogami et al., 2019].

**Střevní mikrobiota a žlučové kyseliny.** Střevní dysbióza (narušená velikost a složení střevní mikrobioty) ovlivňuje negativně přenos signálů mezi střevem, pankreatem, mozkem a tukovou tkání. Střevní mikrobiota syntetizují řadu sloučenin, jako jsou hormony, neurotransmitery a mastné kyseliny s krátkým řetězcem, které ovlivňují propustnost střevní a hematoencefalické bariéry, subklinický zánět střeva a CNS i expresi hormonů a neurotransmiterů ovlivňujících chuť k jídlu a sytost [Butler et al., 2022].

Střevní mikroflóra významně ovlivňuje také velikost *poolu* a složení žlučových kyselin. Žlučové kyseliny (BAs, bile acids) jsou v současné době považovány za signální molekuly s pleiotropními fyziologickými funkcemi. BAs integrují metabolismus lipidů, glukózy a energie. Řídí gastrointestinální motilitu, zánět, velikost a diverzitu střevní mikrobioty.

*Pool* žlučových kyselin je udržován účinnou enterohepatální cirkulací a aktivní reabsorpcí BAs v terminálním ileu, které konzervují 90 – 95 % množství BAs [Wei et al., 2020].

Malá část BAs, která unikne z enterohepatální recirkulace, přechází do systémové cirkulace. Zde BAs aktivují specifické receptory v řadě orgánů a tkání. Střevní mikrobiota regulují syntézu a diverzitu BAs, a naopak velikost BA *poolu* a jeho složení ovlivňuje složení střevní mikrobioty [Shapiro et al., 2018; Li et al., 2021, Winston a Theriot, 2020].

Je známo, že změny složení plazmatických BAs dosud nebyly u AN studovány.

**Cíl studie.** Cílem studie bylo analyzovat (1) klinická a biochemická data včetně spektra plazmatických lipidů/lipoproteinů; (2) složení plazmatických BAs u pacientů s AN a zdravých kontrol; (3) pomocí vícenásobné lineární regresní analýzy určit závislost koncentrace plazmatických lipidů/lipoproteinů (jako závislé proměnných) na hladinách jednotlivých FAs, glukózy, insulinu a antropometrických ukazatelů (jako nezávislé proměnných).

## **Materiál a metody**

**Uspořádání studie a vyšetřované osoby.** Tato průřezová studie byla realizována na Klinice dětského věku a dědičných metabolických poruch a 4. interní klinice 1. LF UK a VFN v Praze. Zahrnovala 39 žen s restriktivním typem mentální anorexie (AN-R), které byly

rekrutovány z konsekutivně vyšetřených ambulantních pacientek, a probíhala od září 2018 do srpna 2022. Kontrolní skupina sestávala z 35 zdravých žen stejného věku (CON). Všechny zkoumané ženy byly indo-evropského původu. Pacientky s AN-R splňovaly kritéria onemocnění podle Diagnostického a statistického manuálu duševních chorob [DSM-V, 2013] a diagnóza byla potvrzena dvěma nezávislými dětskými psychiatry. Vzorky byly označeny jedinečnými anonymizovanými identifikačními čísly a data byla sloučena až po dokončení testů. Protokol studie byl schválen Etickou komisí Všeobecné fakultní nemocnice v Praze (rozhodnutí č. 611/18 S; 2018) a proveden v souladu se zásadami Helsinské deklarace. Od všech účastníků byl získán písemný informovaný souhlas. Lékařské vyšetření bylo provedeno v akutní fázi onemocnění. V době vyšetření pacientky netrpěly žádnou somatickou poruchou. Bulimický typ anorexie byl vyloučen. Dalšími vylučovacími kritérii byla chronická somatická onemocnění, duševní a neuro-vývojové poruchy (zvl. primární onemocnění ve vztahu k poruchám příjmu potravy), dědičné poruchy (jako familiární hypercholesterolemie), farmakoterapie, hormonální terapie, těhotenství, antikoncepce, doplňky stravy a kouření. Pacientky i kontroly neužívaly žádné léky, které ovlivňují metabolismus lipidů a lipoproteinů, vitamíny, antioxidanty a doplňky stravy obohacené o PUFA řady n-3 a n-6. Kontrolní skupinu tvořily eumenoreické a celkově zdravé dívky, které souhlasily s účastí ve studii. Pacientky léčené na urgentní ambulanci byly vyloučeny z kontrolní skupiny. Žádná žena kontrolní skupiny neuvedla anamnesticky poruchy příjmu potravy. Dalšími vylučovacími kritérii kontrolní skupiny byla chronická somatická onemocnění, duševní nebo neuro-vývojové poruchy, dědičné poruchy, jako je familiární dyslipidémie, těhotenství nebo kojení, farmakoterapie, doplňky stravy nebo antikoncepce. V rodinné anamnéze nebylo zjištěno předčasné atero-trombotické onemocnění ani familiární dyslipidémie.

**Odběry krve a antropometrické vyšetření.** Vzorky krve byly odebrány po 12 hodinách lačnění z kubitální žíly. Okamžitě po odběru a separaci séra/plazmy byly provedeny rutinní biochemické a hematologické analýzy; vzorky pro speciální analýzy byly až do použití skladovány při  $-80^{\circ}\text{C}$ . Základní klinická a antropometrická data, včetně hodnocení tělesného tuku, byla zkoumána standardními metodami, jak bylo popsáno dříve [Žák et al., 2005, Žák et al., 2007].

**Nepřímá kalorimetrie.** Klidový energetický výdej (REE) a respirační kvocient (RQ) byly analyzovány počítačovým, otevřeným, nepřímým kalorimetrickým systémem, který měřil klidovou spotřebu kyslíku a klidovou produkci oxidu uhličitého za použití ventilovaného krytu [Omnia 1.5 - Quark RMR, Cosmed, Srl, Itálie, Řím].

