

UNIVERZITA KARLOVA

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA BIOFYZIKY A FYZIKÁLNÍ CHEMIE



## DIPLOMOVÁ PRÁCE

# Fluktuace hladin mastných kyselin v tkáních náhle zemřelých osob a srovnání s hodnotami u patologických stavů

Vedoucí diplomové práce: Mgr. Monika Kuchařová, Ph.D.

HRADEC KRÁLOVÉ, 2020

ALENA ČUNÁTOVÁ

# ABSTRAKT

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biofyziky a fyzikální chemie

Kandidát: Alena Čunátová

Vedoucí diplomové práce: Mgr. Monika Kuchařová, Ph.D.

Název diplomové práce: Fluktuace hladin mastných kyselin v tkáních náhle zemřelých osob a srovnání s hodnotami u patologických stavů

Mastné kyseliny a jejich metabolity se významně zapojují do mnoha fyziologických i patologických procesů. Tato práce sleduje hladiny vybraných mastných kyselin v lidských tkáních a vliv dlouhodobého onemocnění na jejich zásoby. Teoretická část se vedle obecné charakteristiky zaměřuje na příjem polynenasycených mastných kyselin a jejich význam v lidském organismu. Dále se věnuje účinkům eikosanoidů a dalších metabolitů mastných kyselin. Popsány jsou rovněž metody užívané v bioanalýze mastných kyselin. V experimentální části bylo porovnáváno zastoupení mastných kyselin v sedmi typech tkání mezi dvěma skupinami dárců. Do jedné z nich bylo zařazeno 8 relativně mladých, zdravých, náhle zemřelých jedinců. Druhá skupina zahrnovala 12 polymorbidních pacientů vyššího věku. Získané vzorky tkání byly upraveny pomocí extrakčních a derivatizačních technik. Pro analýzu byla použita plynová chromatografie s plamenoionizační detekcí. Naměřená data byla zpracována metodou normalizace a statisticky zhodnocena. Výsledné hodnoty vykazovaly několik zřejmých rozdílů mezi dvěma skupinami dárců, především v případě nenasycených mastných kyselin. Tyto rozdíly dobře korespondují s teoretickými předpoklady o zvýšené přeměně omega-6 nenasycených mastných kyselin během patologických stavů.

## Klíčová slova

esenciální mastné kyseliny, polynenasycené mastné kyseliny, omega-3 a omega-6 mastné kyseliny

## **ABSTRACT**

Charles University

Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Biophysics and Physical Chemistry

Candidate: Alena Čunátová

Supervisor of Diploma Thesis: Mgr. Monika Kuchařová, Ph.D.

Title of Diploma Thesis: The fluctuation of fatty acids levels in the tissues of suddenly deceased persons and comparison with values in pathological states

Fatty acids and their metabolites are significantly involved in many physiological and pathological processes. This thesis monitors the levels of selected fatty acids in human tissues and the effect of long-term disease on their stores. In addition to the general characteristics, the theoretical part focuses on the intake of polyunsaturated fatty acids and their importance in the human body. It also deals with the effects of eicosanoids and other fatty acid metabolites. Methods used in fatty acid bioanalysis are also described. In the experimental part, the proportion of fatty acids in seven tissue types was compared between two groups of donors. One of them included 8 relatively young, healthy, suddenly deceased individuals. The second group included 12 elderly polymorbid patients. The obtained tissue samples were adjusted using extraction and derivatization techniques. Gas chromatography with flame ionization detection was used for analysis. The measured data were processed by the area normalization method and statistically evaluated. The resulting values showed several obvious differences between the two groups of donors, especially in the case of unsaturated fatty acids. These differences correspond well with theoretical assumptions about the increased conversion of omega-6 unsaturated fatty acids during pathological conditions.

### **Key words**

essential fatty acids, polyunsaturated fatty acids, omega-3 and omega-6 fatty acids

*„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“*

V Hradci Králové 28. 8. 2020

Alena Čunátová

## **Poděkování**

V první řadě bych ráda vyjádřila velké poděkování Mgr. Monice Kuchařové, Ph.D. za odborné vedení a laskavou výpomoc při realizaci i vypracování této diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat prof. MUDr. Zdeňku Zadákovi, CSc., vedoucímu Centra pro výzkum a vývoj v rámci Ústavu klinické biochemie a diagnostiky ve Fakultní nemocnici Hradec Králové, za umožnění tohoto výzkumu a poté MUDr. Radomíru Hyšplerovi, Ph.D. a RNDr. Aleně Tiché, Ph.D. za odborný dohled při analýze vzorků a četné rady. Poděkování patří rovněž prof. MUDr. Petru Hejnovi, Ph.D., MBA a MUDr. Daliboru Kovaříkovi a dalšímu personálu Ústavu soudního lékařství Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové za skvělou spolupráci při sběru biologického materiálu. V neposlední řadě pak děkuji své rodině za obrovskou podporu a trpělivost.

# Obsah

|   |    |
|---|----|
| Seznam zkratk   | 8  |
| 1 ÚVOD A CÍL PRÁCE  | 12 |
| 2 TEORETICKÁ ČÁST   | 13 |
| 2.1 Mastné kyseliny   | 13 |
| 2.1.1 Názvosloví mastných kyselin                             | 13 |
| 2.1.2 Nenasycené mastné kyseliny                              | 13 |
| 2.1.3 Vstřebávání, transport a ukládání mastných kyselin      | 15 |
| 2.1.4 Biosyntéza mastných kyselin                             | 16 |
| 2.1.5 Oxidace mastných kyselin                                | 19 |
| 2.2 Příjem PUFA   | 21 |
| 2.3 Vliv PUFA na lidský organismus                            | 24 |
| 2.3.1 Význam PUFA v patologických procesech                   | 25 |
| 2.4 Eikosanoidy a další metabolity PUFA                       | 29 |
| 2.4.1 Biosyntéza eikosanoidů                                  | 29 |
| 2.4.2 Účinky eikosanoidů                                      | 34 |
| 2.4.3 Význam eikosanoidů ve vybraných patologických procesech | 38 |
| 2.5 Bioanalýza mastných kyselin                               | 44 |
| 2.5.1 Homogenizace tkání                                      | 44 |
| 2.5.2 Extrakce lipidů   | 44 |
| 2.5.3 Derivatizace mastných kyselin                           | 45 |
| 2.5.4 Plynová chromatografie                                  | 46 |
| 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST   | 49 |
| 3.1 Biologický materiál                                       | 49 |
| 3.1.1 Charakteristika výzkumného souboru                      | 49 |
| 3.2 Chemikálie  | 51 |
| 3.3 Přístrojové vybavení a pomůcky                            | 51 |
| 3.4 Pracovní postup   | 52 |
| 3.4.1 Homogenizace vzorků                                     | 52 |
| 3.4.2 Extrakce lipidů   | 52 |
| 3.4.3 Derivatizace mastných kyselin                           | 52 |
| 3.5 Chromatografická analýza                                  | 53 |
| 3.6 Statistické zpracování dat a vyhodnocení                  | 55 |
| 4 VÝSLEDKY  | 57 |
| 4.1 Výsledky jednotlivých mastných kyselin                    | 57 |

|        |  |     |
|--------|--|-----|
| 4.1.1  | Kyselina laurová.....  | 57  |
| 4.1.2  | Kyselina myristová.....  | 58  |
| 4.1.3  | Kyselina palmitová.....  | 60  |
| 4.1.4  | Kyselina palmitoolejová.....   | 61  |
| 4.1.5  | Kyselina stearová.....   | 62  |
| 4.1.6  | Kyselina olejová.....  | 64  |
| 4.1.7  | Kyselina linolová.....   | 65  |
| 4.1.8  | Kyselina $\gamma$ -linolenová.....                                       | 66  |
| 4.1.9  | Kyselina $\alpha$ -linolenová.....                                       | 68  |
| 4.1.10 | Kyselina dihomo- $\gamma$ -linolenová.....                               | 69  |
| 4.1.11 | Kyselina arachidonová.....   | 70  |
| 4.1.12 | Kyselina eikosapentaenová.....   | 72  |
| 4.1.13 | Kyselina dokosaheptaenová.....   | 73  |
| 4.2    | Výsledky dalších sledovaných parametrů.....                              | 74  |
| 4.2.1  | Suma nasycených mastných kyselin.....                                    | 74  |
| 4.2.2  | Suma mononenasycených mastných kyselin.....                              | 76  |
| 4.2.3  | Suma $\omega$ -6 polynenasycených mastných kyselin.....                  | 77  |
| 4.2.4  | Suma $\omega$ -3 polynenasycených mastných kyselin.....                  | 78  |
| 4.2.5  | Poměr kyseliny olejové a kyseliny stearové.....                          | 80  |
| 4.2.6  | Poměr kyseliny arachidonové a kyseliny dihomo- $\gamma$ -linolenové..... | 81  |
| 4.2.7  | Poměr kyseliny linolové a kyseliny $\alpha$ -linolenové.....             | 82  |
| 4.2.8  | Poměr kyseliny arachidonové a kyseliny eikosapentaenové.....             | 84  |
| 4.2.9  | Poměr $\omega$ -6 a $\omega$ -3 polynenasycených mastných kyselin.....   | 85  |
| 4.3    | Souhrn statisticky významných rozdílů.....                               | 86  |
| 5      | DISKUZE.....   | 88  |
| 6      | ZÁVĚR.....   | 93  |
|        | Seznam tabulek.....  | 94  |
|        | Seznam obrázků.....  | 96  |
|        | Seznam použité literatury.....   | 97  |
|        | Příloha.....   | 106 |

## Seznam zkratek

|          |   |
|----------|---|
| AA       | <i>arachidonic acid</i> (kyselina arachidonová)                                     |
| ABCA1    | <i>ATP-binding cassette transporter A1</i>  |
| ACP      | <i>acyl carrier protein</i> (acyl přenášející protein)                              |
| ACSL1    | <i>long-chain acyl-CoA synthetase 1</i>   |
| AD       | <i>Alzheimer's disease</i> (Alzheimerova choroba)                                   |
| AdA      | <i>adrenic acid</i> (kyselina adrenová)   |
| AH       | <i>arterial hypertension</i> (arteriální hypertenze)                                |
| AI       | <i>adequate intake</i> (adekvátní příjem)   |
| ALA      | <i>alpha-linolenic acid</i> (kyselina alfa-linolenová)                              |
| AMD      | <i>age-related macular degeneration</i> (věkem podmíněná makulární degenerace)      |
| ASA      | <i>acetylsalicylic acid</i> (kyselina acetylsalicylová)                             |
| ATL      | <i>aspirin-triggered lipoxins</i>   |
| AT-NPD1  | <i>aspirin-triggered neuroprotectin D1</i>  |
| ATP      | <i>adenosine triphosphate</i> (adenosintrifosfát)                                   |
| AT-Rv    | <i>aspirin-triggered resolvins</i>  |
| ATS      | <i>atherosclerosis</i> (ateroskleróza)  |
| AT-SPM   | <i>aspirin-triggered specialized pro-resolving mediators</i>                        |
| ALX      | <i>lipoxin receptor</i> (lipoxinový receptor)                                       |
| AUC      | <i>area under the curve</i> (plocha pod píkem)                                      |
| BA       | <i>butyric acid</i> (kyselina máselná)  |
| BAD      | <i>Bcl-2-associated death promoter</i>  |
| Bax      | <i>Bcl-2-associated X protein</i>   |
| Bcl-2    | <i>B-cell lymphoma 2 protein</i>  |
| Bcl-xL   | <i>B-cell lymphoma-extra large protein</i>  |
| BHP      | benigní hyperplazie prostaty  |
| BLT      | <i>leukotriene B<sub>4</sub> receptor</i> (receptor pro leukotrien B <sub>4</sub> ) |
| BMD      | <i>bone mineral density</i> (denzita kostního minerálu)                             |
| cAMP     | <i>cyclic adenosine monophosphate</i> (cyklický adenosinmonofosfát)                 |
| CB1, CB2 | kanabinoidní receptory  |
| CCR5     | <i>C-C chemokine receptor type 5</i>  |
| CMP      | cévní mozková příhoda   |
| CNS      | <i>central nervous system</i> (centrální nervová soustava)                          |
| CoA      | <i>coenzyme A</i> (koenzym A)   |
| COX      | <i>cyclooxygenase</i> (cyklooxygenáza)  |
| CPT      | <i>carnitine palmitoyltransferase</i> (karnitinpalmitoyltransferáza)                |
| CYP      | <i>cytochrome P450</i> (cytochrom P450)   |
| CysLT    | <i>cysteinyl leukotriene receptor</i> (receptory pro cysteinyllové leukotrieny)     |
| DGLA     | <i>dihomo-gamma-linolenic acid</i> (kyselina dihomo-gama-linolenová)                |
| DHA      | <i>docosahexaenoic acid</i> (kyselina dokosahexaenová)                              |



|               |   |
|---------------|---|
| DHET          | <i>dihydroxyeicosatrienoic acid</i> (dihydroxyeikosatrienová kyselina)                                |
| DM            | <i>diabetes mellitus</i>  |
| DP            | <i>prostaglandin D<sub>2</sub> receptor</i> (receptor pro prostaglandin D <sub>2</sub> )              |
| DPA           | <i>docosapentaenoic acid</i> (kyselina dokosapentaenová)  |
| DTA           | <i>docosatetraenoic acid</i> (kyselina dokosatetraenová)  |
| EA            | <i>erucic acid</i> (kyselina eruková)   |
| ECD           | <i>electron capture detector</i> (detektor elektronového záchytu)                                     |
| EET           | <i>epoxyeicosatrienoic acid</i> (epoxyeikosatrienová kyselina)  |
| EFA           | <i>essential fatty acids</i> (esenciální mastné kyseliny)   |
| EGFR          | <i>epidermal growth factor receptor</i> (receptor epidermálního růstového faktoru)                    |
| eIF2 $\alpha$ | <i>eukaryotic initiation factor 2 alpha</i> (eukaryotický iniciační faktor 2 alfa)                    |
| ELOVL         | <i>elongation of very long chain fatty acids</i> (elongázy mastných kyselin s velmi dlouhým řetězcem) |
| EP            | <i>prostaglandin E<sub>2</sub> receptor</i> (receptor pro prostaglandin E <sub>2</sub> )              |
| EPA           | <i>eicosapentaenoic acid</i> (kyselina eikosapentaenová)  |
| ETA           | <i>eicosatetraenoic acid</i> (kyselina eikosatetraenová)  |
| FABP          | <i>fatty acid binding protein</i> (vazebný protein pro mastné kyseliny)                               |
| FAD           | <i>flavin adenine dinucleotide</i> (flavinadenindinukleotid)  |
| FADS          | <i>fatty acid desaturase</i> (desaturáza mastných kyselin)  |
| FID           | <i>flame ionization detector</i> (plamenoionizační detektor)  |
| FIS           | fibrilace síní  |
| FLAP          | <i>5-LOX-activating protein</i> (protein aktivující 5-lipoxygenázu)                                   |
| FP            | <i>prostaglandin F<sub>2</sub> alpha receptor</i> (receptor pro prostaglandin F <sub>2</sub> alfa)    |
| GC            | <i>gas chromatography</i> (plynová chromatografie)  |
| GIT           | <i>gastrointestinal tract</i> (gastrointestinální trakt)  |
| GLA           | <i>gamma-linolenic acid</i> (kyselina gama-linolenová)  |
| GLC           | <i>gas-liquid chromatography</i>  |
| GLUT          | <i>glucose transporter</i> (glukózový transportér)  |
| GPCR          | <i>G protein-coupled receptor</i> (receptor spojený s G-proteinem)                                    |
| GPR32         | <i>G protein-coupled receptor 32</i>  |
| HDL           | <i>high density lipoprotein</i> (lipoprotein o vysoké hustotě)  |
| HETE          | <i>hydroxyeicosatetraenoic acid</i> (kyselina hydroxyeikosatetraenová)                                |
| 12-HHT        | <i>12-hydroxyheptadecatrienoic acid</i> (kyselina 12-hydroxyheptadekatrienová)                        |
| HMG           | <i>3-hydroxy-3-methylglutaryl</i> (3-hydroxy-3-methylglutaryl)  |
| HPETE         | <i>hydroperoxyeicosatetraenoic acid</i> (kyselina hydroperoxyeikosatetraenová)                        |
| HLP           | <i>hyperlipoproteinemia</i> (hyperlipoproteinémie)  |
| ChemR23       | <i>chemerin receptor 23</i>   |
| CHOPN         | chronická obstrukční plicní nemoc   |
| ICHS          | ischemická choroba srdeční  |
| IL            | <i>interleukin</i> (interleukin)  |
| IM            | infarkt myokardu  |