**Laboratorní analýzy.** Celkový cholesterol (TC) byl analyzován v séru pomocí komerčně zakoupeného enzymaticko-kolorimetrického testu (CHOD-PAP) [souprava Biola-test cholesterol 2500; Pliva-Lachema, Česká republika]. Sérové triacylglyceroly (TAG) byly měřeny pomocí standardní enzymatické kolorimetrické soupravy (GPO-PAP) (Pliva-Lachema). Koncentrace HDL-C byla měřena v supernatantu vzorků séra po selektivní precipitaci LDL-C pomocí soupravy BIO-LA-TEST HDL-Cholesterol kit (Pliva-Lachema) na analyzátoru Cobas Mira (Roche, Švýcarsko). Hladiny neesterifikovaných mastných kyselin (NEFA) byly stanoveny pomocí enzymatické kolorimetrické metody (Randox Laboratories, Spojené království). Koncentrace apolipoproteinu B byla analyzována nefelometricky pomocí standardní soupravy (Beckman Coulter) na analyzátoru Image. Koncentrace inzulinu byly měřeny pomocí diagnostických sad a modulárního analyzátoru (Roche Diagnostic, Indianapolis, IN) elektrochemiluminiscencí (ECLIA). Složení mastných kyselin v hlavních třídách plazmatických lipidů (fosfolipidy, triglyceridy a cholesterylestery) byly analyzovány postupem popsanými dříve [Vecka et al., 2021]. Jako index inzulinové rezistence byla použita metoda hodnocení modelu homeostázy, HOMA-IR [Matthews et al., 1985]. Desaturázové aktivity byly odhadnuty pomocí poměrů FA produkt/prekurzor [Tosi et al., 2014; Žák et al.,



2007]. Poměr palmitolejové ke kyselině linolové (16:1n-7/18:2n-6) nad 0,086 byl použit jako surogátní marker deficitu esenciálních mastných kyselin n-6 (EFAD) [Siguel a Lerman, 1996]. Plazmatické spektrum žlučových kyselin bylo měřeno metodou LC-MS/MS [Žížalová et al., 2020].

**Statistické analýzy.** Všechny statistické analýzy byly provedeny pomocí statistického softwaru R verze 4.1.3. <<The R Core Team (2022): Jazyk a prostředí pro statistické výpočty. R Foundation for Statistical Computing, Vídeň, Rakousko. URL <https://www.R-project.org/>>>, nebo pomocí softwaru STATISTICA® pro Windows.

Kategorická data jsou uvedena jako absolutní a/nebo relativní četnosti. Spojitá data jsou vyjádřena jako průměr a směrodatná odchylka nebo medián a interkvartilové rozpětí (IQR, 25. - 75. percentil) v případech negaussovského rozložení dat. Normalita distribuce byla testována Shapiro-Wilksovým W testem. Srovnání mezi skupinami bylo provedeno Mannovým-Whiteovým testem. P-hodnoty pro spojitá i kategorická data byly upraveny pro vícenásobná srovnání pomocí Holmovy korekce.

Postupná vícerozměrná lineární regrese byla použita k posouzení vztahu mezi koncentrací plazmatických lipidů (resp. lipoproteinů) jako závisle proměnných a FAs v plazmatických fosfolipidech, BMI, FMI, glukózou a inzulinem, jako jsou nezávisle proměnných. Aby se zabránilo kolinearitě, byly tyto vztahy analyzovány pomocí dvou modelů. V prvním modelu byly, jako nezávislé proměnné, zahrnuty koncentrace FAs a BMI a FMI, ve druhém modelu byly, jako nezávislé proměnné, zvoleny koncentrace FAs, inzulinu a glukózy. Postupnou multivariační lineární regresní analýzou byly vypočteny koeficienty determinace ( $R^2$ ).

## Výsledky

Základní klinické, antropometrické a biochemické charakteristiky studovaných skupin (tj. AN, CON) jsou uvedeny v tabulce 2. Antropometrické parametry AN byly koherentní s marantickým typem malnutrice (prosté hladovění). Pacienti s AN měli dle očekávání ve srovnání se zdravou skupinou CON snížený BMI (o 21 %), tukové hmoty (o 51 %), netukové hmoty (o 13 %) a indexu tuku (-45 %). Ve skupině AN došlo ke snížení REE (o 36 %), hladiny trijodtyroninu i tyroxinu (o 45 %, resp. 21 %). Biochemické charakteristiky doplňují snížené koncentrace inzulinu (o 55 %) a pokles indexu HOMA-IR (o 62 %). Ve skupině AN byly zvýšené koncentrace plazmatického TC (o 14 %) důsledkem statisticky signifikantně zvýšené koncentrace cholesterolu ve frakci HDL (o 22 %).

Profil FAs v plazmatických fosfolipidech je uveden v tabulce 3. Ve skupině s AN jsme ve srovnání se zdravými kontrolami zjistili statisticky významně zvýšenou koncentraci kyseliny palmitové (PA, 16:0) o 10 % a sníženou hladinu kyseliny linolové. (LA; 18:2n-6 cc). Anorektické pacientky měly snížené koncentrace sumy všech polynenasycených mastných kyselin ( $\Sigma$  PUFA n-6) a také zvýšený index D9D 18 (delta 9 desaturáza pro kyselinu stearovou), tj. aktivitu SCD1 (tabulka 4). Ani pacientky skupiny AN, ani kontrolní ženy nevykazovaly biochemické známky nedostatku esenciálních mastných kyselin pomocí surogátních markerů, tj. poměru 16:1-7/18:2n-6 a výskytu kyseliny Meadové (20:3n-9) (tabulka 4).

Při srovnání profilu plazmatických žlučových kyselin jsme ve skupině AN zjistili zhruba třikrát snížené koncentrace kyseliny tauroursodeoxycholové (TUDCA), a to jak při hodnocení absolutních koncentrací [0,003 vs 0,010;  $\mu\text{mol/l}$ ; medián (0,002 - 0,006; 0,006 - 0,021, 25. - 75. percentil),  $P < 0,05$ ], tak při porovnání jejich molárních procent [0,140 vs 0,397; mol %; medián (0,068 - 0,251; 0,295 - 0,493, 25. - 75. percentil)  $P < 0,05$ ].

Výsledky multivariační lineární regresní analýzy mezi plazmatickými lipoproteiny jako závisle proměnnými a plazmatickými FA ve fosfolipidech, BMI, FMI, glukózou a inzulinem jako nezávisle proměnnými u pacientek s AN a kontrolní skupiny jsou uvedeny v tabulce 5.

Ve skupině AN byla nalezena silná korelace ( $R^2=65,8$  %) mezi mastnými kyselinami [zastoupenými kyselinou osbondovou (22:5n-6), palmitovou (16:0) a dihomog- $\gamma$ -linolenovou (20:3n-6)], FMI (jako nezávisle proměnnými) a HDL-C (jako závisle proměnnou).

Koeficient determinace poměru LDL-C/HDL-C dosahoval střední úrovně ( $R^2=53,7$  %) v modelu 1 i modelu 2, přičemž nezávislým prediktorem byla v obou modelech kyselina adrenová (AdA, 22:4: n-6). Koeficient determinace koncentrace LDL-C rovněž dosahoval střední úrovně ( $R^2=57,7$  %) a v obou modelech byly nezávislými prediktory AdA a kyselina olejová (18:1n-9) (tabulka 5).

Ve skupině CON byla nalezena v obou modelech slabá korelace mezi HDL-C a hladinou 20:0 ( $R^2=38,9$  %). Silná korelace ( $R^2=67,4$  %) byla zjištěna v obou modelech mezi poměrem LDL/HDL a kyselinou palmitovou (16:0). Silná korelace ( $R^2=80,0$  %) byla zjištěna v obou modelech mezi LDL-C (jako závisle proměnnou) a kyselinou palmitovou (16:0) a  $\Sigma$  PUFA n-6.

## Diskuse

Mentální anorexie je závažné, chronické onemocnění, s častými relapsy a nejistou prognózou. Je asociovaná s řadou somatických komorbidit a mezi poruchami příjmu potravy má nejvyšší mortalitu. Etiopatogeneze mentální anorexie není jasná, předpokládá se účast genetických faktorů i negenetických činitelů.

Klinická, antropometrická, endokrinní i biochemická data, získaná na našem souboru jsou v souladu s publikovanými výsledky jiných autorů a ve shodě s klinickým, biochemickým a endokrinním profilem AN, resp. prostého hladovění [Schorr a Miller, 2017; Winston, 2012; Becker a Look, 2006; Paszynska et al., 2022]. Změny antropometrických parametrů, tj. pokles BMI o 21 %, tukové hmoty o 51 %, netukové hmoty o 13 % a indexu tukové hmoty o 51 %, ukazují, že hubnutí u AN vzniká především na úkor redukce tukové tkáně [DSM-5, 2013].

Mentální anorexie je asociovaná s řadou metabolických abnormalit, mezi nimiž čelné místo zauímají poruchy metabolismu lipidů (resp. lipoproteinů) a mastných kyselin. U skupiny AN jsme našli pouze zvýšené koncentrace HDL-cholesterolu, které byly oproti kontrolní skupině zvýšené o 22 % ( $P < 0,001$ ). Hypercholesterolemie se vyskytuje o 20 - 50 % nemocných [Mordasini a kol., 1978; Mira a kol., 1987; Gotto a Pownall, 1999]. Naš výsledky je v souladu s pracemi některých autorů [Arden et al., 1990], kteří popsali u AN zvýšení pouze HDL-cholesterolu. Jiné studie neprokázaly hypercholesterolemii u AN, ale pouze posun spektra lipoproteinů k aterogenním podtřídám [Stadler et al., 2022]. Naše předchozí studie našla u AN zvýšení koncentrace celkového cholesterolu v důsledku elevace HDL-C a VLDL-C [Žák et al., 2005]. V této předchozí studii byly také zjištěny u AN signifikantně zvýšené koncentrace TAG o 22 % ( $P < 0,001$ ), které byly příčinou elevace VLDL-C [Žák et al., 2005]. Změna lipidogramu u AN může být, alespoň částečně, vysvětlena změnou dietních zvyklostí populace České republiky [Poledne et al., 2022], pokud lze extrapolovat změny dietních zvyklostí mužů na skupinu AN. Námi zjištěné rozdíly hladin TC, HDL-C a TG u AN a kontrolní skupiny jsou koherentní s výsledky publikované metaanalýzy [Hussain et al., 2019].

Při analýze mastných kyselin plazmatických fosfolipidů byly zjištěny ve skupině AN zvýšené koncentrace kyseliny palmitové (+10 %;  $P < 0,05$ ) a nižší koncentrace kyseliny linolové (-7 %,  $P < 0,05$ ). Tyto změny byly doprovázeny poklesem sumy PUFA n-6 a aktivity delta 9 desaturázy pro kyselinu stearovou. Analýza mastných kyselin neukázala signifikantní rozdíly individuálních LC-PUFA mezi kontrolní skupinou a AN. Nicméně kroková lineární regresní analýza prokázala, že zvýšené koncentrace HDL-cholesterolu u AN jsou negativně asociovány se změnami koncentrace kyseliny osbondové (ObA, 22:5 n-6) a dihomog-

linolenové (DGLA, 20:3n-6) a pozitivně s kyselinou palmitovou (PA, 16:0). Tyto nálezy ukazují, že zvýšení koncentrace HDL-cholesterolu je spojeno s poklesem ObA, DGLA, a vzestupem PA. Naproti tomu koncentrace celkového cholesterolu (resp. LDL-cholesterolu) jsou u AN pozitivně asociovány s kyselinou adrenovou (AdA, 22:4n-6) a negativně s kyselinou olejovou (OA, 18:1n-9), to znamená, že zvýšení TC (resp. LDL-C) je spojeno se zvýšením relativní koncentrace AdA a poklesem OA. Pokles celkových PUFA n-6 je v souladu s pracemi japonských autorů [Satogami et al., 2019; Shimizu et al., 2020]. Obtížná interpretace prací zabývajících se složením mastných kyselin vyplývá také analytických důvodů; některé práce popisují koncentrace mastných kyselin v molárních procentech a jiné v absolutních koncentracích. Kyselina adrenová (22:4n-6) je elongačním produktem kyseliny arachidonové (AA, 20:4n-6), ze které elongací a delta 6 desaturací vzniká kyselina tetrakosahexaenová (24:4n-6), která je peroxizomální  $\beta$ -oxidací transformována na ObA (22:5n-6) [Zhou et al., 2006; Russo, 2009]. V experimentu byla popsána zvýšená syntéza ObA u potkanů s deficitem vitamínu A [Zhou et al., 2004; Zhou et al., 2006]. Složení mateřských LC-PUFA, včetně ObA a AdA, bylo asociováno s délkou telomer získaných z pupečnickové krve novorozenců [Liu et al., 2022]. Nizozemští autoři zjistili pozitivní asociaci koncentrace ObA s nižší intenzitou deprese a vyšším skóre sebevědomí [van der Wurff et al., 2019]. Stupeň jaterní steatózy koreloval s aktivitami delta 6 - a delta 9 desaturázy a koncentracemi AdA a DGLA [Hua et al. 2017]. V tkáňových kulturách hepatocytů AdA indukovala oxidační stres [Zhao et al., 2020]. Dlouhodobá suplementace zinkem u diabetiků 2. typu zvyšovala koncentrace AA a AdA i flexibilitu erytrocytů [Hernandes et al., 2020]. Některé práce naznačují, že koncentrace AdA by mohly být markerem časně detekce pankreatického duktálního adenokarcinomu [Cao et al., 2022] a poměr kyseliny  $\gamma$ -linolenové (GLA, 18:3:n-6) k AdA (22:4n-6) lze použít jako marker progresu chronického onemocnění ledvin [Szczyko et al., 2020]. Z námi analyzovaného složení mastných kyselin usuzujeme, že vzestup HDL-C, je asociován se specifickým profilem mastných kyselin (koncentracemi ObA, DGLA a PA), naproti tomu koncentrace TC, LDL-C a poměr LDL-C/HDL-C u mentální anorexie je ovlivněn AdA a OA.