|          |  |
|----------|--|
| INF      | <i>interferon</i> (interferon)   |
| IP       | <i>prostacyclin receptor</i> (receptor pro prostacyklin)   |
| IP3      | <i>inositol trisphosphate</i> (inositoltrifosfát)  |
| IRS      | <i>insulin receptor substrate</i> (substrát inzulínového receptoru)  |
| IS       | <i>internal standard</i> (vnitřní standard)  |
| KVO      | kardiovaskulární onemocnění  |
| KVS      | kardiovaskulární soustava  |
| LA       | <i>linoleic acid</i> (kyselina linolová)   |
| LAA      | <i>lauric acid</i> (kyselina laurová)  |
| LC-MS/MS | <i>liquid chromatography with tandem mass spectrometry</i> (kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní spektroskopií) |
| LC-PUFA  | <i>long-chain polyunsaturated fatty acids</i> (polynenasycené mastné kyseliny s dlouhým řetězcem)                            |
| LDL      | <i>low density lipoprotein</i> (lipoprotein o nízké hustotě)   |
| LT       | <i>leukotriene</i> (leukotrien)  |
| LOX      | <i>lipoxygenase</i> (lipoxygenáza)   |
| LX       | <i>lipoxin</i> (lipoxin)   |
| MA       | <i>myristic acid</i> (kyselina myristová)  |
| MAGL     | <i>monoacylglycerol lipase</i> (monoacylglycerol lipáza)   |
| MaR      | <i>maresin</i> (maresin)   |
| MK       | mastné kyseliny  |
| MOA      | <i>myristoleic acid</i> (kyselina myristolejová)   |
| MRP      | <i>multidrug resistance-associated protein</i>   |
| MS       | <i>mass spectrometer</i> (hmotnostní spektrometr)  |
| MTBE     | <i>methyl tert-butyl ether</i> (metyl-terc-butyléter)  |
| MUFA     | <i>monounsaturated fatty acids</i> (mononenasycené mastné kyseliny)  |
| NA       | <i>nervonic acid</i> (kyselina nervonová)  |
| NAD      | <i>nicotinamide adenine dinucleotide</i> (nikotinamidadenindinukleotid)  |
| NADPH    | <i>nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i> (nikotinamidadenindinukleotidfosfát)                                      |
| NF-κB    | <i>nuclear factor kappa B</i> (nukleární faktor kappa B)   |
| NR       | <i>nonextractable residue</i> (neextrahovatelná matrice)   |
| NSAID    | <i>nonsteroidal anti-inflammatory drugs</i> (nesteroidní antiflogistika)   |
| OA       | <i>oleic acid</i> (kyselina olejová)   |
| PA       | <i>palmitic acid</i> (kyselina palmitová)  |
| PC       | <i>prostacyclin</i> (prostacyklin)   |
| PD       | <i>protectin</i> (protektin)   |
| PDX      | <i>protectin DX</i> (protektin DX)   |
| PET      | <i>positron emission tomography</i> (pozitronová emisní tomografie)  |
| PG       | <i>prostaglandin</i> (prostaglandin)   |
| PGT      | <i>prostaglandin transporter</i> (prostaglandinový transportér)  |
| PLA2     | <i>phospholipase A2</i> (fosfolipáza A2)   |

|               |  |
|---------------|--|
| POA           | <i>palmitoleic acid</i> (kyselina palmitoolejová)  |
| PPAR          | <i>peroxisome proliferator-activated receptor</i> (receptor aktivovaný peroxisomovým proliferátorem) |
| PUFA          | <i>polyunsaturated fatty acids</i> (polynenasycené mastné kyseliny)                                  |
| RA            | <i>rheumatoid arthritis</i> (revmatoidní artritida)  |
| RXR- $\alpha$ | <i>retinoid X receptor alpha</i>   |
| Rv            | <i>resolvin</i> (resolvin)   |
| SA            | <i>stearic acid</i> (kyselina stearová)  |
| sAPP $\alpha$ | <i>soluble amyloid precursor protein alpha</i>   |
| SCOT          | <i>support coated open tubular</i>   |
| SD            | <i>standard deviation</i> (směrodatná odchylka)  |
| SDA           | <i>stearidonic acid</i> (kyselina stearidonová)  |
| sEH           | <i>soluble epoxide hydrolase</i> (solubilní epoxid hydroláza)  |
| SFA           | <i>saturated fatty acids</i> (nasycené mastné kyseliny)  |
| SNP           | <i>single nucleotide polymorphisms</i> (jednonukleotidové polymorfismy)                              |
| SPM           | <i>specialized pro-resolving mediators</i>   |
| SREBP         | <i>sterol regulatory element-binding protein</i>   |
| TAG           | <i>triacylglycerol</i> (triacylglycerol)   |
| TNF           | <i>tumor necrosis factor</i> (tumor nekrotizující faktor)  |
| TP            | <i>thromboxane A<sub>2</sub> receptor</i> (receptor pro tromboxan A <sub>2</sub> )                   |
| TX            | <i>thromboxane</i> (tromboxan)   |
| VLDL          | <i>very low density lipoprotein</i> (lipoprotein o velmi nízké hustotě)                              |
| WCOT          | <i>wall coated open tubular</i>  |

# 1 ÚVOD A CÍL PRÁCE

Mastné kyseliny plní v lidském organismu spoustu nezastupitelných úloh. Vedle fyziologických procesů se určitou měrou zapojují i do těch patofyziologických, a to rovněž prostřednictvím svých mediátorů. Tato problematika se proto stala předmětem zájmu již mnoha realizovaných výzkumných projektů. I přes stále nové a detailnější poznatky v této oblasti však zatím chybí zcela komplexní přehled o zásobních hladinách mastných kyselin v jednotlivých tkáních. Zejména stanovení nenasycených mastných kyselin v závislosti na stavu organismu by přitom mohlo zásadně přispět k pochopení přesné role těchto látek v organismu. Od zjištěných údajů o zásobách mastných kyselin se následně mohou odvíjet další související výživová doporučení. V důsledku lepšího pochopení zásahu příslušných mastných kyselin do konkrétních patofyziologií by se nabízel rovněž vývoj nových léčebných strategií.

Cílem této práce bylo zhodnotit fluktuaci hladin mastných kyselin v tkáních náhle zemřelých osob a srovnání s hodnotami u patologických stavů. Dárci tak byli zařazeni do dvou skupin dle věku a přítomnosti dlouhodobě probíhající choroby. Hladiny mastných kyselin pak byly sledovány u sedmi různých druhů tkání. Výzkum se soustředil na zásoby především polynenasycených mastných kyselin a vycházel z teoretických poznatků o jejich účincích v organismu. Zároveň tato práce navázala na dvě předešlé práce obdobného zaměření za účelem rozšíření hodnocené skupiny dárců a získání ucelenější představy o zásobách mastných kyselin v lidském těle.

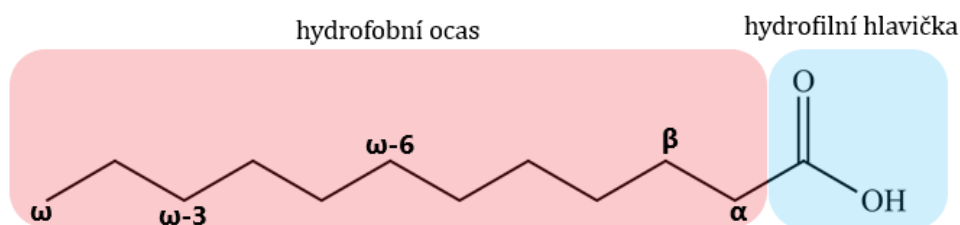
Sběr biologického materiálu probíhal ve spolupráci s Ústavem soudního lékařství Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové. Realizace následné přípravy a analýzy vzorků metodou plynové chromatografie byla umožněna v Centru pro výzkum a vývoj v rámci Ústavu klinické biochemie a diagnostiky ve Fakultní nemocnici Hradec Králové. Výsledná data jsme nakonec příslušným způsobem zpracovali včetně statistického zhodnocení.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Mastné kyseliny

Mastné kyseliny (MK) tvoří zásadní složku lipidů. Uplatňují se jako zdroj energie, strukturální prvky nebo prekurzory biologicky aktivních působků. Svou úlohu plní ve formě esterů s alkoholy (glycerol, cholesterol, sfingosin), v menší míře pak jako volné MK. Vyskytují se např. v triacylglycerolech (TAG) tukové tkáně, fosfolipidech buněčných membrán, sfingomyelinech nervových vláken a dalších strukturách (ceramidy, glykolipidy, lipoproteiny, sulfolipidy, aminolipidy atd.) [1][2].

Chemicky se jedná o alifatické karboxylové kyseliny s nerozvětveným uhlovodíkovým řetězcem složeným ze 3 až 24 atomů uhlíku. Protože jsou tvořeny z dvouuhlíkatých stavebních jednotek, vyskytují se přirozeně zpravidla MK se sudým počtem uhlíkových atomů. Vykazují amfifilní vlastnosti díky konstituci z hydrofilní hlavičky a hydrofobního ocasu (obr. 1). Rozlišujeme MK s krátkým (C2–C6), středně dlouhým (C8–C10), dlouhým (C12–C18) a velmi dlouhým řetězcem (> C18). U vyšších rostlin a živočichů převažují dlouhořetězcové MK, jakými jsou např. kyselina stearová či kyselina palmitová, hlavní zástupci nasycených MK (SFA). Řetězec může také obsahovat jednu nebo více dvojných vazeb oddělených vždy methylenovou skupinou. Přirozeně se vyskytující nenasycené MK zaujímají téměř výlučně konfiguraci cis, díky čemuž mohou jako celek zaujímat různá prostorová uspořádání [1][3][4].



Obrázek 1 Obecné schéma chemické struktury MK

Zdroj: Upraveno podle [2][5]

#### 2.1.1 Názvosloví mastných kyselin

Pro popis MK používáme systematické nebo triviální názvy. Systematické názvosloví odvozuje jméno MK od názvu uhlovodíku, který tvoří její kostru, přičemž přidáváme koncovku -ová a slovo kyselina. Řetězec číslováme vždy od karboxylového uhlíku. Řeckou abecedou se pojmenovávají uhlíky od C2 dále s tím, že poslední uhlík označujeme písmenem  $\omega$ . Pozici a počet dvojných vazeb zapisujeme písmenem  $\Delta^x$ , kde dvojná vazba je mezi uhlíkem číslo  $x$  a  $x + 1$  počítáno od karboxylového uhlíku. Nebo je možné označit nenasycenou MK písmenem  $\omega^x$  s tím, že umístění násobné vazby se počítá od koncového uhlíku řetězce. Druhou možností je použití triviálních názvů, z nichž některé jsou uvedeny v tabulce 1. Pro přehlednou charakterizaci jednotlivých MK používáme také číselný zápis. První číslo uvádí počet uhlíkových atomů v řetězci, druhé počet dvojných vazeb a následují čísla pozic dvojných vazeb (např. C20:4;5,8,11,14 pro arachidonovou kyselinu) [1][2][3].

#### 2.1.2 Nenasycené mastné kyseliny

Podle počtu zavedených dvojných vazeb rozlišujeme MK mononenasycené (MUFA) a polynenasycené (PUFA). Významnou úlohu mají pro člověka zejména tzv.  $\omega$ -3 a  $\omega$ -6

nenasyčené MK (nebo také n-3 a n-6). Své označení dostaly podle pozice poslední dvojně vazby počítané od konečného uhlíku řetězce. Některé potřebné MK si však lidský organismus nedokáže vytvářet sám, musí je proto přijímat stravou. Mezi tyto nutričně esenciální MK (EFA) patří kyselina linolová (LA), představitel  $\omega$ -6 PUFA, a kyselina  $\alpha$ -linolenová (ALA), představitel  $\omega$ -3 PUFA. Tyto jsou naprosto nezbytné pro tvorbu dalších PUFA. K nejvýznamnějším zástupcům patří kyselina  $\gamma$ -linolenová (GLA), arachidonová (AA), eikosapentaenová (EPA), dokosahexaenová (DHA). Jejich role spočívá např. v přispívání k udržení optimální fluidity fosfolipidových membrán, v udržování kapalného stavu tukových kapének uvnitř buňky nebo v přeměně na jiné působky (např. eikosanoidy), jejichž prostřednictvím zasahují do mnoha fyziologických i patologických procesů [1][2][6].

**Tabulka 1 Přehled vybraných MK**

| Skupina                           | Triviální název                   | Zkratka              | Systematický název                               | Číselný zápis                            |             |
|-----------------------------------|-----------------------------------|----------------------|--|--|-------------|
| <b>SFA</b>                        | máselná                           | BA                   | butanová   | 4:0                                      |             |
|                                   | laurová                           | LAA                  | dodekanová                                       | 12:0                                     |             |
|                                   | myristová                         | MA                   | tetradekanová                                    | 14:0                                     |             |
| <b>MUFA</b>                       | palmitová                         | PA                   | hexadenová                                       | 16:0                                     |             |
|                                   | stearová                          | SA                   | oktadenová                                       | 18:0                                     |             |
|                                   | myristolejová                     | MOA                  | <i>cis</i> -9-tetradecenová                      | 14:1;9                                   |             |
|                                   | palmitolejová                     | POA                  | <i>cis</i> -9-hexadecenová                       | 16:1;9                                   |             |
|                                   | olejová                           | OA                   | <i>cis</i> -9-oktadecenová                       | 18:1;9                                   |             |
| <b><math>\omega</math>-3 PUFA</b> | eruková                           | EA                   | <i>cis</i> -13-dokosenová                        | 22:1;13                                  |             |
|                                   | nervonová                         | NA                   | <i>cis</i> -15-tetrakosenová                     | 24:1;15                                  |             |
|                                   | $\alpha$ -linolenová              | ALA                  | all- <i>cis</i> -9,12,15-oktadekatrienová        | 18:3;9,12,15                             |             |
|                                   | stearidonová                      | SDA                  | all- <i>cis</i> -6,9,12,15-oktadekatetraenová    | 18:4;6,9,12,15                           |             |
|                                   | eikosatetraenová                  | ETA                  | all- <i>cis</i> -8,11,14,17-eikosatetraenová     | 20:4;8,11,14,17                          |             |
|                                   | eikosapentaenová (timnodonová)    | EPA                  | all- <i>cis</i> -5,8,11,14,17-eikosapentaenová   | 20:5;5,8,11,14,17                        |             |
|                                   | klupanodonová (dokosapentaenová)  | n-3<br>DPA           | all- <i>cis</i> -7,10,13,16,19-dokosapentaenová  | 22:5;7,10,13,16,19                       |             |
|                                   | dokosahexaenová (cervonová)       | DHA                  | all- <i>cis</i> -4,7,10,13,16,19-dokosahexaenová | 22:6;4,7,10,13,16,19                     |             |
|                                   | <b><math>\omega</math>-6 PUFA</b> | linolová             | LA   | all- <i>cis</i> -9,12-oktadekadienová    | 18:2;9,12   |
|                                   |                                   | $\gamma$ -linolenová | GLA  | all- <i>cis</i> -6,9,12-oktadekatrienová | 18:3;6,9,12 |
| arachidonová                      |                                   | AA                   | all- <i>cis</i> -5,8,11,14-eikosatetraenová      | 20:4;5,8,11,14                           |             |
| dihomo- $\gamma$ -linolenová      |                                   | DGLA                 | all- <i>cis</i> -8,11,14-eikosatrienová          | 20:3;8,11,14                             |             |
| adrenová (dokosatetraenová)       |                                   | DTA<br>(AdA)         | all- <i>cis</i> -7,10,13,16-dokosatetraenová     | 22:4;7,10,13,16                          |             |
| osbondová                         |                                   | n-6<br>DPA           | all- <i>cis</i> -4,7,10,13,16-dokosapentaenová   | 22:5;4,7,10,13,16                        |             |

Zdroj: Vlastní zpracování podle [1][3][7][8][9]

## **ZDROJE NENASYCENÝCH MASTNÝCH KYSELIN**

Hlavními zdroji PUFA pro člověka jsou obecně rostlinné oleje, rostlinná semena a mořské ryby. Z rostlin bohatých především na  $\omega$ -6 PUFA jsou uváděny např. řepka, kukuřice, sója, slunečnice, bavlník nebo pupalka. Zástupci  $\omega$ -3 PUFA se pak nacházejí v rostlinách spíše výjimečně, např. v semenech chia (*Salvia hispanica*), perily (*Perilla frutescens*), lnu (*Linum usitatissimum*) a v listové zelenině. Dalším zdrojem mohou být i ořechy. Některé  $\omega$ -6 PUFA nalezneme ale třeba i v mase nebo vejcích. Také určité množství EPA a DHA je obsaženo v hovězím nebo jehněčím mase [3][4][6][10].