Nejvýznamnějším nálezem této studie byl pokles plazmatické koncentrace kyseliny tauroursodeoxycholové kyselin (TUDCA) u pacientek s AN. Pokud je nám známo, tak změny koncentrace a zastoupení jednotlivých žlučových kyselin (BAs, bile acids) u AN nebyly zatím sledovány. Podstatným výsledkem naší studie je signifikantní a výrazný pokles koncentrace TUDCA ve skupině osob s mentální anorexií. Němečtí autoři zjistili statisticky významné korelace mezi BMI a celkovou koncentrací BAs v plazmě v širokém rozmezí tělesné hmotnosti (od podváhy, přes normální hmotnost až po obezitu) [Prinz et al., 2015].

Bylo prokázáno, že střevní dysbiosis vede k poruše metabolismu BAs. U AN byla prokázána střevní dysbiosis a bakteriální přerůstání tenkého střeva, které je možné terapeuticky ovlivnit fekální transplantací [Procházkova et al., 2019].

Za fyziologických okolností střevní mikrobiota regulují syntézu a složení *poolu* žlučových kyselin [Shapiro et al., 2018; Li et al., 2021, Winston a Theriot, 2020]. Působení střevní mikrobioty na žlučové kyseliny zahrnuje dekonjugaci CA a CDCA, jejich  $7\alpha$ -dehydroxylaci za vzniku sekundárních žlučových kyselin, tj. DCA z CA a LCA z CDCA. Z CDCA vzniká také malý podíl kyseliny ursodeoxycholové (UDCA) mechanismem  $7\alpha/\beta$  epimerizace. Kyseliny DCA, LCA, UDCA mohou být dále konjugovány s glycinem či taurinem. Více než 90 % BAs je re-absorbováno v terminálním ileu a vrací se do jater portální cirkulací. Nekonjugované BAs jsou re-absorbovány pasivní difusí přes epitel tenkého a tlustého střeva [Wei et al., 2020]. Malá část žlučových kyselin, která není vychytána játry, přechází do systémové cirkulace a zde vykazují endokrinní účinky v důsledku aktivace jaderných (hlavně FXR) a membránově vázaných receptorů (primárně TGR5). Žlučové kyseliny jako přirozené

ligandy regulují metabolismus glukózy, lipidů a energie prostřednictvím aktivace FXR a TGR5. Sekrece cholecystokininu, glukagonu podobného peptidu-1 (GLP-1) a peptidu YY (PYY) spojená s aktivací receptorů FXR a TGR5 tvoří integrovaný signální systém, který zpomaluje gastrointestinální motilitu a tranzit střevem, stimuluje sekreci inzulínu, reguluje postprandiální metabolismus glukózy (prostřednictvím GLP-1) a potlačuje chuť k jídlu i příjem energie. U zdravých jedinců bylo prokázáno, že postprandiální plazmatické koncentrace žlučových kyselin zvyšují expresi a aktivitu jodotyronindeiodinázy (D2) typu 2 prostřednictvím dráhy zprostředkované TGR5, čímž zvyšují dostupnost trijodthyroninu (T<sub>3</sub>I) a zvyšují energetický výdej v tukové tkáni a kosterního svalstva [Li et al., 2021; Shapiro et al., 2018].

Je známo, že TUDCA (i UDCA) je z celého spektra BAs nejvíce hydrofilní [Khalaf et al., 2022] a její struktura dává TUDCA vlastnost molekulárního chaperonu. TUDCA dále vykazuje pleiotropní účinky na homeostázu glukózy a působení inzulínu – ovlivňuje biologii β-buněk pankreatu, prodlužuje jejich přežití, inhibuje apoptózu β-buněk pankreatu a stimuluje sekreci inzulínu [de Rosa et al., 2021]. Příznivé ovlivnění citlivosti vůči inzulínu bylo prokázáno u obézních mužů a žen a tyto účinky byly omezeny pouze na játra a kosterní svalstvo, ne však na tukovou tkáň [Kars et al., 2010].

Účinky TUDCA jako chaperonu se využívají (na zvířecích experimentálních modelech i klinických studiích) při léčbě neuro-degenerativních onemocnění jako je Alzheimerova demence, Parkinsonova nemoc a Huntingtonova choroba. Rovněž byly testovány u cévních onemocnění mozku. Pozitivní působení TUDCA se odvozují od inhibice stresu endoplazmatického retikula, inhibice vyplavení vápníku z endoplazmatického retikula, potlačení aktivity kaspáz a redukce tvorby reaktivních kyslíkových a dusíkových sloučenin (RONS). Celkově lze charakterizovat účinky TUDCA jako anti-apoptotické, anti-neuro-inflamatorní a neuro-protektivní [Xing et al., 2023; Freitas et al., 2023; Zangerolamo et al., 2021].

Limitací výsledků studie je její průřezový charakter studie, malý počet vyšetřených osob (jak ve skupině AN tak v kontrolní skupině) a konečně analýza mastných kyselin s výsledky uváděnými v molárních % i absence analýz *trans* mastných kyselin.

Síla studie spočívá ve faktu, že se jedná se o první studii, která analyzovala u AN plazmatické koncentrace celkových BAs včetně jednotlivých molekulárních druhů. Analytická metoda (LC-MS/MS) umožňuje stanovit všechny známé žlučové kyseliny, volné i konjugované v souladu doporučenou přesností, správností a reprodukovatelností [Žížalová et al., 2020]. Další silou studie je využití pokročilých statistických metod, které umožnily zjistit asociaci vzestupu lipoproteinových frakcí s individuálními mastnými kyselinami. Do budoucna bude nezbytné vyšetřit větší počet pacientek s AN i kontrolních žen, stanovit nejen aktivity delta desaturáz, ale i elongáz mastných kyselin a u AN stanovit změny složení plazmatických žlučových kyselin po léčbě fekální transplantací.

*Podpořeno MZ ČR-RVO-VFN64165 a Cooperatio 1. LF UK*

## Reference

- Arden MR., Weiselberg EC., Nussbaum MP., et al.** MS. Effect of weight restoration on the dyslipoproteinemia of anorexia nervosa. *J Adolesc Health Care* 1990; 11(3): 199-202.
- Becker AE. and Look A.** Eating Disorders. In: Slesinger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease. Feldman M., Friedman LS., Brandt LJ. Eds. Philadelphia; Saunders Elsevier 2006, 383-407.
- Bulik CM., Flatt R., Abbaspour A., Carroll I.** Reconceptualizing Anorexia Nervosa. *Psychiatry Clin Neurosci* 2019; 73(9): 518-525

- Butler MJ., Perrini AA., Eckel LA.** The Role of the Gut Microbiome, Immunity, and Neuroinflammation in the Pathophysiology of Eating Disorders. *Nutrients* 2021; 13(2): 500.
- Cao Y., Zhao R., Guo K., et al.** Potential Metabolite Biomarkers for Early Detection of Stage-I Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Front Oncol* 2022; 11: 744667.
- Caspar-Bauguil S., Montastier E., Galinon F., et al.** Anorexia nervosa patients display a deficit in membrane long chain poly-unsaturated fatty acids. *Clin Nutr* 2012; 31(3): 386-390.
- DSM-5, 2013** American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. (5th ed.) Arlington, VA: American Psychiatric Association (2013).
- Feillet F., Feillet-Coudray C., Bard J., et al.** Plasma cholesterol and endogenous cholesterol synthesis during refeeding in anorexia nervosa. *Clin Chim Acta* 2000; 294(1-2): 45-56.
- Föcker M., Cecil A., Prehn C., et al.** Evaluation of Metabolic Profiles of Patients with Anorexia Nervosa at Inpatient Admission, Short- and Long-Term Weight Regain—Descriptive and Pattern Analysis. *Metabolites* 2021; 11(1): 7.
- Freitas IN., da Silva JA. Jr., Oliveira KM., et al.** Insights by which TUDCA is a potential therapy against adiposity. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2023; 14: 1090039.
- Frostad S.** Are the Effects of Malnutrition on the Gut Microbiota–Brain Axis the Core Pathologies of Anorexia Nervosa? *Microorganisms* 2022; 10(8): 1486.
- Gotto AM. JR., Pownall HJ.** Manual of Lipid Disorders. Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 1999.
- Hernandez MC., Rojas P., Carrasco F., et al.** Fatty acid desaturation in red blood cell membranes of patients with type 2 diabetes is improved by zinc supplementation. *J Trace Elem Med Biol* 2020; 62: 126571.
- Hua M-C., Su H-M., Yao T-C., et al.** Alternation of plasma fatty acids composition and desaturase activities in children with liver steatosis. *PLoS ONE* 2017; 12(7): e0182277.
- Hussain AA., Hübel C., Hindborg M., et al.** Increased lipid and lipoprotein concentrations in anorexia nervosa: A systematic review and meta-analysis. *Int J Eat Disord* 2019; 52(6): 611-629.
- Jafar W., Morgan J.** Anorexia nervosa and the gastrointestinal tract. *Frontline Gastroenterol* 2021; 13(4): 316-324.
- Kars M., Yang L., Gregor MF., et al.** Tauroursodeoxycholic Acid May Improve Liver and Muscle but Not Adipose Tissue Insulin Sensitivity in Obese Men and Women. *Diabetes* 2010; 59(8): 1899-1905.
- Katzman DK.** Medical Complications in Adolescents with Anorexia Nervosa: A Review of the Literature. *Int J Eat Disord* 2005; 37(Suppl): S52-S59.
- Khalaf K., Tornese P., Cocco A., Albanese A.** Tauroursodeoxycholic acid: a potential therapeutic tool in neurodegenerative diseases. *Transl Neurodegener* 2022; 11(1): 33.
- Klinefelter H.** Hypercholesterolemia in anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol* 1965; 25(11): 1520-1521.
- Kunesová M., Hainer V., Tvrzicka E., et al.** Assessment of dietary and genetic factors influencing serum and adipose fatty acid composition in obese female identical twins. *Lipids* 2002; 37(1): 27-32.
- Li R., Andreu-Sanchez S., Kuipers F., Fu J.** Gut microbiome and bile acids in obesity-related diseases. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2021; 35(3): 101493.
- Liu X., Shi Q., Fan X., et al.** Associations of Maternal Polyunsaturated Fatty Acids With Telomere Length in the Cord Blood and Placenta in Chinese Population. *Front Nutr* 2022; 8: 779306.
- Mack T., Sanchez-Roige S., Davis LK.** Genetic investigation of the contribution of body composition to anorexia nervosa in an electronic Health control setting. *Transl Psychiatry* 2022; 12(1): 486.

- Matthews DR., Hosker JP., Rudenski AS., et al.** Homeostasis model assessment: Insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28(7): 412-419.
- Mayo-Martínez L., Rupérez FJ., Martos-Moreno GÁ., et al.** Unveiling Metabolic Phenotype Alterations in Anorexia Nervosa through Metabolomics. *Nutrients* 2021; 13(12): 4249.
- Mira M., Stewart PM., Wizzard J., Abraham S.** Biochemical abnormalities in anorexia nervosa and bulimia. *Ann Clin Biochem* 1987; 24(Pt1): 29-35.
- Mordasini R., Klose G., Greten H.** Secondary type hyperlipoproteinemia in patients with anorexia nervosa. *Metabolism* 1978; 27(1): 71-79.
- Nestel PS.** Cholesterol metabolism in anorexia nervosa and hypercholesterolemia. *J Clin Endocrinol Metab* 1974; 38(2): 325-328, 1974.
- Nguyen N., Dow M., Woodside B., et al.** Food-Intake Normalization of Dysregulated Fatty Acids in Women with Anorexia Nervosa. *Nutrients* 2019; 11(9): 2208.
- Paszynska E., Hernik A., Slopian A., et al.** Risk of Dental Caries and Erosive Tooth Wear in 117 Children and Adolescents' Anorexia Nervosa Population—A Case-Control Study. *Front Psychiatry* 2022; 13: 874263.
- Poledne R., Kralova A., Bartuskova H., et al.** Rapid Drop in Coronary Heart Disease Mortality in Czech Male Population—What Was Actually behind It? *Biomedicines* 2022; 10(11): 2871.
- Prinz P., Hofmann T., Ahnis A., et al.** Plasma bile acids show a positive correlation with body mass index and are negatively associated with cognitive restraint of eating in obese patients. *Front Neurosci* 2015; 9: 199.
- Prochazkova P., Roubalova R., Dvorak J., et al.** Microbiota, Microbial Metabolites, and Barrier Function in A Patient with Anorexia Nervosa after Fecal Microbiota Transplantation. *Microorganisms* 2019; 7(9): 338.
- R statistical software** Version 4.1.3. The R Core Team: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria 2022. Available online: <https://www.R-project.org/>
- Rosa LRO., Vettorazzi JF., Zangerolamo L., et al.** TUDCA receptors and their role on pancreatic beta cells. *Prog Biophys Mol Biol* 2021; 167: 26-31.
- Russo GL.** Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids: From biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. *Biochem Pharmacol* 2009; 77(6): 937-946.
- Satogami K, Tseng PT, Su KP, et al.** Relationship between polyunsaturated fatty acid and eating disorders: Systematic review and meta-analysis. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2019; 142: 11-19.
- Schorr M., Miller KK.** The endocrine manifestations of anorexia nervosa: mechanisms and management. *Nat Rev Endocrinol* 2017; 13(3): 174-186.
- Szczuko M., Kaczkan M., Małgorzewicz S., et al.** The C18:3n6/C22:4n6 ratio is a good lipid marker of chronic kidney disease (CKD) progression. *Lipids Health Dis* 2020; 19(1): 77.
- Shapiro H., Kolodziejczyk AA., Halstuch D., Elinav E.** Bile acids in glucose metabolism in health and disease. *J Exp Med* 2018; 215(2): 383-396.
- Shih PB., Morisseau C., Le T., et al.** Personalized polyunsaturated fatty acids as a potential adjunctive treatment for anorexia nervosa. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2017; 133: 11-19.
- Shimizu M., Kawai K., Yamashita M., et al.** Very long chain fatty acids are an important marker of nutritional status in patients with anorexia nervosa: a case control study. *Biopsychosoc Med* 2020; 14: 14.
- Siguel EN., Lerman RH.** Prevalence of essential fatty acid deficiency in patients with chronic gastrointestinal disorders. *Metabolism* 1996; 45(1): 12-23.