Výrazně vyšší obsah  $\omega$ -3 PUFA však nabízí mořské ryby. Metabolismus ryb sice neumožňuje přímo syntézu  $\omega$ -3 PUFA, avšak získávají je ze stravy v podobě fytoplanktonu a zooplanktonu a kumulují je ve svém těle. Divoce žijící ryby nám tak poskytují větší množství  $\omega$ -3 PUFA než ryby chované, jejichž krmivo je bohaté na  $\omega$ -6 PUFA. Důvodem akumulace příznivých PUFA v rybím těle je jejich význam v adaptaci na prostředí chladné vody. Pro dodání  $\omega$ -3 PUFA využíváme ryby, jakými jsou např. treska, sleď, makrela, tuňák nebo losos. Zdrojem kyseliny olejové, kterou řadíme mezi MUFA, může pak být například olivový olej. V margarínech z rostlinných olejů vznikají vlivem hydrogenace trans MK s vyšším bodem tání než MK v cis konfiguraci. Trans MK mohou antagonisticky ovlivňovat účinky jiných nenasycených MK a z hlediska výživy jsou celkově nevhodné [3][4][6][10].

### **2.1.3 Vstřebávání, transport a ukládání mastných kyselin**

Mezi lipidy přijímané stravou patří převážně TAG, méně pak fosfolipidy a estery cholesterolu. Součástí přijímaných lipidů jsou pak rovněž MK. Při průchodu gastrointestinálním traktem (GIT) podléhají TAG hydrolýze nejprve prostřednictvím slinné lipázy, poté žaludeční lipázy, a nakonec pankreatické lipázy, která se do tenkého střeva dostává spolu s pankreatickou šťávou. Správná činnost enzymů je podmíněna emulgací lipidů ať už mechanickou nebo pomocí emulgujících látek ve žluči, čímž se zvětší povrch rozhraní mezi lipidy a vodou. Štěpením vzniká směs monoacylglycerolů, volných MK, glycerolu a případně diacylglycerolů, která je inkorporována do micel. Pomocí těchto ve vodě rozpustných micel dochází k přechodu štěpných produktů do nitra enterocytů, přičemž nejvíce lipidů se vstřebává v duodenu a jejunu. Uvnitř enterocytu probíhá opětovná esterifikace volných MK s dlouhým řetězcem na TAG, které ve formě chylomikronů vstupují do lymfatického a později krevního řečiště. Naproti tomu MK s krátkým a středním řetězcem přecházejí z enterocytu do coby volné MK přímo do portální cirkulace [1][6][11].

Volné MK tvoří jen malou složku plazmatických lipidů, vykazují však vysokou metabolickou aktivitu. Mezi další lipidy krevní plazmy patří TAG, fosfolipidy, cholesterol a estery cholesterolu. Převážná většina lipidů má nepolární charakter. K jejich transportu vodným prostředím krevní plazmy do cílových tkání proto slouží micelární částice zvané lipoproteiny složené z komponent s amfifilními vlastnostmi. Lipoproteiny rozdělujeme do čtyř základních skupin. Jednou z nich jsou chylomikrony transportující potravní lipidy ze střeva do krve prostřednictvím lymfy. Dále rozlišujeme lipoproteiny o velmi nízké hustotě (VLDL), které se vytvářejí v játrech a slouží k přenosu endogenních lipidů z jater do extrahepatálních tkání. VLDL jsou postupně degradovány až na lipoproteiny o nízké hustotě (LDL) obsahující vysoký podíl cholesterolu a jeho esterů. Lipoproteiny o vysoké hustotě (HDL) se pak uplatňují např. při transportu cholesterolu do jater a metabolismu VLDL a chylomikronů [1][3].

Při nedostatku energie v organismu dochází ve vakuolách adipocytů prostřednictvím několika lipáz k hydrolýze zásobních tuků. Vzniklé MK a glycerol přechází do krevního řečiště.

Další MK se do krve uvolňují z lipoproteinů činností lipoproteinové lipázy. V krvi jsou MK transportovány v neesterifikovaném stavu, tedy jako volné MK. Jejich plazmatická koncentrace se pohybuje v rozmezí 0,1–2,0 mmol/l, ale setrvávají v plazmě jen velmi krátce. MK s krátkým a středně dlouhým řetězcem jsou v plazmě volně rozpuštěny a vyskytují se v roztoku buď v neionizovaném stavu, nebo jako anion. Naproti tomu MK s dlouhým a velmi dlouhým řetězcem se v plazmě váží na albumin a uvnitř buňky pak na FABP (vazebný protein pro MK). Při přechodu do buňky přes plazmatickou membránu dochází k vazbě na protein přenášející MK přes membránu. Dle potřeby buňky podléhají MK jednak oxidaci, jejíž míra je přímo úměrná plazmatické koncentraci MK a rychlosti lipolýzy. Nebo dochází k jejich esterifikaci a tvorbě zásobního tuku či složených lipidů. Pro tvorbu TAG mohou MK pocházet nejen z plazmatických volných MK přijatých stravou, ale i z jaterní syntézy využívající acetyl-CoA [1][3].

Procesy lipolýzy TAG a reesterifikace MK se neustále opakují. Lipolýza je regulována prostřednictvím hormon-senzitivní lipázy. K reesterifikaci je potřeba mít k dispozici glycerol-3-fosfát, a tedy enzym glycerolkinázu, která zajišťuje jeho vznik z volného glycerolu. Fosforylace může probíhat ve tkáni jater, ledvin, střev nebo mléčných žláz, v tukové tkáni se však zmíněný enzym nenachází. Míra produkce volných MK navíc úzce souvisí také s metabolismem glukózy. Na regulaci hladiny MK se podílejí nemalou měrou také hormony. Inzulín působí inhibičně na hormon-senzitivní lipázu, a naopak zvyšuje lipogenezi. Lipolýza je pak zvyšována antagonisticky působícími hormony, jakými jsou např. adrenalin, noradrenalin, glukagon, růstový hormon a další [1][3][6][12].

Při ukládání v těle vznikajících PUFA dochází rovněž k jejich esterifikaci s glycerolem ve fosfolipidech či neutrálních TAG. Prostřednictvím činnosti fosfolipázy A2 mohou pak být v čase potřeby mobilizovány pro tvorbu eikosanoidů a jiných autakoidů [10][13].

#### **2.1.4 Biosyntéza mastných kyselin**

Lidský organismus je schopen tvorby omezené škály MK *de novo*. Využívá ji zejména při přeměně nadbytečné energie ve formě glukózy nebo bílkovin přijatých stravou. Tento anabolický proces probíhá v prostředí cytosolu buněk především jaterní a tukové tkáně, ale také v ledvinách, mozku nebo plicích. Při biosyntéze se acetyl-CoA coby primární substrát přeměňuje opakovaným sledem reakcí katalyzovaných multienzymovým komplexem na konečný produkt – palmitát. Ten však může být ještě upravován pomocí dalších enzymů. Celý proces vyžaduje dodání energie formou ATP a přítomnost kofaktorů včetně NADPH, biotinu,  $Mn^{2+}$  a  $HCO_3^-$ . Jako nejdůležitější zdroj redukčního činidla NADPH slouží pentosafosfátová dráha, jejíž oxidativní reakce probíhají rovněž v cytosolu buňky, a to ve tkáních s aktivní lipogenezí [1][3].

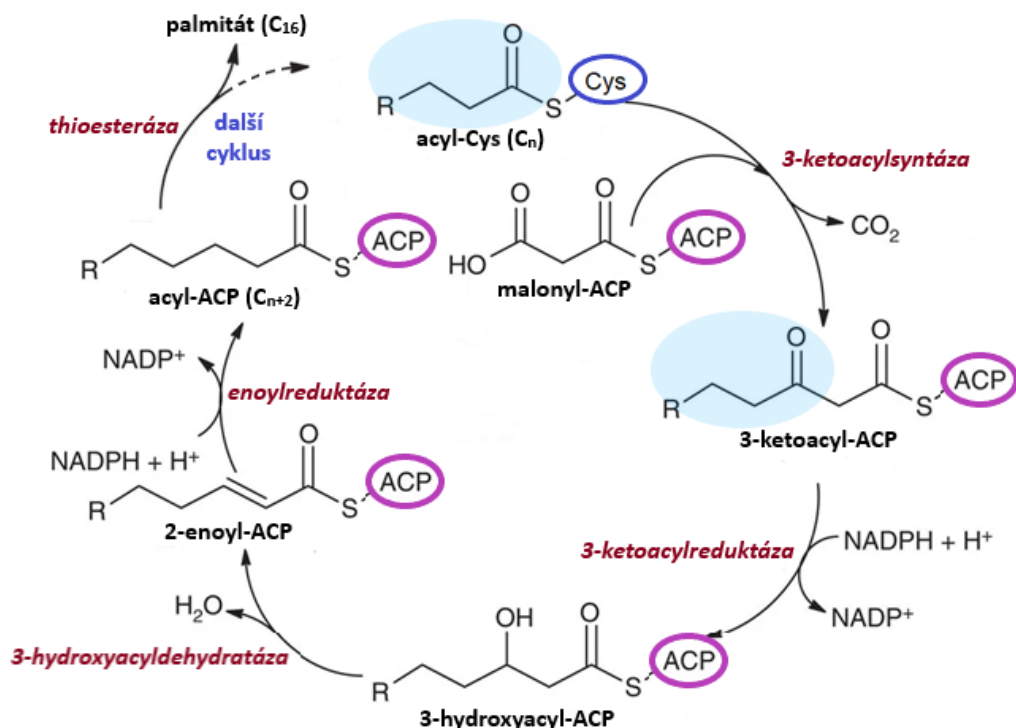
Nejprve je zapotřebí dopravit acetyl-CoA (vytvořený oxidací pyruvátu) z mitochondrie do cytosolu. Děje se tak formou citrátu vzniklého uvnitř mitochondrie reakcí acetyl-CoA s oxalacetátem. Po průchodu mitochondriální membránou pomocí trikarboxylátového transportéru se citrát rozloží zpět na výchozí substráty účinkem ATP-citrátlyázy. Acetyl-CoA je k dispozici pro syntézu MK a oxalacetát přeměněný na pyruvát se začleňuje opět do citrátového cyklu [1][6].

V prvním a zároveň regulačním kroku samotné syntézy MK dochází ke karboxylaci acetyl-CoA na malonyl-CoA klíčovým enzymem acetyl-CoA-karboxylázou. Další průběh syntézy zajišťuje u obratlovců syntáza mastných kyselin, která je schopna katalyzovat všech sedm reakcí procesu. Jedná se o specifický enzymový aparát složený ze dvou polypeptidových řetězců tvořících aktivní dimer. Každá monomerní jednotka obsahuje ACP (acyl přenášející protein) s navázaným 4'-fosfopantetheinem, který umožňuje přenos meziproductů mezi jednotlivými katalytickými místy



syntázy. Kromě SH-skupiny 4'-fosfopantetheinu se na každém monomeru nachází ještě SH-skupina cysteinového zbytku jedné z enzymových podjednotek. Reakce zde probíhají v následujícím sledu:

- I. Molekula acetyl-CoA je přenesena na cysteinovou SH-skupinu pomocí enzymu acetyltransacylázy.
- II. Současně probíhá vazba dříve vzniklého malonyl-CoA na sousední SH-skupinu 4'-fosfopantetheinu ACP druhého monomeru katalyzovaná malonyltransacylázou.
- III. Působením 3-ketoacylsyntázy dochází při uvolnění  $\text{CO}_2$  ke kondenzaci acetylového (acylového) zbytku s malonylovou skupinou za vzniku 3-ketoacyl-ACP. Cysteinová SH-skupina zůstává poté volná.
- IV. Následuje redukční reakce využívající 3-ketoacylreduktázu, jejímž výsledkem je 3-hydroxyacyl-ACP.
- V. Dále probíhá dehydratace za tvorby 2,3-nenasyceného acyl-ACP umožněná enzymem 3-hydroxyacyldehydratázou.
- VI. Acylový řetězec poté podléhá účinkem enoylreduktázy další redukci, čímž vzniká již plně nasycený C4 acyl-ACP. Ten se působením nové molekuly malonyl-CoA přesouvá z vazby k ACP zpět na volnou SH-skupinu cysteinu. Pro vytvoření C16 molekuly palmitoylu se tento cyklus ještě šestkrát zopakuje, přičemž v každém z cyklů je řetězec prodloužen právě o dva atomy uhlíku, jak znázorňuje obr. 2.
- VII. Po dokončení sedmého cyklu dochází k odštěpení vzniklého palmitátu z komplexu enzymů pomocí enzymu thioesterázy [1][3][6][14].



**Obrázek 2 Schéma prodlužování uhlíkového řetězce v průběhu biosyntézy MK**

Zdroj: Upraveno podle [15]

Volný palmitát je nutné před dalším využitím aktivovat na palmitoyl-CoA. Dále může být jeho řetězec ještě prodlužován, desaturován nebo podléhá esterifikaci glycerolem či cholesterolem. Prodlužování se děje prostřednictvím mikrosomálních elongáz MK v endoplazmatickém retikulu. Jako C2 zdroj je využíván malonyl-CoA a jako redukční činidlo slouží opět NADPH. K prodlužování dochází ve zvýšené míře např. při tvorbě sfingolipidů (C22, C24) v průběhu myelinizace v mozku [3].

Hlavním regulačním mechanismem syntézy MK je ovlivnění funkce acetyl-CoA-karboxylázy alosterickou modulací prostřednictvím citrátu a palmitátu nebo působením hormonů, jakými jsou inzulín, glukagon, adrenalin. Samotná lipogeneze souvisí také s nutričním stavem organismu a spektrem přijímaných látek. Při hladovění nebo nadměrném příjmu lipidů bude lipogeneze potlačena, a naopak v době sytosti či při nadbytku sacharidů je lipogeneze stimulována [1].

### **BIOSYNTÉZA NENASYCENÝCH MASTNÝCH KYSELIN**

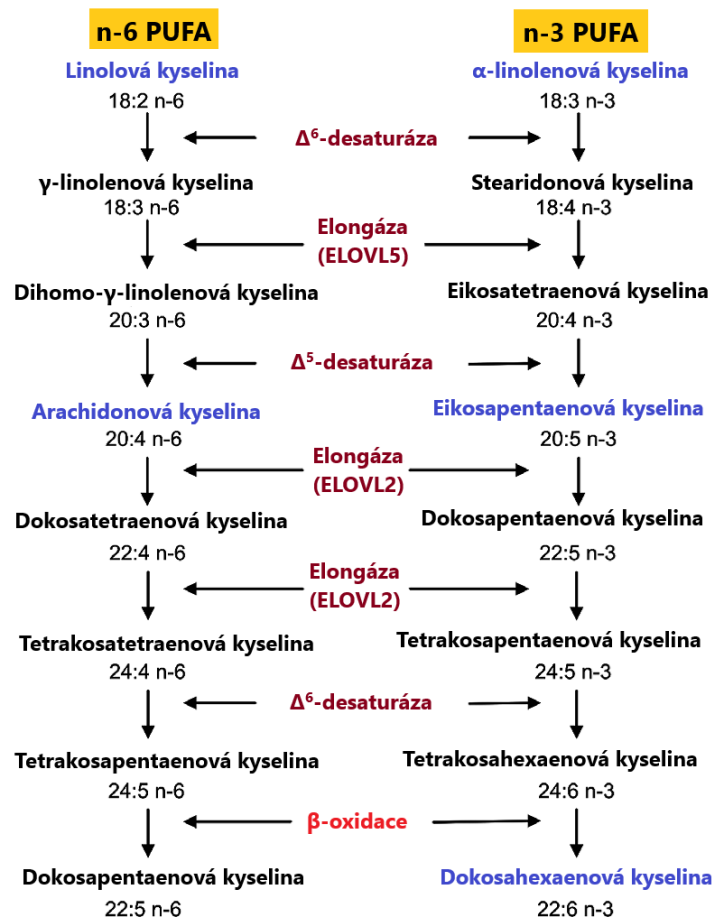
Syntéza nenasycených MK probíhá zejména v játrech modifikací vzniklých nasycených MK. Tvorba dvojných vazeb je umožněna účinkem desaturáz, enzymů uložených v endoplazmatickém retikulu, v přítomnosti molekulárního kyslíku, NADPH či NADH a cytochromu b<sub>5</sub>. V případě živočišného organismu včetně toho lidského je možné vytvořit dvojnou vazbu pouze v polohách  $\Delta^4$ ,  $\Delta^5$ ,  $\Delta^6$  a  $\Delta^9$ . Desaturázy rostlin pak umožňují zavádět dvojně vazby i do polohy  $\Delta^{12}$  a  $\Delta^{15}$  [1][3][6].