- Smink FR., van Hoeken D., Hoek HW.** Epidemiology of Eating Disorders: Incidence, Prevalence and Mortality Rates. *Curr Psychiatry Rep* 2012; 14(4): 406-414.
- Soriano-Guillén L., Barrios V., Campos-Barros Á., Argente J.** Ghrelin Levels in Obesity and Anorexia Nervosa: Effect of Weight Reduction or Recuperation. *J Pediatr* 2004; 144(1): 36-42.
- Stadler JT., Lackner S., Mörkl S., et al.** Anorexia Nervosa Is Associated with a Shift to Pro-Atherogenic Low-Density Lipoprotein Subclasses. *Biomedicines* 2022; 10(4): 895.
- Tosi F., Sartori F., Guarini P., et al.** Delta-5 and delta-6 desaturases: Crucial enzymes in polyunsaturated fatty acid-related pathways with pleiotropic influences in health and disease. *Adv Exp Med Biol* 2014; 824: 61-81.
- Vecka M., Dušejovská M., Staňková B., et al.** A Matched Case-Control Study of Noncholesterol Sterols and Fatty Acids in Chronic Hemodialysis Patients. *Metabolites* 2021; 11(11): 774.
- Watson HJ., Yilmaz Z., Thornton LM., et al.** Genome-Wide Association Study Identifies Eight Risk Loci and Implicates Metabo-Psychiatric Origins for Anorexia Nervosa. *Nat Genet* 2019; 51(8): 1207-1214.
- Wei W., Wang HF., Zhang Y., et al.** Altered metabolism of bile acids correlates with clinical parameters and the gut microbiota in patients with diarrhea predominant irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 2020; 26(45): 7153-7172.
- Winston AP.** The clinical biochemistry of anorexia nervosa. *Ann Clin Biochem* 2012; 49(Pt2): 132-143.
- Winston JA., Theriot CM.** Diversification of host bile acids by members of the gut microbiota. *Gut Microbes* 2020; 11(2): 158-171.
- van der Wurff ISM., von Schacky C., Bergeland T., et al.** Exploring the association between whole blood Omega-3 Index, DHA, EPA, DHA, AA and n-6 DPA, and depression and self-esteem in adolescents of lower general secondary education. *Eur J Nutr* 2019; 58(4):1429-1439
- Xing C., Huang X., Wang D., et al.** Roles of bile acids signaling in neuromodulation under physiological and pathological conditions. *Cell Biosci* 2023; 13(1): 106.
- Yehuda S. and Rabinovitz S.** The Role of Essential Fatty Acids in Anorexia Nervosa and Obesity. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2016; 56(12): 2021-2035.
- Zangerolamo L., Vettorazzi JF., Rosa LRO., et al.** The bile acid TUDCA and neurodegenerative disorders: An overview. *Life Sci* 2021; 272: 119252.
- Zhao J., Nishiumi S., Tagawa R., et al.** Adrenic acid induces oxidative stress in hepatocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2020; 532(4): 620e625.
- Zhou D., Zaiger G., Ghebremeskel K., et al.** Vitamin A deficiency reduces liver and colon docosahexaenoic acid levels in rats fed high linoleic and low alpha-linolenic acid diet. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2004; 71(6): 383-389.
- Zhou D., Ghebremeskel K., Crawford MA., Reifen R.** Vitamin A Deficiency Enhances Docosahexaenoic and Osbond Acids in Liver of Rats Fed an  $\alpha$ -Linolenic Acid-Adequate Diet. *Lipids* 2006; 41(3): 213-219.
- Žák A., Vecka M., Tvrzická E., et al.** Composition of Plasma Fatty Acids and Non-Cholesterol Sterols in Anorexia Nervosa. *Physiol Res* 2005; 54(4): 443-451.
- Žák A., Tvrzická E., Vecka M., et al.** Severity of metabolic syndrome unfavorably influences oxidative stress and fatty acid metabolism in men. *Tohoku J Exp Med* 2007; 212(4): 359-371.
- Žížalová K., Vecka M., Víték L., Leníček M.** Enzymatic methods may underestimate the total serum bile acid concentration. *PLoS ONE* 2020; 15(7): e0236372.

**Tabulka 1 Mentální anorexie □ somatické komorbidity/komplikace**

Orgán/systém	Komorbidity
Kardiovaskulární	sinusová bradykardie, nízká voltáž QRS, prodloužení intervalu QT <sub>c</sub> (arytmie), arteriální hypotenze, ortostatická hypotenze, prolaps mitrální chlopně, snížená kontraktilita myokardu;
Dermatologické	lámavé vlasy, alopecie, hyper-karotenémie
Oro-faryngeální	hyperplazie parotid, cheilosis, zubní eroze, gingivitida, dysfagie
Gastrointestinální	dysmotility jícnu; nutriční hepatitida; anorektální dysfunkce; gastroesofageální reflux, zpomalená střevní pasáž; anorektální prolaps, postprandiální plnost; opožděné vyprazdňování žaludku; střevní dysbiosis, zácpa;
Metabolické onemocnění kostní	osteopénie, osteoporóza, zpomalený růst
Kosterní svalstvo	sarkopénie,
Reprodukční systém	primární (sekundární, resp.) amenorea, opožděná puberta
Neurologický	kognitivní změny, korová atrofie, rozšíření komor, neuropatie (senzorická, motorická, viscerální)
Hematologický	suprese kostní dřeně (anemie, leukopénie, trombocytopenie)
Endokrinní	nízké koncentrace testosteronu a estrogeneru, pokles hladin T <sub>4</sub> I a T <sub>3</sub> I, elevace reverzního T <sub>3</sub> I; zvýšené koncentrace kortizolu, peptidu YY and ghrelinu, nízké hladiny leptinu
Metabolická dysfunkce	zvýšené hladiny aminokyselin, dysionie (hyponatrémie, hypokalémie), hypoglykémie, poruchy ABR, dyslipidémie;

*Zdroj: Becker and Look, 2006; Winston 2012; Schorr and Miller, 2017; Soriano-Guillén et al. 2004; Shimizu et al., 2020; Nguyen et al. 2019; Paszynska et al., 2021; Katzman et al. 2005; Jafar and Morgan, 2022.*

*Zkratky: T<sub>3</sub>I - trijodtyronin, T<sub>4</sub>I - tyroxin, ABR - acido-bazická rovnováha;*



**Tabulka 2 Základní klinické a biochemické charakteristiky sledovaných skupin**

Ukazatel	AN	KON
Počet	39	35
Věk (roky)	17 (14 – 21)	20 (16 – 22)
BMI (kg.m-2)	16,4 (13,6 – 18,2)***	20,8 (19,8 – 22,4)
Fat mass (kg)	7,6 (4,2 – 10,6)***	15,5 (12,4 – 18,5)
Fat mass index (kg.m-2)	3,1 (1,5 – 4,0)***	5,6 (4,8 – 6,5)
Lean body mass (kg)	36,3 (30,2 – 41,1)**	41,8 (39,1 – 43,6)
LBMI (kg.m-2)	13,3 (11,7 – 15,0)**	15,4 (14,4 – 16,3)
REE (kcal)	998 (866 - 1309)**	1569 (1503 – 1645)
NEFA (mmol/L)	0,410 (0,155 – 0,780)	0,420 (0,322 – 0,532)
T <sub>3</sub> I (nmol/L)	3,350 (2,775- 3,855)***	6,100 (5,900 - 6,500)
T <sub>4</sub> I (nmol/L)	12,300 (11,750 - 13,225)***	15,500 (14,200 - 16,100)
TSH (mIU/L)	1,928 (1,375 - 2,280)	2,670 (1,943 - 3,821)
TC (mmol/L)	4,76 (4,23 – 5,59)	4,18 (3,95 – 4,88)
TAG (mmol/L)	0,92 (0,80 – 1,24)	0,73 (0,61 – 1,03)
Apo B (g/L)	0,74 (0,60 – 0,85)	0,72 (0,64 – 0,77)
HDL-C (mmol/L)	1,56 (1,40 – 1,85)***	1,28 (1,07 – 1,42)
LDL-C (mmol/L)	2,62 (2,18 – 3,31)	2,61 (2,24 – 3,20)
Non-HDL-C	3,16 (2,390– 3,96)	3,07 (2,69 – 3,54)
LDL/HDL (poměr)	1,74 (1,24 – 2,25)	2,14 (1,72 – 2,84)
Glucose (mmol/L)	4,6 (4,1 – 5,0)	4,7 (4,5 – 4,9)
Insulin (mU/L)	5,12 (3,57 – 6,36)***	11,36 (7,84 – 16,30)
HOMA-IR (poměr)	0,98 (0,59 – 1,56)***	2,57 (1,57 – 3,26)

Data jsou uvedena jako průměr  $\pm$  S.D., [medián (25<sup>th</sup> -75<sup>th</sup> percentile), resp.]; statistická analýza: Mannův a Whitneyův test: \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ ; po adjustaci na opakované srovnávání pomocí Holmovy korekce. Zkratky: AN - anorexia nervosa, BMI – body mass index; KON – kontrolní skupina, TC – celkový cholesterol; TAG – triacylglyceroly; LDL – lipoprotein o nízké hustotě; HDL – lipoprotein o vysoké hustotě; apo – apolipoprotein, HOMA-IR – homeostasis model assessment for insulin resistance ( $f$ -insulin ( $\mu$ U/mL)  $\times$   $f$ -glucose (mmol/L) / 22.5); REE – klidový energetický výdej; T<sub>3</sub>I – trijodtyronin, T<sub>4</sub>I – tyroxin; NEFA – ne-esterifikované mastné kyseliny; LBMI – lean body mass index; FMI – fat mass index;

**Tabulka 3 Složení mastných kyselin plazmatických fosfolipidů sledovaných skupin**

Mastná kyseliny	AN	CON
12:0 <sup>a</sup>	0,013 (0,003 – 0,026) <sup>b</sup>	0,024 (0,017 – 0,031)
14:0	0,241 (0,195 – 0,400)	0,265 (0,245 – 0,372)
14:1n-5	0,004 (0,003 – 0,007)	0,002 (0,002 – 0,004)
16:0	29,532 (27,305 – 30,923) * <sup>c</sup>	26,813 (25,550 – 29,054)
16:1n-9	0,156 (0,126 – 0,182)	0,171 (0,154 – 0,212)
16:1n-7c	0,716 (0,516 – 0,947)	0,632 (0,568 – 0,695)
18:0	12,947 (11,518 – 13,677)	13,491 (12,415 – 14,457)
18:1t	0,108 (0,080 – 0,143)	NA
18:1n-9c	11,309 (10,696 – 12,629)	10,811 (10,282 – 11,754)
18:1n-7c	1,872 (1,633 – 2,139)	1,957 (1,708 – 2,350)
18:2n-6cc	23,653 (21,016 – 25,281) *	25,529 (24,375 – 26,465)
18:3n-6alc	0,081 (0,050 – 0,112)	0,080 (0,062 – 0,102)
18:3n-3alc	0,213 (0,080 – 0,376)	0,296 (0,076 – 0,339)
20:0	0,064 (0,048 – 0,148)	0,071 (0,059 – 0,162)
20:1n-9c	0,151 (0,133 – 0,182)	0,167 (0,142 – 0,193)
20:2n-6cc	0,435 (0,341 – 0,757)	0,402 (0,330 – 0,458)
20:3n-6alc	3,106 (2,351 – 3,608)	3,109 (2,739 – 3,286)
20:4n-6alc	10,456 (9,000 – 11,334)	10,229 (9,384 – 11,589)
20:5n-3alc	0,600 (0,505 – 0,799)	0,656 (0,544 – 0,805)
22:4n-6alc	0,366 (0,317 – 0,415)	0,373 (0,349 – 0,403)
22:5n-6alc	0,276 (0,203 – 0,347)	0,242 (0,214 – 0,276)
22:5n-3alc	0,924 (0,685 – 1,142)	0,902 (0,820 – 1,058)
22:6n-3alc	2,611 (1,952 – 3,428)	2,913 (2,170 – 3,801)