Při tvorbě MUFA dochází nejprve k hydroxylaci příslušného nasyceného acyl-CoA. Druhým stupněm je pak dehydratace a odštěpení nenasyceného acylu od koenzymu A. V naprosté většině se dvojná vazba zavádí nejprve do polohy  $\Delta^9$ . Takto v těle vzniká např. kyselina palmitoolejová (16:1, cis  $\Delta^9$ ) z kyseliny palmitové nebo kyselina olejová (18:1, cis  $\Delta^9$ ) z kyseliny stearové. Tyto MK můžeme řadit do rodiny  $\omega$ -7 v případě palmitoolejové kyseliny a do rodiny  $\omega$ -9 v případě kyseliny olejové [1][6].

PUFA pak vznikají dalším působením desaturáz a elongáz. Většina živočichů včetně člověka je limitována čtyřmi typy desaturáz, mezi nimiž chybí právě  $\Delta^{12}$  a  $\Delta^{15}$ -desaturázy vyskytující se ve vyšších rostlinách, řasách a některých houbách. Díky těmto desaturázám jsou zmíněné organismy schopny přeměny kyseliny olejové na LA a posléze i na ALA. Takže dostatečný příjem těchto dvou základních nutričně esenciálních MK (LA a ALA) umožňuje tvorbu ostatních potřebných PUFA i v lidském organismu kombinací vlastního elongačního a desaturázového systému. Dodaná LA (18:2;  $\Delta^9$ ,  $\Delta^{12}$ ;  $\omega$ -6) slouží jako zdroj pro ostatní MK z rodiny  $\omega$ -6, včetně GLA a AA (někdy označované jako semiesenciální). Přijímaná ALA (18:3;  $\Delta^9$ ,  $\Delta^{12}$ ,  $\Delta^{15}$ ;  $\omega$ -3) je potom zdrojem pro EPA, DHA a další členy z  $\omega$ -3 rodiny [1][2][4].

Při přeměně dochází u LA a ALA nejprve k vytvoření dvojně vazby v poloze  $\Delta^6$  pomocí  $\Delta^6$ -desaturázy za vzniku GLA a kyseliny stearidonové (SDA). V dalším kroku jsou MK specifickými elongázami prodlouženy o dva atomy uhlíku na kyseliny dihomo- $\gamma$ -linolenovou (DGLA) a eikosatetraenovou (ETA). Zavedením další dvojně vazby  $\Delta^5$ -desaturázou nakonec vznikají AA a EPA. Vzniklá EPA podléhá u savců ještě dalším důležitým přeměnám. Nejprve je prodloužena na C22 kyselinu dokosapentaenovou ( $\omega$ -3 DPA, klupanodonová) a poté na C24 kyselinu tetrakosapentaenovou. Následuje zavedení dvojně vazby  $\Delta^6$ -desaturázou za vzniku tetrakosahexaenové kyseliny. Ta je posléze zkrácena v průběhu  $\beta$ -oxidace na výslednou DHA s 22 atomy uhlíku a 6 dvojnými vazbami. Přeměna ALA na EPA, případně DHA však probíhá jen v malé míře. Limitující faktory přeměny souvisí s obsahem MK v přijímané stravě, genetickou výbavou, pohlavím, nedostatkem dalších živin a polymorfismem v desaturázách (FADS1, FADS2,

FADS3) a elongázách (ELOVL2). Přičemž dráhy přeměny  $\omega$ -3 a  $\omega$ -6 PUFA se navíc vzájemně ovlivňují z důvodu kompetice o limitované množství těchto enzymů. Větší afinitu k enzymovým systémům vykazují  $\omega$ -3 MK. Podíl obou druhů PUFA je proto velmi významný i z hlediska výživy a následně množství vzniklých skupin eikosanoidních působků, které mají často protichůdné účinky. Jako hodnota podílu LA : ALA, při níž dochází k nejvyšší rychlosti produkce EPA a DHA, se uvádí 1 : 1. Vyšší hladiny DHA pak lze dosáhnout zejména její přímou suplementací. Také ryby produkují EPA a DHA z ALA, a proto jsou pro člověka velmi výhodným zdrojem  $\omega$ -3 PUFA. Obecné schéma přeměny  $\omega$ -3 a  $\omega$ -6 PUFA je znázorněno na obrázku 3 [1][2][4][10][16].



Obrázek 3 Schéma přeměny  $\omega$ -3 a  $\omega$ -6 PUFA

Zdroj: Upraveno podle [13]

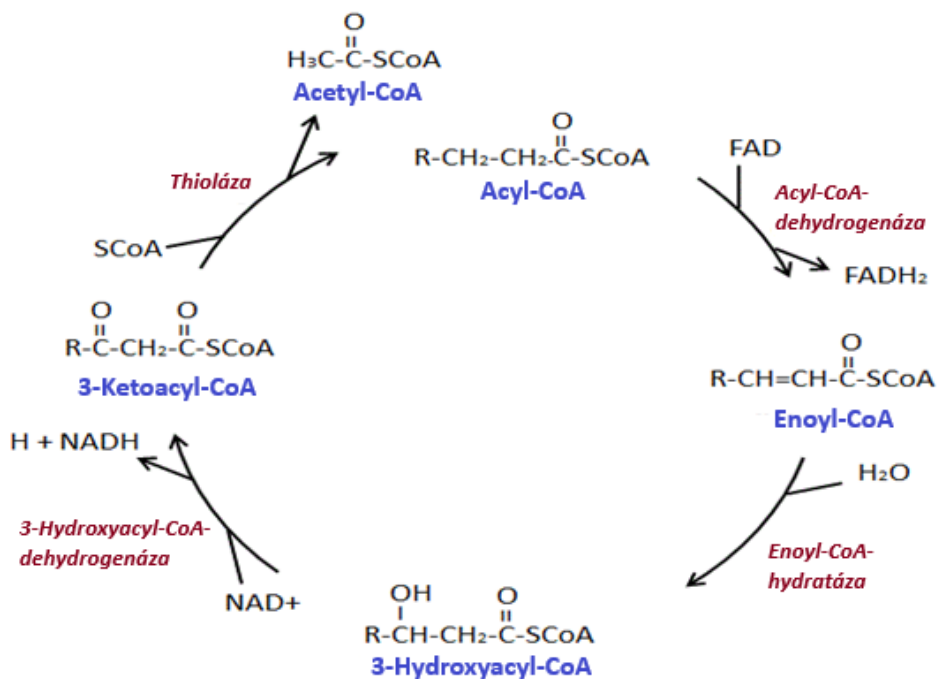
### 2.1.5 Oxidace mastných kyselin

Oxidace MK probíhá oproti biosyntéze uvnitř mitochondrií. Jedná se o katabolický aerobní proces produkující ATP, který využívá specifické enzymy, koenzymy  $\text{NAD}^+$  a FAD. Mastné kyseliny jsou postupně degradovány až na základní jednotku acetyl-CoA. K oxidaci zpravidla dochází, pokud je organismus ve stavu hladovění nebo při diabetu mellitu [1].

Před samotnou katabolickou přeměnou musí být volné MK aktivovány na acyl-CoA pomocí enzymu acyl-CoA-syntetázy. Tato aktivace je podmíněna dodáním energie z ATP. Vzniklý acyl-CoA dále prochází vnější mitochondriální membránou. Acyly tvořené dlouhými řetězci vyžadují pro průchod vnitřní membránou mitochondrií přeměnu na acylkarnitiny. Karnitin se běžně nachází v mnoha tkáních (především ve svalových) a přeměnu zajišťuje enzym karnitinpalmitoyltransferáza I (CPT-I), který se nachází ve vnější mitochondriální membráně.

Transport takto vzniklých acylkarnitinů dovnitř mitochondrie přes vnitřní membránu je umožněn přenašečem karnitin-acylkarnitintranslokázou. Zároveň se přenáší také jedna molekula karnitinu opačným směrem. Enzym karnitinpalmitoyltransferáza II (CPT-II) umístěný na vnitřní straně vnitřní membrány mitochondrie, katalyzuje následnou přeměnu acylkarnitinu zpět na acyl-CoA [1][3].

Acyl-CoA poté v mitochondriální matrix podstupuje opakované štěpení, při němž se z karboxylového konce řetězce uvolňují dvouuhlíkaté molekuly acetyl-CoA. Protože vždy dochází ke štěpení vazby mezi  $\alpha$  a  $\beta$  atomy uhlíku, nazýváme tento proces jako  $\beta$ -oxidace (viz obr. 4). Reakce spojené s tvorbou ATP jsou katalyzovány skupinou enzymů označovaných jako oxidázy MK. Nejprve dochází na uhlíku  $\alpha$  a  $\beta$  k dehydrogenaci vyžadující přítomnost enzymu acyl-CoA-dehydrogenáza a koenzymu FAD. Vzniklý  $\text{FADH}_2$  se reoxiduje v dýchacím řetězci s využitím flavoproteinu přenášejícím elektrony. Vzniklá dvojná vazba následně podléhá reakci katalyzované enoyl-CoA-hydratázou za vzniku 3-hydroxy derivátu. Na uhlíku číslo 3 dále probíhá v přítomnosti koenzymu  $\text{NAD}^+$  dehydrogenace zajištěná enzymem 3-hydroxyacyl-CoA-dehydrogenázou. Thioláza nakonec zajišťuje rozštěpení vazby v pozici 2,3. Výsledkem reakcí je tedy vznik jedné molekuly acetyl-CoA a acyl-CoA s řetězcem kratším o dva uhlíky. Acetyl-CoA může dále vstupovat do citrátového cyklu uvnitř mitochondrie, kde probíhá jeho oxidace na  $\text{CO}_2$  a vodu [1][6].



**Obrázek 4 Schéma  $\beta$ -oxidace MK**

Zdroj: Upraveno podle [17]

K tvorbě ATP dochází prostřednictvím transportu elektronů ze vzniklých  $\text{FADH}_2$  a  $\text{NADH}$  v dýchacím řetězci. Z jednotlivých molekul acetyl-CoA se pak v citrátovém cyklu tvoří množství dalších ATP, přičemž celkový zisk ze štěpení palmitátu činí 106 molů ATP [1].

### **MODIFIKACE $\beta$ -OXIDACE**

V případě MK s lichým počtem uhlíků jsou konečnými produkty štěpení acetyl-CoA a tříuhlíkatý propionyl-CoA. Ten se může následně zapojit do citrátového cyklu nebo do glukoneogeneze coby substrát pro glukózu [1].

MK s velmi dlouhým řetězcem jako např. C20, C22 procházejí modifikovanou formou  $\beta$ -oxidace probíhající v peroxizomech. Zde se nacházejí enzymy degradující dlouhé řetězce MK až na oktanoyl-CoA, který je dále spolu se vznikajícími acetylovými skupinami oxidován v mitochondrii [1].

Další modifikace procesu nastává u nenasycených MK.  $\beta$ -oxidace probíhá klasickým způsobem do vytvoření  $\Delta^3$ -cis-acyl-CoA nebo  $\Delta^4$ -cis-acyl-CoA podle rozmístění dvojných vazeb konkrétní nenasycené MK. V případě  $\Delta^3$ -cis derivátu dochází nejprve k izomerizaci na  $\Delta^2$ -trans-enoyl-CoA (katalyzované  $\Delta^3$ -cis $\rightarrow$  $\Delta^2$ -trans-enoyl-CoA-izomerázou) a následnou hydratací a oxidací je cyklus dokončen. U  $\Delta^4$ -cis derivátů může docházet k dehydrogenaci za vzniku  $\Delta^2$ -trans- $\Delta^4$ -cis-dienoyl-CoA (pomocí enzymu acyl-CoA-dehydrogenáza). Tento meziprodukt je dále redukován na  $\Delta^3$ -trans-enoyl-CoA (enzymem  $\Delta^2$ -trans- $\Delta^4$ -cis-dienoyl-CoA-reduktáza) a izomerizován enzymem  $\Delta^3$ -trans (nebo cis) $\rightarrow$  $\Delta^2$ -trans-enoyl-CoA-izomeráza na sloučeninu  $\Delta^2$ -trans-enoyl-CoA, která je metabolizovaná opět shodně s  $\beta$ -oxidací [1][6].

### **KETOGENEZE**

Pokud dochází k  $\beta$ -oxidaci MK ve zvýšené míře, produkuje jaterní tkáň z acetyl-CoA ketolátky (acetacetát,  $\beta$ -hydroxybutyrát, aceton), které se mezi sebou přeměňují. Tvorba ketolátek se odehrává především v mitochondriích a je zajištěna také klíčovými enzymy 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA-syntázou a methylglutaryl-CoA-lyázou. Z jater jsou ketolátky transportovány do extrahepatálních tkání, pro které představují důležitý zdroj energie. Regulace ketogeneze se děje na třech úrovních: kontrolou hladiny volných MK v krvi (prekursory ketolátek), kontrolou aktivity CPT-I určující poměr esterifikace a oxidace MK a kontrolou rozložení vzniklého acetyl-CoA mezi ketogenezi a citrátový cyklus (oxidace na CO<sub>2</sub>). Do regulace dále zasahuje také poměr hormonů inzulín/glukagon. Ketóza je stav, pro který je typická zvýšená hladina ketolátek v krvi a v moči. Je způsobený hladověním po vyčerpání dostupných sacharidů a po uvolnění volných MK. Zároveň se ale může jednat o jeden z projevů patologických stavů jako např. u diabetes mellitus (DM). Dlouhodobá ketóza pak zapříčiňuje vznik ketoacidózy, která může vést k dalším komplikacím [1].

## **2.2 Příjem PUFA**

Doporučený příjem lipidů ve stravě se pohybuje v rozmezí 25–32 % energetických potřeb organismu. Z toho obsah nasycených MK by měl být menší než 10 %, obsah MUFA v rozmezí 7–19 % a obsah PUFA 15–20 %. Konkrétní doporučené hodnoty se potom liší také dle pohlaví nebo věku (viz např. tab. 2). Pro dosažení optimálního poměru  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 PUFA (1 : 1 až 2 : 1) a snížení rizika kardiovaskulárních onemocnění (KVO) se doporučuje zařadit do stravy ryby ideálně 2–3× týdně a nenadužívat rostlinné oleje s vysokým obsahem  $\omega$ -6 MK. Za vhodné rostlinné oleje jsou považovány řepkový, lněný, ořechový nebo olivový olej. Jako zdroj ALA jsou dále doporučovány přímo vlašské ořechy, semena lnu nebo chia. Naopak nasycené MK by měly být přijímány spíše omezeně a trans mastné kyseliny pak nejlépe nekonzumovat vůbec [4][10].

Asi 98 % PUFA s dlouhým řetězcem (LC-PUFA) se v potravinách nachází ve formě TAG, dále ve formě fosfolipidů, diacylglycerolů nebo esterů cholesterolu. Existuje také řada doplňků stravy i léčivé přípravky s obsahem  $\omega$ -3 LC-PUFA. Tyto jsou obvykle dostupné ve formě TAG, volných mastných kyselin, ethylesterů a fosfolipidů. Nejnižší biodostupnost byla prokázána u ethylesterů, vyšší pak u TAG a volných mastných kyselin. Dále se ukázalo, že díky svým amfifilním vlastnostem vykazují LC-PUFA ve formě fosfolipidů (např. lecitin) větší biodostupnost než TAG a rovněž jsou ve větší míře vychytávány mozkem. Pro vysoký obsah fosfolipidů s DHA je

proto antarktický kril<sup>1</sup> považován za výhodnější zdroj LC-PUFA než rybí olej, se kterým přijímáme MK ve formě TAG. Studie také ukazují, že sn-1 pozice MK vázané na glycerol zvyšuje absorpci příslušného lipidu a tím i jeho přestup do mozku, jelikož nepodléhá hydrolýze pankreatickou fosfolipázou A2 odštěpující MK z pozice sn-2. Tyto poznatky je však nutno potvrdit dalšími studii [10][16].

Bylo zjištěno, že v průběhu evoluce člověka se výrazně zvýšil poměr kyselin  $\omega$ -6/ $\omega$ -3, což úzce souvisí se změnou dietních návyků a životního stylu. V době paleolitu obsahovala strava pravděpodobně mnohem méně nasycených MK, malá a zhruba vyrovnaná množství  $\omega$ -3 a  $\omega$ -6 PUFA a také výrazně méně trans MK. Z původní přirozené hodnoty poměru kolem 1–4 se dnes vlivem narůstajícího množství  $\omega$ -6 PUFA v potravě vyšplhala hodnota až na 15 či dokonce na 50. Jedná se zejména o hodnoty v tzv. západní stravě<sup>2</sup>, přičemž vysoký obsah  $\omega$ -6 PUFA mění fyziologický stav na prozánětlivý, proagregační a protrombogenní charakterizovaný zvýšením viskozity krve, vazokonstrikcí a zkrácením doby krvácení. Tato skutečnost pak stojí za zvýšeným výskytem mnoha chorob. Mezi ně patří především choroby kardiovaskulární soustavy (KVS), spojené s aterosklerózou (ATS) a tromboembolické příhody, ale také DM 2. typu, onkologická onemocnění, deprese nebo obecně zánětlivá onemocnění. Zvýšení hodnoty zmiňovaného poměru bylo sledováno také v mateřském mléce, což může být jedna z příčin narůstající prevalence nadváhy a obezity u dětí [2][10][19][20][21].

Rozložení obsahu  $\omega$ -3 a  $\omega$ -6 PUFA ve stravě silně souvisí se změnami v zemědělství a v typu krmiv pro hospodářská zvířata a ryby, což zapříčiňuje v současnosti nižší obsah  $\omega$ -3 PUFA v mnoha potravinách. Na obsahu PUFA ve stravě se dále podílí hojně využívání hydrogenace a rafinace rostlinných olejů. Udává se také výrazné zvýšení spotřeby rostlinných olejů zejména ze sójových bobů, dále z kukuřice, slunečnice, světlíce nebo bavlníku. Zvýšením příjmu LA dochází ke snižování množství  $\omega$ -3 PUFA ve tkáních i omega-3 indexu<sup>3</sup>. Naopak dieta bohatá na ALA přispívá ke zvyšování konverze ALA na EPA a obsahu EPA v krevních lipidech a krevních buňkách. V tukové tkáni se pak vytvářejí ještě značné zásoby ALA. Hodnoty EPA a DHA rostou ještě více v případě příjmu SDA namísto ALA [10][16][20].

**Tabulka 2 Hodnoty přiměřeného příjmu (AI – adequate intake) u vybraných PUFA v % energetického denního příjmu nebo v mg/den**

| PUFA            | Děti (7-24 měsíců) | Děti (od 2 let) | Dospělí    | Těhotné ženy            | Kojící ženy             |
|-----------------|--------------------|-----------------|------------|-------------------------|-------------------------|
| <b>LA</b>       | 4 %                | 4 %             | 4 %        | 4 %                     | 4 %                     |
| <b>ALA</b>      | 0,5 %              | 0,5 %           | 0,5 %      | 0,5 %                   | 0,5 %                   |
| <b>EPA, DHA</b> | 100 mg/den         | 250 mg/den      | 250 mg/den | + 100–200 mg/den<br>DHA | + 100–200 mg/den<br>DHA |

Zdroj: Vlastní zpracování podle [24]

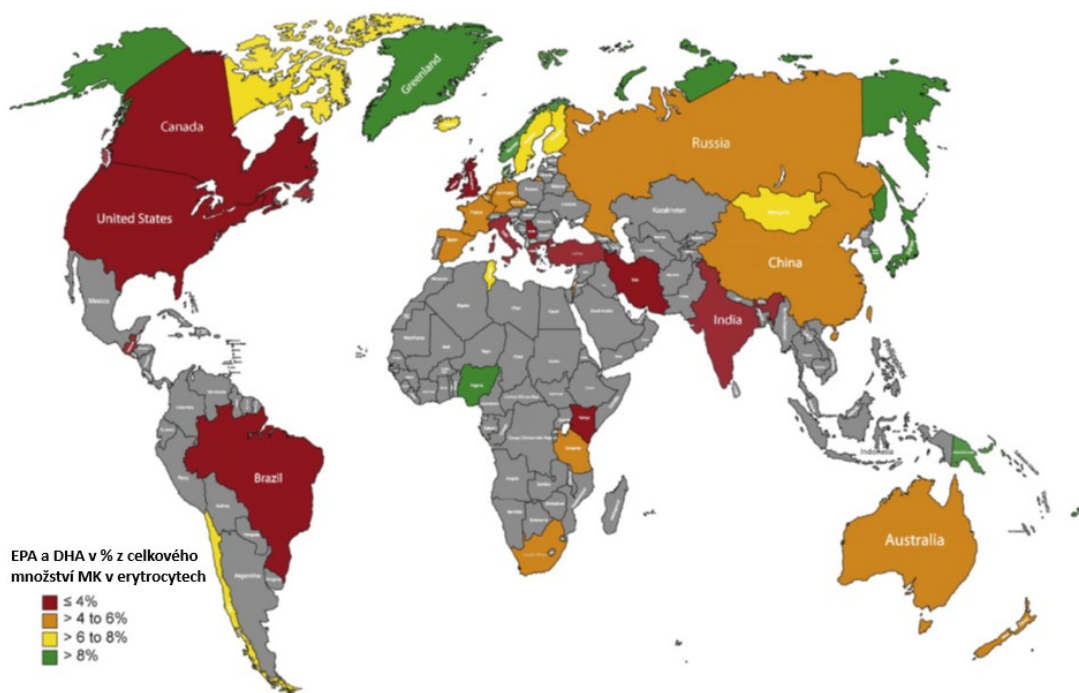
Rozdíly v hodnotách zmiňovaného poměru byly sledovány i v rámci populací různých oblastí světa, jak je znázorněno na obrázku 5. Zjištěné hladiny MK v krvi odpovídaly především jejich

<sup>1</sup> Krunýřovka krillová (*Euphausia superba*) čili kril označuje malé mořské korýše žijící v oceánech především polárních oblastí. Zastupují důležitou úlohu v potravním řetězci, jelikož se živí fytoplanktonem a sami jsou pak zdrojem potravy pro mnoho živočichů včetně ryb [18].

<sup>2</sup> Západní strava (Western diet) je charakterizována vysokým příjmem chuťově atraktivních potravin s nízkou výživovou hodnotou a je spojená se zvýšeným výskytem civilizačních chorob. Zahrnuje potraviny s vysokým glykemickým indexem, bohaté na  $\omega$ -6 PUFA a další [19].

<sup>3</sup> Jedná se o metodu měření procentuálního podílu EPA a DHA z celkového množství MK v buněčné membráně erytrocytů [22][23].

zastoupení v přijímané stravě. Nejpříznivější poměr  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 byl zjištěn u eskymáků v Grónsku. O něco vyšší hodnoty se objevily v Japonsku a vůbec nejvyšší pak v oblasti Evropy a USA. Tuk z mořských ryb je přijímán ve velké míře například na Islandu (1189 mg/den), Barbadosu (1178 mg/den), Japonsku (995 mg/den), dále na Maledivách, Seychelách, v Dánsku, Malajsii, Jižní Koreji nebo Thajsku. Ve většině světa byla naopak pozorována nízká hodnota omega-3 indexu. Velmi nízké hodnoty ( $\leq 4\%$  EPA + DHA) jsou například udávány u populací v Severní Americe (Kanada a USA), ve Střední a Jižní Americe (Guatemala a Brazílie), částech Evropy (Řecko, Irsko, Itálie, Srbsko, Turecko a Velká Británie), na Středním východě (Írán a Bahrajn), v jihovýchodní Asii (Indie) a Africe (Keňa). V případě mnoha oblastí světa se pak nepodařilo získat potřebná data. Další studie zjistila naopak vysoké hodnoty ALA u populace Kréty nebo Japonska se specifickými dietními návyky, což může souviset s jejich nejvyšší očekávanou délkou života na světě. Zvláště v zemích s kriticky nízkými hladinami  $\omega$ -3 PUFA by proto byla vhodná náležitá úprava složení přijímané stravy. Není však jasné, jestli by vůbec pro zajištění doporučeného příjmu EPA a DHA pro světovou populaci vystačily současné přirozené zdroje [2][10][20][25].



**Obrázek 5** Součet hladin EPA a DHA v krvi u populací různých států světa

Zdroj: Upraveno podle [25]

Navíc byla prokázána přímá souvislost mezi hodnotou poměru  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 a mírou mortality v %. Pro snížení rizika chronických onemocnění se proto doporučuje zvýšit množství přijímaných  $\omega$ -3 MK dietou, u prevence KVO například na hodnotu 250–1000 mg/den EPA a DHA. Pro léčbu KVO je pak doporučováno zvýšit příjem EPA a DHA až na 1000–2000 mg/den, přičemž 1000 mg/den představuje podle kardiologických společností obecně standardní dávku. Dále se uvádí, že pokud je hodnota omega-3 indexu erythrocytů  $> 8\%$ , snižuje se riziko náhlé srdeční smrti. V případě, že je přeměna ALA na EPA a DHA nějakým způsobem limitována, má větší význam přijímat přímo EPA a DHA. Ukázalo se, že na hladiny EPA a DHA má zřejmě také vliv užívání hormonální antikoncepce, při kterém byly zaznamenány nižší hladiny EPA a naopak vyšší DHA [2][10][26].

## 2.3 Vliv PUFA na lidský organismus

PUFA ovlivňují celou řadu procesů v lidském těle, a to v rámci centrální nervové soustavy (CNS), KVS, imunitního systému atd. Významnou úlohu sehrávají PUFA jako součásti membrán v živočišných i rostlinných buňkách. Počet vazeb i jejich pozice má na fluiditu membrány zásadní vliv. Přičemž například při zvýšeném příjmu EPA a DHA mohou tyto MK v membráně nahradit AA a kompetitivně je pak ovlivněno i množství vznikajících eikosanoidů. Samotný poměr  $\omega$ -3 a  $\omega$ -6 PUFA v membráně je významný nejen pro její funkci, ale také pro průběh četných buněčných procesů včetně buněčné smrti. V poslední době jsou předmětem výzkumu rovněž účinky MK na genovou expresi. Uplatňují se v buněčné signalizaci jako tzv. druzí poslové nebo jejich náhradníci v dráze přenosu např. přes inositoltrifosfát (IP3) nebo cyklický adenosinmonofosfát (cAMP). Mohou ale také přímo měnit transkripci specifických genů. Zástupci obou skupin PUFA slouží jako ligandy nebo modulátory jaderných receptorů, jakými jsou např. NF- $\kappa$ B (nuclear factor kappa B), PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor) a SREBP-1c (sterol regulatory element-binding protein 1c). Tímto mechanismem pak kontrolují různé geny signalizace v zánětlivé reakci nebo metabolismu lipidů. Dále mohou PUFA a jejich metabolity interagovat s receptory spojenými s G-proteinem (GPCR) [13][20].

Přijímané  $\omega$ -3 PUFA potlačují svými účinky imunitní systém. Bylo prokázáno, že EPA a DHA modulují složení membránové mikrodomény buněk imunitního systému. Existuje významná nepřímá úměrná korelace mezi obsahem EPA v mononukleárních buňkách a schopností těchto buněk produkovat peptidové mediátory zánětu jako TNF- $\alpha$  a IL-1 $\beta$  v reakci na lipopolysacharid coby antigen. Tyto účinky však nejsou pravděpodobně spojené se změnou profilu lipidových působků, ale s potlačením exprese genů kódujících prozánětlivé peptidové mediátory, a tedy s jejich nižší biosyntézou. Předpokládaným mechanismem je inhibice aktivace NF- $\kappa$ B a naopak zvýšená aktivita PPAR- $\gamma$  [13][27].

Pro udržování optimální fluidity membrán v mozku a sítnici je nezbytná zejména DHA. Z toho důvodu je také v šedé hmotě mozkové a v buňkách sítnice bohatě zastoupena především v místech synapsí. Široké rozpětí účinků DHA je zřejmě zapříčiněno vysokým stupněm konformační flexibility vycházející z přítomnosti mnoha nenasycených vazeb v její struktuře. Svůj nemalý vliv má obecně i na neurologické a kognitivní funkce. DHA zaujímá ve fosfolipidech obvykle pozici sn-2 a mění značnou měrou vlastnosti membrány, do které je integrována. Takový typický fosfolipid hojně zastoupený v mozku i sítnici představuje například fosfatidyletanolamin (cefalin). Dále je DHA součástí fosfatidylcholinu, fosfatidylinositolu, fosfatidylserinu nebo pak cerebrosidů a sfigomyelinů. Složením membrán buněk v CNS je pak ovlivněno např. udržování axonů a dendritů, tvar buněk, neuronální plasticita, transport vezikul, dále potom např. absorpce glukózy, ukládání dopaminu, signalizace spojené s G proteinem atd. Se změnami ve složení membrány souvisí také některé psychiatrické a neurodegenerativní poruchy. DHA působí v CNS rovněž prostřednictvím několika odvozených mediátorů, jako jsou neuroprotektiny, resolviny a maresiny. Jejich úkolem je chránit nervovou tkáň proti poranění, ischemii a zánětu. Signalizační dráhu zraku podporuje DHA zvýšenou aktivací rodopsinu. Zvláště u dětí je DHA nepostradatelnou živinou pro správný vývoj sítnice i mozku. Dostatečný příjem  $\omega$ -3 PUFA v kombinaci s  $\omega$ -6 PUFA se proto obecně výrazně doporučuje nejen u novorozenců, ale rovněž v těhotenství. Důležitou úlohu hraje jednak příjem ve stravě a jednak zásoby matky, přičemž do krve plodu se přes placentu přenáší všechny typy PUFA. Bylo zjištěno, že při nedostatku DHA se tělo pokouší tento deficit kompenzovat jinými PUFA z řady  $\omega$ -6 (např.  $\omega$ -6 DPA), avšak tato náhrada není dostatečně efektivní [10][13][21].



Na KVS mají PUFA rovněž velmi významné účinky, ať se jedná o regulaci lipogeneze, hladin cholesterolu, metabolismu adipocytů, krevní srážlivosti nebo zánětu. U  $\omega$ -3 PUFA byla prokázána schopnost snižovat hladinu TAG, a to mechanismem rychlé oxidace MK a inhibice lipogeneze v játrech. Dále je EPA schopna podle některých studií redukovat hladiny cholesterolu v plazmě. Tento účinek je vysvětlován inhibicí enzymů podílejících se na biosyntéze cholesterolu (např. HMG-CoA reduktáza) a potlačením cholesterolového efluxního proteinu ABCA1 (ATP-binding cassette transporter A1). Obecně se pak uvádí, že  $\omega$ -3 PUFA celkově podporují zdraví srdce. Výsledky studií v této oblasti jsou ale často rozporuplné. V případě zvýšeného příjmu AA nebyl vliv na krevní lipidy, agregaci destiček, srážení krve, imunitní funkce ani zánět přímo prokázán [10][23][28][29].

### 2.3.1 Význam PUFA v patologických procesech

PUFA a potažmo z nich vzniklé působky hrají poměrně zásadní roli v rozvoji mnoha patologických stavů. Patří mezi ně například zánět, KVO, diabetes mellitus, obezita, osteoporóza, různé infekce, neurodegenerativní a nádorová onemocnění a další. Za růstem rizika vzniku chronických onemocnění stojí mimo jiné nízký obsah  $\omega$ -3 PUFA v potravinách. V úvahu připadá hned několik možných strategií řešících tento problém. Vedle zvýšení příjmu mastných ryb a obohacování potravin o ALA, rybí a krilový olej sem patří i zavedení krmiv bohatých na  $\omega$ -3 MK do živočišné výroby a využití genetického inženýrství pro úpravu složení PUFA v pěstovaných olejninách. Naopak obecně s podporou zánětu jsou spojené  $\omega$ -6 PUFA jako AA a její prekurzor LA. Epidemiologické studie však ukázaly, že jejich působení je značně komplexní a nejsou tak vždy nutně spojeny jen s prozánětlivými účinky. Tabulka 3 uvádí příklady různých patologických stavů s dysregulovanými hladinami některých MK v analyzovaných vzorcích [10][20][23][30][31].