<sup>a/</sup> schematické označení mastných kyselin: počet atomů uhlíku; počet dvojných vazeb; n – poloha první dvojně vazby od metylové skupiny; c - poloha cis; t - poloha trans; alc - všechny dvojně vazby v poloze cis; NA - data nejsou dostupná; <sup>b/</sup> čísla jsou uvedena jako medián (25<sup>th</sup> - 75<sup>th</sup> percentil; mol %)

<sup>c/</sup> statistická analýza: Mannův-Whitneyův test: \*  $p < 0.05$ , po adjustaci na mnohonásobné srovnání pomocí Holmesovy korekce.

**Tabulka 4 Aktivity desaturáz a dalších ukazatelů vypočtených z koncentrace mastných kyselin plazmatických fosfolipidů**

Ukazatel	AN	CON
Počet osob	35	39
Σ SFA	42,067 (41,176 – 43,574) <sup>a</sup>	40,727 (39,857 – 43,351)
Σ MFA	14,379 (13,418 – 15,743)	13,815 (12,986 – 14,851)
Σ PUFA n-6	38,365 (36,968 – 39,767) <sup>***b</sup>	39,819 (38,766 – 41,471)
Σ PUFA n-3	4,875 (3,612 – 5,665)	5,120 (3,655 – 5,815)
D5Dn-6	3,216 (2,642 – 4,817)	3,338 (3,027 – 4,127)
D6D n-6	0,003 (0,002 – 0,005)	0,003 (0,002 – 0,004)
D9D 16	0,025 (0,019 – 0,032)	0,023 (0,020 – 0,026)
D9D 18	0,908 (0,829 – 1,031) <sup>**</sup>	0,811 (0,736 – 0,888)
ADA n-6 <sup>++</sup>	0,615 (0,536 – 0,540)	0,572 (0,511 – 0,614)
n-6 EFAD index	0,030 (0,021 – 0,752)	0,025 (0,019 – 0,028)
n-6 EFAD index (≥0.086/<0.086)	0/39	0/35

<sup>a/</sup> hodnoty uvedeny jako medián (25<sup>th</sup> -75<sup>th</sup> percentil; mol %, poměr, resp.)

<sup>b/</sup> statistická analýza: Mannův-Whitneyův test: \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ ; po adjustaci na mnohonásobné porovnávání pomocí Holmesovy korekce;

n-6 EFAD index 16:1n-7/18:2n-6 ≥ 0.086.

Zkratky: Σ SFA – suma všech nasycených mastných kyselin, Σ MFA – suma všech monoenoových mastných kyselin, Σ PUFA n-6 – suma všech více nenasycených mastných kyselin řady n-6, Σ PUFA n-3 – suma vícenenasycených mastných kyselin řady n-3 ; n-6 EFAD – n-6 deficit n-6 esenciálních mastných kyselin;

EFAD index = 16:1n-7/18:2n-6

D9D16 – delta 9 desaturáza kyseliny palmitové (16:1n-7/16:0)

D9D18 – delta 9 desaturáza kyseliny stearové (18:1n-9/18:0)

D6D – delta 6 desaturáza (18:3n-6/18:2n-6)

D5D – delta 5 desaturáza (20:4n-6/20:3n-6)

<sup>++/</sup> ADA n-6 (agregovaná desaturační aktivita PUFA n-6) – poměr všech PUFA n-6 [vyjma LA (18:2n-6)] ke kyselině linolové (LA, 18:2n-6)

Tabulka 5 Nezávislé prediktory koncentrací plazmatických lipoproteinů u sledovaných skupin

HDL-C							
AN				CON			
Model 1: FAs + BMI + FMI				Model 1: FAs + BMI + FMI			
variable	t-value	p	adjusted R <sup>2</sup>	variable	t-value	p	adjusted R <sup>2</sup>
22:5n-6	-3,7332	0,0007	65,8	20:0	2,4286	0,0152	38,9
FMI	-3,0660	0,0042					
16:0	2,7061	0,0106					
20:3n-6	-1,9624	NS					
Model 2: FAs + Glu + Ins				Model 2: FAs + Glu + Ins			
22:5n-6	-2,5732	0,0142	38,9	20:0	2,4286	0,0208	38,9
LDL/HDL							
Model 1: FAs + BMI + FMI				Model 1: FAs + BMI + FMI			
variable	t-value	p	adjusted R <sup>2</sup>	variable	t-value	p	adjusted R <sup>2</sup>
22:4n-6	3,8683	0,0004	53,7	16:0	-5,2402	0,0001	67,4
Model 2: FAs + Glu + Ins				Model 2: FAs + Glu + Ins			
22:4n-6	3,8638	0,0004	53,7	16:0	-5,2402	0,0001	67,4
LDL-cholesterol							
AN				CON			
Model 1: FAs + BMI + FMI				Model 1: FAs + BMI + FMI			
variable	t-value	p	adjusted R <sup>2</sup>	variable	t-value	p	adjusted R <sup>2</sup>
22:4n-6	4,2095	0,0002	57,7	16:0	-7,3587	0,0001	80,0
18:1n-9	-2,3911	0,0222		Sum n-6	-2,4861	0,0183	
Model 2: FAs + Glu + Ins				Model 2: FAs + Glu + Ins			
22:4n-6	4,2095	0,0002	57,7	16:0	-7,3587	0,0001	80,0
18:1n-9	-2,3911	0,0222		Sum n-6	-2,4861	0,0183	

*\*/ FAs – mastná kyselina (viz tabulka 3); BMI – body mass index; FMI – fat mass index; Glu – glukóza, Ins – insulin, AN – mentální anorexie, CON – kontrolní skupina.  
R<sup>2</sup> – koeficient determinace (%). Model 1 předpokládá nezávislou asociaci mezi jednotlivými mastnými kyselinami; BMI, FMI a plazmatickými lipoproteiny; model 2 předpokládá nezávislou asociaci mezi jednotlivými mastnými kyselinami, glukózou, insulinem a plazmatickými lipoproteiny.*