**Tabulka 3 Příklady onemocnění s dysregulovanými MK v biologických vzorcích**

| Onemocnění                   | Biologický vzorek | Dysregulované MK           | Zdroj |
|------------------------------|-------------------|----------------------------|-------|
| <b>Nádor prsu</b>            | Sérum             | ↑LA, ↓EPA                  | [32]  |
| <b>Nádor tlustého střeva</b> | Plazma            | ↓ALA, LA                   | [33]  |
| <b>Nádor plic</b>            | Sérum             | ↑AA, LA                    | [34]  |
| <b>Alzheimerova choroba</b>  | Sérum             | ↑DHA                       | [35]  |
| <b>Metabolický syndrom</b>   | Plazma            | ↓LA                        | [36]  |
| <b>Schizofrenie</b>          | Erytrocyty        | ↓ $\omega$ -3 DPA, DHA, AA | [37]  |

Zdroj: Vlastní zpracování podle [31]

Poslední dobou je čím dál větší pozornost věnována vlivu genetických polymorfismů typu SNP (jednonukleotidové polymorfismy) na funkce jednotlivých organismů. Tyto polymorfismy se vyskytují také u genů kódujících enzymy důležité pro vznik PUFA v těle (např. desaturázy, elongázy) a ukazuje se, že tak mohou ovlivňovat vznik a vývoj různých onemocnění. Například SNP popsané u  $\Delta^5$  a  $\Delta^6$ -desaturáz mají vliv na hladinu PUFA v plazmě a membránových fosfolipidech a tím se během těhotenství a kojení podílí na utváření inteligenčního kvocientu kojenců. Mohou rovněž při vývinu dítěte zvýšit riziko atopie a ICHS (ischemické choroby srdeční). Určité SNP byly identifikovány také u 5-LOX (5-lipoxygenázy) spojené se zvýšeným rizikem ICHS nebo u COX-2 (cyklooxygenázy 2) spojené se zvýšeným rizikem karcinomu prostaty. Příjem PUFA v potravě by tak měl být ideálně přizpůsoben případné přítomnosti těchto polymorfismů. Na biosyntézu PUFA má rovněž vliv epigenetická regulace exprese příslušných genů [10][26].

V souvislosti s potvrzenými i předpokládanými vlivy PUFA na fyziologické a patologické procesy v organismu se nabízí jejich využití ve farmakoterapii. Na trhu je v současnosti především široký sortiment doplňků stravy s obsahem  $\omega$ -3 PUFA. Takovéto produkty obsahují například rybí olej, krilový olej, olej z tresčích jater nebo řasový olej. Obvyklá dávka 1000 mg rybího oleje poskytuje přibližně 180 mg EPA a 120 mg DHA, ale dávky se mohou různě lišit. Některé produkty jsou navíc doplněny o vitamíny rozpustné v tucích. Mezi léčivé přípravky obsahující  $\omega$ -3 MK pak patří především parenterální výživa (např. infuzní emulze Nutriflex Omega peri, Lipoplus 20%, Omegaven). Registrovány byly rovněž léčivé přípravky s jinými indikacemi jako např. hypertriglyceridémie nebo adjuvantní léčba v sekundární prevenci po infarktu myokardu (např. Omacor, Teromeg, Dualtis). Vzhledem k nedostatečným důkazům o prospěšnosti  $\omega$ -3 PUFA v těchto a jiných indikacích se však takových léčivých přípravků zatím příliš mnoho neobjevilo. Nenasycené MK lze ve formě sójových fosfolipidů nalézt také například v léčivých přípravcích používaných při onemocněních jater (např. Essentiale) [23][38][39][40].

### **KARDIOVASKULÁRNÍ A METABOLICKÁ ONEMOCNĚNÍ**

Bylo prokázáno, že  $\omega$ -3 PUFA mohou především v sekundární prevenci snižovat riziko KVO spojených s dyslipidemií, zvýšenou srážlivostí krve nebo poruchami srdečního rytmu. Ukazatelem hladin  $\omega$ -3 PUFA může být opět již zmíněný omega-3 index v erytrocytech, jehož hodnota nepřímo úměrně koreluje s rizikem KVO. Inverzní vztah je pozorován také u míry příjmu ryb a rizika vzniku a mortality na KVO. Tyto efekty jsou závislé na dávce a v úvahu připadá hned několik možných mechanismů účinku. Nejsilnější účinek  $\omega$ -3 PUFA představuje zejména prevence vzniku ventrikulární fibrilace a náhlé srdeční smrti. Tyto příznivé účinky jsou vysvětlovány antitrombotickým působením  $\omega$ -3 PUFA nebo jejich vlivem na excitovatelnost srdeční buňky (antiarytmické působení). Zejména pak u DHA byl zjištěn vliv na snížení tepové frekvence a krevního tlaku. Jedním z mechanismů účinku  $\omega$ -3 PUFA je blokování syntézy TAG a VLDL v játrech a potlačení produkce apolipoproteinu B. Chronický příjem rybího oleje také snižuje postprandiální koncentraci TAG. Dále byl zjištěn určitý vliv  $\omega$ -3 PUFA na snižování hladin cholesterolu v plazmě coby jednoho z rizikových faktorů KVO, čímž se zásadně odlišují od SFA. Nežádoucí účinky SFA na hladinu LDL cholesterolu a TAG se pak projevují právě především při současném nedostatku  $\omega$ -3 PUFA. ALA a EPA představují přirozené látky pro prevenci i léčbu hypercholesterolemie a dalších chronických onemocnění. Podle výsledků studií se však plazmatická hladina LDL cholesterolu snižuje až při vysokých dávkách rybího oleje a koncentrace HDL cholesterolu zůstává beze změny. Jinými mechanismy než redukcí hladiny cholesterolu pak EPA a DHA potlačují také rozvoj ATS. Jsou jimi například inhibice migrace monocytů do plaku, menší produkce cytokinů včetně IL-1, stimulace endoteliální produkce NO atd. Celkově metabolismus adipocytů je rovněž ovlivňován množstvím  $\omega$ -3 a  $\omega$ -6 PUFA. Obě skupiny MK zasahují do regulace genů spojených s lipogenezí a adipogenezí. Existuje mnoho studií hodnotících spojitost především mezi  $\omega$ -3 PUFA a výskytem metabolických a KVO a jejich rizikovými faktory včetně krevního tlaku, glykémie na lačno nebo hladiny TAG. V jednotlivých studiích bylo prokázáno konkrétně nižší riziko nefatálních i fatálních projevů ICHS (zejména v rámci sekundární prevence). Zvyšování příjmu EPA a DHA nad průměrnou hodnotu (přibližně 200 mg/den) už se ukázalo klinicky nevýznamné. Ačkoli EPA a DHA pravděpodobně působí na odlišné rizikové faktory KVO, jejich účinky se vhodně doplňují. Naopak studie s LA ukazují, že  $\omega$ -6 PUFA oxidačně modifikují LDL cholesterol, zvyšují odpověď trombocytů na agregaci nebo například potlačují imunitní systém. Výsledky některých studií však vykazují i jistou kontroverzi účinku (např. klinický význam podávání ALA). Proto jsou zapotřebí ještě další velké, randomizované, dvojitě zaslepené, kontrolované klinické studie s cílem potvrdit úlohu  $\omega$ -3 PUFA v léčbě a prevenci KVO [10][16][20][21][23][41].

Příznivé účinky  $\omega$ -3 PUFA byly zjištěny také u pacientů s obezitou a s dalšími metabolickými poruchami. Mechanismus tohoto působení souvisí s ovlivněním termogenní funkce hnědé tukové tkáně prostřednictvím transmembránového proteinu termogeninu. Aktivací tohoto proteinu dochází na vnitřní mitochondriální membráně k odpojení dýchacího řetězce od tvorby ATP. Způsobený zpětný tok protonů z mezimembránového prostoru do matrix mitochondrie nevytváří ATP, ovšem současně dochází ke spotřebě kyslíku. Energie protonového gradientu se tedy neefektivně přeměňuje na teplo. Tato tzv. netřesová termogeneze je specifická právě pro hnědou tukovou tkáň a vyvolává ji lipolýza indukovaná katecholaminem nebo expozice těla chladu. Jelikož EPA tento typ termogeneze zvyšuje, může se tím podílet na předcházení obezité [10][42].

Hyperinzulinémie a inzulinová rezistence jsou nepřímo úměrně spojeny s množstvím C20 a C22 MK v membránových fosfolipidech svalových buněk. Dostatečné množství AA, EPA a DHA tedy přispívá ke zvýšení fluidity membrány, počtu inzulinových receptorů a zvýšenému působení inzulinu. Naopak trans MK způsobují sníženou fluiditu membrány a sníženou vazbu inzulinu na jeho receptor, což vede ke zhoršenému působení inzulinu, inzulinové rezistenci a ve výsledku až k hyperinzulinémii. Výsledky studie také přesvědčivě ukázaly, že příjem  $\omega$ -3 PUFA při terapii DM 2. typu může snížit koncentraci TAG coby rizikového faktoru onemocnění bez nežádoucího ovlivnění kontroly glykémie. Mezi další příznivé účinky  $\omega$ -3 PUFA patří zlepšení vstřebávání glukózy a hypotalamické regulace u diabetiků [10][20].

### **NEUROLOGICKÁ ONEMOCNĚNÍ**

Množství DHA a EPA v CNS může být úzce spojeno např. s depresí, Alzheimerovou či Parkinsonovou chorobou. PUFA zasahují v CNS do mnoha procesů včetně modulace neuroimunitních, apoptotických a dalších drah. Antidepresivní účinek je vysvětlován působením na osu hypotalamus-hypofýza-nadledviny nebo endokannabinoidní metabolismus včetně ovlivnění nálady, chuti k jídlu či vnímání bolesti. Podle mnoha studií stojí za depresí deficit  $\omega$ -3 PUFA a zvýšená produkce eikosanoidů odvozených od  $\omega$ -6 PUFA. Toto tvrzení podporuje rovněž prokázání nízké prevalence deprese v oblastech s vysokým příjmem mořských plodů (např. Japonsko). Zejména v kombinaci s dalšími terapeutickými postupy tak mohou  $\omega$ -3 PUFA přispívat ke zmírnění symptomů lehké a střední deprese. Podle výsledků dalších studií mají pacienti s Alzheimerovou chorobou nižší sérové hladiny DHA než zdraví lidé. Celkově se však ukazuje, že suplementace  $\omega$ -3 PUFA nemá na kognitivní funkce u zdravých ani nemocných výrazný vliv. Určitý benefit byl zaznamenán pouze u lidí s mírnou kognitivní poruchou. V úvahu tedy přichází uplatnění  $\omega$ -3 PUFA jako doplňkové léčby především u depresivních poruch, detaily je však ještě třeba ustanovit dalšími studiemi. Příznivé účinky EPA byly zjištěny rovněž u dalších chorob CNS (např. roztroušená skleróza). Dále EPA prostřednictvím svých metabolitů podporuje regenerační proces remyelinizace po toxickém poškození nervové tkáně. Studie rovněž prokázaly, že doplňování  $\omega$ -3 a  $\omega$ -6 PUFA u dětí mělo příznivý vliv na jejich hyperaktivitu spojenou s poruchou pozornosti, vývojovou poruchu koordinace a pozorována byla i lepší schopnost číst [10][23][43].

### **NÁDOROVÁ ONEMOCNĚNÍ**

Podle řady studií lze konstatovat, že zatímco  $\omega$ -6 PUFA mohou rozvoj karcinogeneze podporovat,  $\omega$ -3 PUFA jej potlačují, a to díky jejich vlivu na snížení schopnosti proliferace, angiogeneze či metastazování a současně na zvýšení apoptózy. Snížení rizika karcinogeneze ale také obecně závisí na faktorech, jakými jsou například pohlaví, lidská rasa, zdroj  $\omega$ -3 PUFA nebo polymorfismy v genech enzymů souvisejících s metabolismem lipidů (např. COX, LOX). Určitý vliv

může mít rovněž přítomnost jiných onemocnění nebo užívání léků (nesteroidní antiflogistika, statiny atd.). Mezi možné mechanismy protektivního působení  $\omega$ -3 PUFA patří pozměnění složení lipidů v plazmatické membráně, což ovlivňuje interakci s buňkami imunitního systému. Zvýšením  $\omega$ -3 MK se může také například snížit množství EGFR (receptor epidermálního růstového faktoru) v membránových mikrodoménách. Dále indukují apoptózu v nádorových buňkách prostřednictvím regulace neenzymatické peroxidace lipidů, následného zvýšení množství kyslíkových radikálů a aktivace příslušných kaspáz. Mohou také navozovat down regulaci onkogenů a G1 cyklinů skrze aktivaci eIF2 $\alpha$  kinázy (eukaryotic initiation factor 2 alpha kinase) nebo působit prostřednictvím buněčných signalizačních mediátorů. Významný vliv na potlačení metastazování nádorů poskytuje zejména inhibice NF- $\kappa$ B. Dále mohou působit  $\omega$ -3 PUFA přímo coby ligandy pro nukleární receptory, jakými jsou také PPAR a RXR- $\alpha$  (retinoid X receptor alpha). Celý proces je ovlivněn i zásahem do tvorby cytokinů. Výsledky studií se však mnohdy rozcházejí, což může být způsobeno vedle výše uvedených faktorů třeba i současně vysokým příjmem  $\omega$ -6 PUFA. Růst nádorových buněk mohou podporovat rovněž některé působky vzniklé z  $\omega$ -6 PUFA. Podstatnějším ukazatelem množství přijatých PUFA se tedy zdá být spíše poměr  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 [2][10][13][44][45][46].

### **DALŠÍ ONEMOCNĚNÍ**

Pro své protizánětlivé účinky bývají  $\omega$ -3 PUFA spojovány také s prevencí relapsů Crohnovy choroby<sup>4</sup>. Za účelem potvrzení těchto příznivých účinků bylo provedeno mnoho studií. Některé z nich zahrnuly do sledovaných diagnóz také ulcerativní kolitidu nebo revmatoidní artritidu (RA). U zánětlivých střevních onemocnění dochází při příjmu  $\omega$ -3 PUFA k jejich zakomponování do střevní sliznice a ke změně profilu zánětlivých mediátorů. Převážná většina výsledků však tento potenciální účinek nepotvrzovala příliš spolehlivě klinickým přínosem. Závěry studií jsou také často protichůdné. Naopak v případě RA vykazují studie přesvědčivější důkazy o příznivém vlivu  $\omega$ -3 PUFA na příznaky této choroby. Přesto však u všech zmíněných onemocnění je v této oblasti zapotřebí provést ještě další výzkumné projekty [47][48][49][50][51][52][53].

Problematika příjmu  $\omega$ -3 PUFA byla zkoumána rovněž v souvislosti s očními onemocněními. Například konzumace většího množství mastných ryb a  $\omega$ -3 PUFA je podle některých studií spojena s nižším rizikem rozvoje věkem podmíněné makulární degenerace (AMD). Suplementace EPA a DHA u pacientů s AMD však nesnižuje riziko progresu choroby do pokročilé fáze [23].

Bylo zjištěno, že jistý příznivý účinek mají  $\omega$ -3 PUFA také v prevenci a léčbě osteoporózy. Toto působení je vysvětlováno jejich vlivem na absorpci vápníku, peroxidaci lipidů, produkci eikosanoidů, hormonální změny nebo genovou expresí. Obecně mohou být  $\omega$ -3 PUFA zodpovědné za zvýšení absorpce vápenatých iontů a snížení jejich vylučování do moči, dále za snížení TNF- $\alpha$  a celkově za zlepšení BMD (bone mineral density). Například ALA přijatá potravou může regulovat tvorbu a mineralizaci kostí udržováním aktivity kostní alkalické fosfatázy a také snižuje hladiny N-terminálního telopeptidu coby markeru kostní resorpce. Díky snížení produkce prostaglandinu E<sub>2</sub>, který silně stimuluje kostní resorpci, se nabízí uplatnění  $\omega$ -3 PUFA i přímo v terapii osteoporózy [10][54].

---

<sup>4</sup> Jedná se o chronické zánětlivé onemocnění na autoimunitním podkladě postihující tenké a tlusté střevo.

## 2.4 Eikosanoidy a další metabolity PUFA

Odvozením od eikosapolyenových MK složených z 20 atomů uhlíku vznikají látky zvané eikosanoidy. Jsou to lokálně působící signální lipidové mediátory ovlivňující nejrůznější fyziologické procesy. Kromě toho také zasahují do patofyziologie zánětu a mnoha různých chorob. Dělí se na leukotrieny (LT) a prostanoidy. Druhá zmíněná skupina pak zahrnuje prostaglandiny (PG), prostacykliny (PC) a tromboxany (TX). Mezi neklasické eikosanoidy se řadí lipoxiny. Dokosanoidy pak představují skupinu endogenních oxygenovaných metabolitů odvozených od DHA [1][6][10][55][56].

Termínem *specialized pro-resolving mediators* (SPM) lze obecně označit skupinu dalších lipidových mediátorů vycházejících z PUFA nejen s 20 uhlíky ve struktuře. Vyznačují se především tím, že se podílejí na ukončení neboli rezoluci zánětlivého procesu a podporují regeneraci tkání. Skupina zahrnuje lipoxiny (LX), resolviny (Rv), protektiny (PD) a maresiny (MaR). Prekursorem pro LX jsou  $\omega$ -6 PUFA a z  $\omega$ -3 PUFA pak vznikají Rv, PD, a MaR [57][58].

K syntéze eikosanoidů dochází téměř ve všech typech buněk lidského těla. V každé tkáni však produkce probíhá rozdílnou měrou a s rozdílnou specifitou. PG se tvoří například v buňkách ledvin, plic, myokardu, v semenných váčcích atd. Cévní stěnou jsou produkovány PC. V žírných buňkách, v leukocytech obecně a v trombocytech pak vznikají LT. V leukocytech se také tvoří LX. Místem produkce TX jsou pak výlučně trombocyty. Množství vytvořených eikosanoidů se pohybuje v řádu pikogramů a jejich intenzivní účinky jsou vyváženy velmi krátkým biologickým poločasem trvajícím pouze několik minut. Degradace probíhá enzymatickou či neenzymatickou cestou, zpravidla hydrolýzou. Podobně jako některé hormony účinkují eikosanoidy převážně skrze vazbu na specifický receptor spojený s G-proteinem zahrnující v signální dráze obvykle cAMP (viz tab. 4). Další z nich pak aktivují nukleární receptory jako např. PPAR $\gamma$  nebo PPAR $\delta$ . Eikosanoidy působí jak autokrinně, tak parakrinně. Přesuny přes buněčnou membránu jsou zajišťovány efluxními transportéry z rodiny MRP (multidrug resistance-associated protein) pro PG a LT a dále influxním transportérem pro PG (PGT) [1][3][6][59].

**Tabulka 4 Transmembránové receptory vybraných eikosanoidů**

| Skupina mediátorů  | Název mediátoru                            | Receptory mediátoru |
|--------------------|--|---------------------|
| <b>Prostanoidy</b> | PGD <sub>2</sub>                           | DP1, DP2            |
|                    | PGE <sub>2</sub>                           | EP1, EP2, EP3, EP4  |
|                    | PGF <sub>2<math>\alpha</math></sub>        | FP                  |
|                    | PGI <sub>2</sub>                           | IP                  |
|                    | TXA <sub>2</sub>                           | TP                  |
| <b>Leukotrieny</b> | LTB <sub>4</sub>                           | BLT1, BLT2          |
|                    | cysteinyllové LT                           | CysLT1, CysLT2      |
| <b>Lipoxiny</b>    | LXA <sub>4</sub> , 15-epi-LXA <sub>4</sub> | ALX                 |

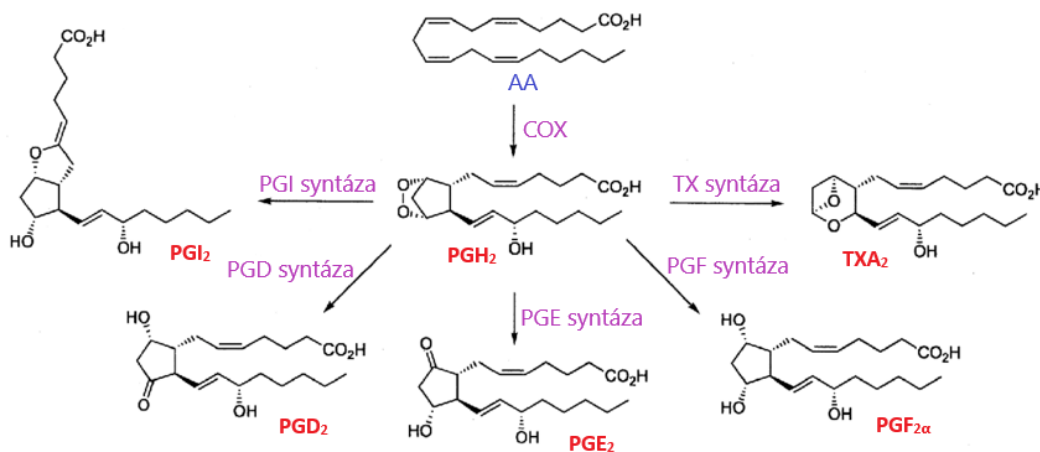
Zdroj: Vlastní zpracování podle [59][60]

### 2.4.1 Biosyntéza eikosanoidů

Zdroje pro tvorbu eikosanoidů představují především AA a EPA, prekurzorem může být také DGLA. Tyto PUFA jsou v těle k dispozici buď jako součásti fosfolipidů tvořících buněčnou membránu, nebo jsou přijaty potravou. Rovněž mohou v těle vznikat přeměnou LA a ALA získaných ze stravy. V prvním kroku biosyntézy eikosanoidů tedy obvykle dochází k odštěpení PUFA z membránového fosfolipidu vlivem fosfolipázy A2 (PLA2), a to zpravidla z pozice druhého uhlíku glycerolu. Tento krok může být inhibován působením kortikosteroidů coby

protizánětlivých látek prostřednictvím proteinu lipokortin. Bylo zjištěno, že v mozkové tkáni může být AA uvolněna rovněž hydrolýzou endokanabinoidu 2-arachidonoylglycerolu působením enzymu monoacylglycerol lipáza (MAGL). Uvolněná MK je následně přeměňována obecně dvěma možnými základními cestami, a to cyklizující nebo lipoxygenázovou. Mezi zmíněnými drahami pak probíhá kompetice o výchozí MK coby o substrát [1][3][6][61].

Cyklizující (cyklooxygenázovou) dráhou se tvoří všechny prostanoidy, tedy PG, PC i TX. Prostřednictvím cyklooxygenázy (= prostaglandin-H-syntázy) dochází v hladkém endoplazmatickém retikulu za přítomnosti dvou molekul kyslíku k zacyklení dvacetihlíkatého řetězce a zároveň k zavedení kyslíku do molekuly za vzniku hydroperoxy-endoperoxidu (PGG). Vytvořením vazby mezi uhlíky C8 a C12 ve výchozí MK tedy vzniká cyklopentanový kruh. Díky dvojí aktivitě COX podléhá dále produkt peroxidázové reakci, při níž je hydroperoxidová funkční skupina redukována na alkoholovou. Výsledný endoperoxid prostaglandin H (PGH) je následně vlivem dalších enzymů přeměňován přímo na jednotlivé prostanoidy. Izomerázy či reduktázy vytvářejí různé typy PG (např.  $PGD_2$ ,  $PGE_2$ ,  $PGF_{2\alpha}$ ) s typickým pětičlenným kruhem ve struktuře. Účinkem tromboxan syntázy vznikají TX se šestičlenným kruhem obsahujícím kyslík (např.  $TXA_2$ ,  $TXB_2$ ). PC (např.  $PGI_2$ ) jsou pak produkovány pomocí prostacyklin syntázy a obsahují kyslík v jednom ze dvou pětičlenných kruhů ve struktuře. V každé buňce však může vznikat pouze jediný typ prostanoidu. Struktury se od sebe odlišují svými substituenty i počtem a rozmístěním dvojných vazeb, podle čehož vznikají také jejich názvy. Dle typu jednotlivých substituentů jsou prostanoidům přiřazena velká písmena. Čísla v dolním indexu pak značí počet dvojných vazeb v řetězci a řecká písmena ( $\alpha$  nebo  $\beta$ ) slouží případně k popisu stereochemie OH-skupiny. Obdobným způsobem se vytváří názvy také v případě dalších eikosanoidů. Na obrázku 6 je uvedeno obecné schéma biosyntézy prostanoidů z AA [1][3][6][62][63].



**Obrázek 6 Schéma biosyntézy prostanoidů z AA**

Zdroj: Upraveno podle [64]

U enzymu COX rozeznáváme dvě základní izoformy, a to COX-1 a COX-2. Později byla objevena též izoforma COX-3, kterou kóduje stejný gen jako COX-1. Ve větším množství je COX-3 exprimována především v cerebrálních endoteliálních buňkách. Téměř ve všech typech tkání se pak nachází konstitutivní izoforma COX-1 podílející se významně například na ochraně sliznice GIT, perfuzi ledvin nebo správné funkci trombocytů. Indukovatelná izoforma COX-2 je naproti tomu přítomna především v místě zánětu nebo poranění tkáně. Například aktivované lymfocyty T a B silně exprimují COX-2 a produkují tak větší množství určitých prostanoidů (zejména  $PGE_2$ ,  $PGD_2$ ). Zvýšená exprese COX-2 byla zaznamenána také při procesu kancerogeneze. Studie ovšem

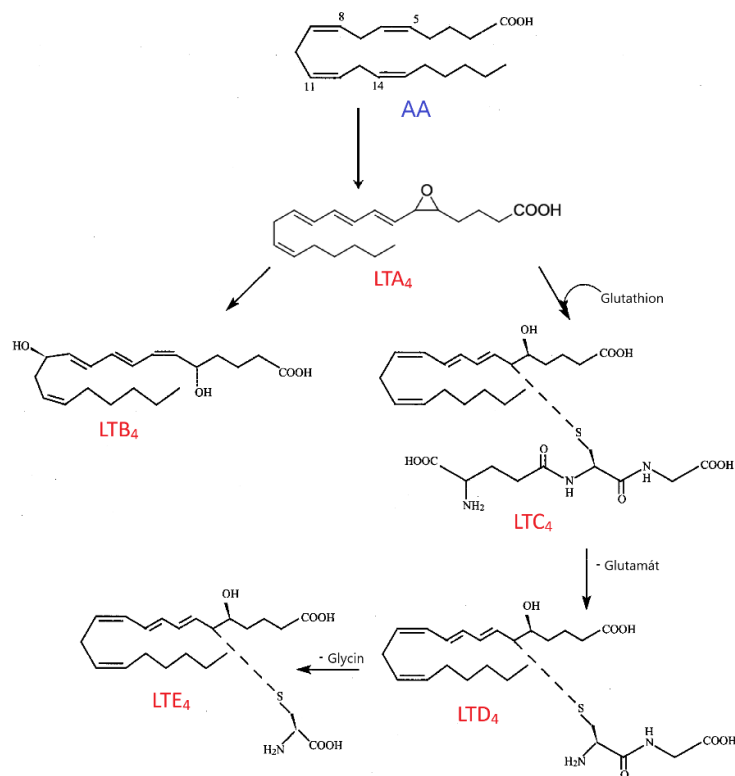
prokázaly, že zmíněné rozdělení funkcí izoform je značně zjednodušené. Bylo zjištěno, že COX-2 přispívá ke konstitutivní tvorbě prostanoidů např. v oblasti mozku, ledvin, plic nebo střev. Expresi COX-1 je naopak možné indukovat zánětlivou reakcí. Inhibice obou těchto izoenzymů a tím pádem inhibice produkce příslušných eikosanoidů je využívána jako mechanismus účinku nesteroidních antiflogistik (NSAID), přičemž poměr inhibice COX-2/COX-1 se u jednotlivých léčivých látek liší. V případě selektivní inhibice jedné z izoform COX byla následně zaznamenána v oblasti GIT up regulace druhé izoformy. Kyselina acetylsalicylová (ASA) ireverzibilně inhibuje COX přímou acetylací v aktivním místě enzymu, zatímco ostatní NSAID (např. ibuprofen, indometacin) účinkují jako reverzibilní inhibitory enzymu mechanismem kompetice s AA v aktivním místě. Z léčiv působících inhibičně na izoenzym COX-3 lze pak uvést například paracetamol nebo metamizol. Syntéza prostanoidů může být obecně zastavena také samotným enzymem díky jeho schopnosti sebedestrukce [1][3][55][57][62][65][66][67][68].

Lipoxigenázovou dráhou se tvoří deriváty PUFA s otevřenými řetězci, jakými jsou LT a LX. Vznikají účinkem enzymu lipoxigenáza, který zajišťuje zavedení kyslíku do struktury MK v pozici 5, 12 nebo 15. Tím dochází k oxidaci PUFA na lineární hydroperoxidový derivát (v případě AA vzniká HPETE = hydroperoxyeikosatetraenová kyselina). V biosyntéze LT s typicky třemi konjugovanými dvojnými vazbami ve struktuře se uplatňuje pouze 5-LOX, která je aktivována proteinem FLAP<sup>5</sup>. Ze vznikající 5-HPETE se ve druhém kroku reakce tvoří nestálý epoxid LTA<sub>4</sub>, který se příslušnými enzymy přeměňuje buď na LTB<sub>4</sub> nebo na LTC<sub>4</sub> po navázání tripeptidové molekuly glutathionu. Po odštěpení glutamátu z LTC<sub>4</sub> vzniká LTD<sub>4</sub>, který se následným odštěpením glycinu mění na LTE<sub>4</sub>. Poslední tři zmiňované metabolity se mohou také souhrnně označovat jako cysteinylóvé LT podle aminokyseliny přítomné v jejich struktuře. Biosyntéza LT z AA je schematicky znázorněna na obrázku 7. Kombinací působení více typů LOX se pak z AA vytvářejí LX obsahující čtyři konjugované dvojně vazby a tři hydroxylové skupiny ve struktuře. Mezi zástupce této skupiny patří LXA<sub>4</sub> a LXB<sub>4</sub>. Produkty lipoxigenázové dráhy mohou být i další hydroxylové deriváty výchozí dvacetihlíkaté PUFA (např. HETE = hydroxyeikosatetraenové kyseliny). Z EPA vznikají vedle LT řady 5 také resolviny řady E (RvE1, RvE2, RvE3) působením 5-LOX a dalších enzymů. Specifické druhy autakoidů vznikají rovněž z C22 DHA. Jsou jimi resolviny řady D (D1 až D6), protektin D1(PD1)<sup>6</sup> a maresiny (MaR1, MaR2). V přeměně se uplatňují 12-LOX a 15-LOX [1][6][10][57][59][63][69][70].

---

<sup>5</sup> FLAP (5-LOX-activating protein) je transmembránový protein umožňující navázání AA a její přenos na aktivní místo enzymu. Zajišťuje tak správnou funkci 5-LOX [63].

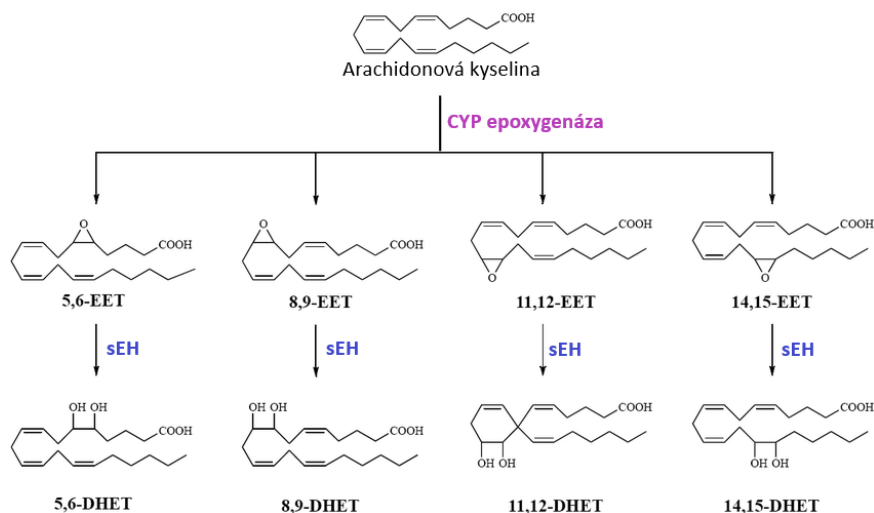
<sup>6</sup> V CNS bývá označován jako neuroprotektin D1 (NPD1) [57].



**Obrázek 7 Schéma biosyntézy LT z AA**

Zdroj: Upraveno podle [66]

Některé metabolity PUFA vznikají prostřednictvím skupiny enzymů nazývané cytochrom P450 (CYP), které tak vytvářejí další samostatnou biosyntetickou dráhu. Působením CYP epoxygenázy probíhá například z AA syntéza epoxyeikosatrienových kyselin (EET). Tyto produkty mohou být následně přeměněny solubilní epoxid hydrolázou (sEH) na méně aktivní dihydroxyeikosatrienové kyseliny (DHET), viz obr. 8. Analogické produkty mohou poskytovat také EPA či DHA. Využitím dalšího enzymu CYP ω-hydroxylázy pak vzniká z AA 20-hydroxyeikosatetraenová kyselina (20-HETE). CYP se podílí také například na biosyntéze resolvinů řady E [10][13][57][69][71][72].

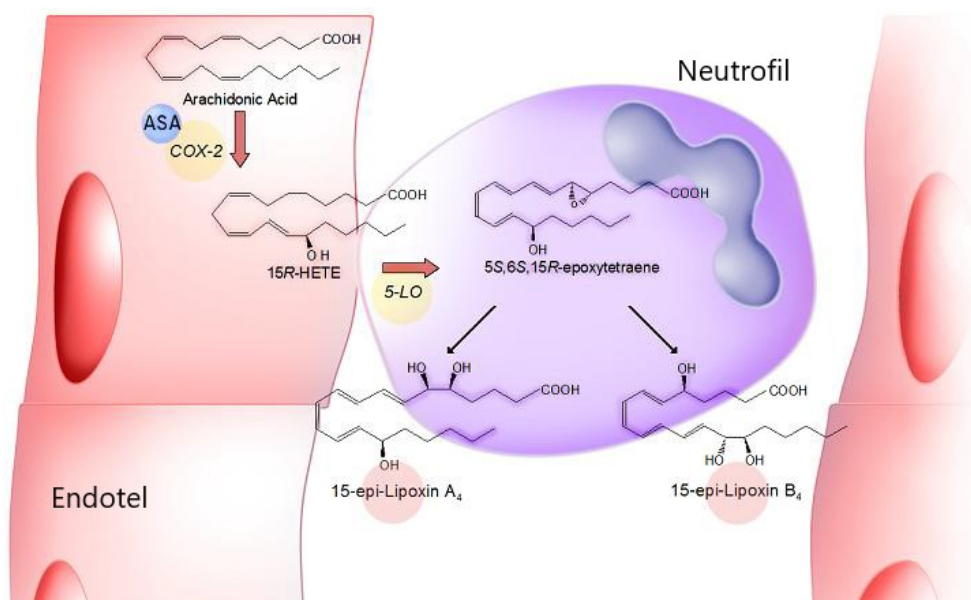


**Obrázek 8 Přeměny AA působením CYP na jednotlivé EET a DHET**

Zdroj: Upraveno podle [73]



Zvláštní skupina SPM pak vzniká působením COX-2 modifikované přijatou ASA. Vlivem ASA dochází k nevratné acetylaci COX-1, avšak v případě izoformy COX-2 není funkce enzymu acetylací blokována kompletně. Tímto způsobem jsou obecně produkovány epimery jednotlivých chirálních struktur oproti jejich klasické cestě vzniku a souhrnně se označují jako *aspirin-triggered specialized pro-resolving mediators* (AT-SPM). Přičemž právě stereochemie molekul je klíčová pro navázání na jejich příslušný receptor a pro specifické účinky. AA je modifikovanou COX-2 přeměněna na 15R-HETE, ze které se dále působením 5-LOX vytváří 15-epi-LXA<sub>4</sub> nebo 15-epi-LXB<sub>4</sub> spadající do skupiny *aspirin-triggered lipoxins* (ATL), viz obr. 9. Mezi tzv. *aspirin-triggered resolvins* (AT-Rv) pak řadíme E-sérii 18R resolvinů vznikajících z EPA a D-sérii 17R resolvinů z DHA. Dále byla v mozkové tkáni objevena analogická syntéza epimeru s názvem *aspirin-triggered neuroprotectin D1* (AT-NPD1) [57][67][74][75][76].

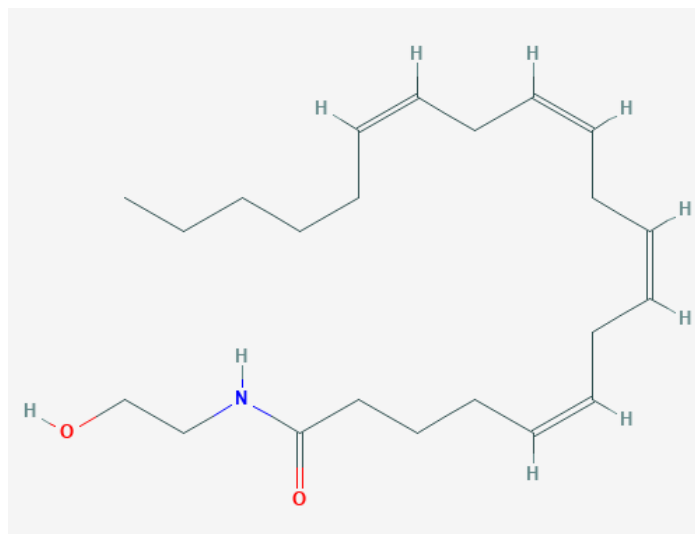


**Obrázek 9 Schéma biosyntetické dráhy ATL**

Zdroj: Převzato z [70]

Kromě již zmíněných působků existuje spousta dalších objevených metabolitů odvozených od PUFA. Patří mezi ně například endokanabinoidy, přirozené ligandy kanabinoidních receptorů (CB1, CB2). Jedná se o tělu vlastní látky s významnými biologickými vlastnostmi. Řadí se k nim primárně anandamid (N-arachidonylethanolamid, viz obr. 10) a 2-arachidonoylglycerol. Bylo prokázáno, že aktivací příslušných receptorů mohou vyvolávat podobné účinky jako kanabinoidy získané z konopí (*Cannabis sativa*). Působením enzymů COX-2, 12-LOX, 15-LOX či CYP pak mohou vznikat oxygenované metabolity endokanabinoidů. Například přeměnou anandamidu vlivem COX-2 se tvoří etanolamidy některých prostanoidů nazývané prostamidy. Další skupina působků odvozených od PUFA je známá pod označením eoxiny. Jedná se o 14,15-disubstituované analogy LT vznikající prostřednictvím lipoxygenázové dráhy. Dále lze například jmenovat hydroxy-epoxy metabolity zvané hepoxiliny, jejichž struktura obsahuje nekonjugované dvojně vazby. Na tvorbě hepoxilinů se podílí specifická izoforma 12-LOX a hepoxilin syntáza (izomeráza). Vyznačují se jak prozánětlivými, tak protizánětlivými účinky a jsou produkovány zejména epidermálními buňkami. Hydrolýzou nestabilního epoxidového kruhu hepoxilinů pak vznikají trihydroxy metabolity (trioxiliny). K dalším významným metabolitům PUFA patří izoprostany, prostaglandinům podobné izomery obvykle s cyklopentanovým kruhem ve struktuře. Jsou vytvářeny prostřednictvím neenzymatické peroxidace především AA katalyzované volnými

radikály *in vivo*. Stejným mechanismem se tvoří analogické produkty také z DHA pod názvem neuroprostany. Obě skupiny metabolitů se mohou přeměňovat ve vysoce reaktivní izoketaly a neuroketaly. Pokud vzniklý metabolit obsahuje ve struktuře substituovaný tetrahydrofuranový kruh, řadí se pak do skupiny izofuranů. Měření koncentrace izoprostanů umožňuje sledovat míru zatížení těla oxidačním stresem a jeho roli v patogenezi chorob. Stanovení neuroprostanů pak slouží jako indikátor oxidačního stresu zejména u neurodegenerativních onemocnění [63][77].



**Obrázek 10 Chemická struktura anandamidu**

Zdroj: [7]

### 2.4.2 Účinky eikosanoidů

Biologické účinky jednotlivých eikosanoidů jsou silně závislé na typu výchozí PUFA. Mívají různorodou povahu a účinek jedné molekuly se může lišit i v rámci různých tkání. V případě eikosanoidů odvozených od  $\omega$ -3 PUFA lze poněkud zjednodušeně označit jejich působení za protizánětlivé, zatímco z  $\omega$ -6 PUFA vznikají eikosanoidy spíše prozánětlivého charakteru. Toto rozdělení však není striktní, např. PGE<sub>2</sub> odvozený od AA vykazuje komplexní působení zahrnující také potlačení zánětu (inhibice produkce TNF- $\alpha$ , IL-1 a další účinky). Obvykle platí tvrzení, že eikosanoidy odvozené od  $\omega$ -3 a  $\omega$ -6 PUFA působí navzájem protichůdně. Mezi EPA a AA, potažmo mezi přijímanými ALA a LA, totiž probíhá již zmiňovaná přímá kompetice o enzymy biosyntetických drah eikosanoidů s tím, že produkty jednotlivých PUFA pak vykazují opačné účinky. Z toho důvodu má na biosyntézu eikosanoidů zásadní vliv množství PUFA v těle a jejich příjem stravou. Například vyšším příjmem ALA se tedy zvyšuje produkce příslušných protizánětlivých eikosanoidů na úkor těch prozánětlivých a naopak. Původ vzniklého eikosanoidu je možné rozlišit dle číslice v dolním indexu jeho názvu. Z EPA vznikají prostanoidy s indexem 3 a LT s indexem 5. Naproti tomu z AA se tvoří prostanoidy označované indexem 2 a LT a LX indexem 4. DGLA pak slouží jako prekurzor prostanoidů s indexem 1 a LT s indexem 3. Přehled účinků vybraných eikosanoidů a SPM je uveden v tabulce 5 [1][6][13][27].

Mezi hlavní účinky PG patří ovlivňování tonu hladkých svalů v cévách, střevech, bronších, žaludku nebo děloze. Podílejí se na hospodaření s vodou a elektrolyty v GIT i v ledvinách tubulech. V žaludku fungují některé z nich jako inhibitory sekrece HCl a zároveň zde stimulují produkci ochranného hlenu. Ovlivňují také krevní tlak, prokrvení ledvin, renin-angiotenzin-aldosteronový systém či lipolýzu a mnoho dalšího. Důležitou roli plní PG rovněž při zánětlivých reakcích, při vzniku bolesti a horečky. PC se v mnoha účincích podobají PG, ale mají i své

specifické vlastnosti například proti srážení krve. Naopak vlivem TX je agregace trombocytů výrazně podněcována, přesto však přirozeně převládá antiagregační účinek PC. Dále se TX uplatňují při zánětlivých procesech, způsobují rovněž vazokonstrikci a tím i zvýšení arteriálního tlaku. LT se obecně vyznačují prozánětlivými účinky. Některé z nich vykazují chemotaktickou aktivitu na neutrofile, podporují produkci reaktivních forem kyslíku nebo se podílejí na vzniku alergického bronchiálního astmatu. Hrají podstatnou roli v anafylaktických stavech. LX patří naopak mezi protizánětlivé působky a vystupují tedy jako antagonisté LT [1][3][6].

Také zástupci skupiny SPM působí obecně protizánětlivě. Ukázalo se, že jsou tyto působky nezbytné pro ukončení akutního zánětu a pro následnou reparaci postižených tkání. Mohou tak ovlivňovat proces chronického poškozujícího zánětu, kterým je provázáno mnoho chorob. Do zánětlivé reakce zasahují pomocí mechanismů, jakými jsou stimulace clearance apoptotických zánětlivých buněk zprostředkované makrofágy, potlačení přívodu neutrofilů do místa zánětu nebo snížení produkce prozánětlivých mediátorů. Působí prostřednictvím specifických receptorů, jakými jsou ChemR23, GPR32 nebo ALX. RvE1 a RvE2 pak mohou například fungovat také jako antagonisté receptoru pro LTB<sub>4</sub>. Spektrum účinků jednotlivých SPM je ale značně různorodé. Například konkrétně u LXA<sub>4</sub>, RvE1 a PD1 bylo zjištěno, že zvyšují expresi chemokinového receptoru CCR5 na apoptotických neutrofilech, čímž usnadňují odstraňování chemokinů, důležitých mediátorů v patogenezi zánětu. Další studie prokázala protizánětlivé účinky AT-RvD1 u Sjögrenova syndromu<sup>7</sup>. Na myších modelech došlo po aplikaci uvedeného mediátoru ke zlepšení sekrece slin. U MaR1 byl pak například zaznamenán jeho pozitivní vliv na regeneraci tkání a určitý analgetický efekt. Produkci SPM využívají také různé patogeny k oslabení imunitního systému hostitele. Tento způsob potlačení zánětu by mohl být potenciálně využit i z farmakologického hlediska [58][74][78].

NPD1 hraje důležitou roli v regulaci integrity neuronálních buněk a zasahuje tím do patofyziologie neurodegenerativních onemocnění mozku a sítnice. Neuroprotektivní účinky NPD1 spočívají ve zvyšování množství protiapoptotických proteinů (např.: Bcl-2 = B-cell lymphoma 2 protein, Bcl-xL = B-cell lymphoma-extra large protein) a naopak potlačování tvorby proteinů apoptózu indukujících (např.: Bax = Bcl-2-associated X protein, BAD = Bcl-2-associated death promoter). Dále NPD1 chrání obecně proti oxidačnímu stresu, zánětu a podporuje hojení. Bylo prokázáno, že má inhibiční účinky na kaspázu-3 aktivovanou mitochondriálním cytochromem c a na expresi COX-2 indukovanou zánětlivým IL-1 $\beta$ . Příznivé účinky NPD1 byly prokázány rovněž na buňky retinálního pigmentového epitelu. Ovlivněním fosforylace proteinu Bcl-xL snižuje NPD1 apoptózu těchto buněk indukovanou oxidačním stresem a podporuje tedy jejich přežití. Také u AT-NPD1 byl zaznamenán významný vliv na zánět či neurologické procesy. Výsledky studie ukázaly, že podání syntetického AT-NPD1 dokáže zmírnit poškození mozku po ischemické cévní mozkové příhodě (CMP). Jiné účinky pak vyžaduje PDX, izomer NPD1 vzniklý dvojitou lipoxygenací. Jeho funkce spočívá v inhibici agregace trombocytů [56][57][76][79][80].

---

<sup>7</sup> Jedná se o chronické zánětlivé onemocnění vedoucí ke ztrátě sekreční funkce slinných žláz [78].

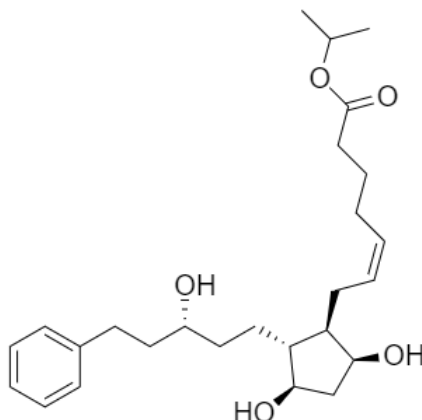
**Tabulka 5 Vybraní zástupci eikosanoidů a SPM, jejich prekurzory a funkce v organismu**

| Skupina mediátorů     | Název mediátoru      | Prekurzor mediátoru | Příklady funkcí mediátoru v organismu   |  |
|-----------------------|----------------------|---------------------|---|--|
| <b>Prostaglandiny</b> | PGE <sub>1</sub>     | DGLA                | Vazodilatace<br>Inhibice agregace trombocytů<br>Zvýšení tělesné teploty   |  |
|                       | PGE <sub>2</sub>     | AA                  | Prozánětlivé i protizánětlivé účinky<br>Vyvolání bolesti<br>Vyvolání horečky<br>Zvýšení cévní permeability<br>Ochranné účinky na sliznici GIT<br>Regulace funkce ledvin<br>Kontrakce dělohy<br>Bronchodilatace<br>Probuzení ze spánku |  |
|                       | PGE <sub>3</sub>     | EPA                 | Antiproliferativní aktivita   |  |
|                       | PGD <sub>2</sub>     | AA                  | Převážně protizánětlivé účinky<br>Vazodilatace<br>Navození spánku<br>Snížení tělesné teploty<br>Podpora adipogeneze   |  |
|                       | PGD <sub>3</sub>     | EPA                 | Snížení přestupu neutrofilů přes cévní stěnu  |  |
|                       | PGF <sub>2</sub>     | AA                  | Vazokonstrikce<br>Kontrakce dělohy<br>Prozánětlivé účinky   |  |
|                       | <b>Prostacykliny</b> | PGI <sub>2</sub>    | AA  | Vazodilatace<br>Inhibice agregace trombocytů<br>Vyvolání zánětlivé bolesti<br>Ochranné účinky na sliznici GIT<br>Zvýšení perfuze ledvin<br>Bronchodilatace |
|                       |                      | PGI <sub>3</sub>    | EPA   | Vazodilatace<br>Inhibice agregace trombocytů<br>Podpora angiogeneze  |
|                       | <b>Tromboxany</b>    | TXA <sub>2</sub>    | AA  | Vazokonstrikce<br>Stimulace agregace trombocytů<br>Bronchokonstrikce   |
|                       | <b>Leukotrieny</b>   | TXA <sub>3</sub>    | EPA   | Slabá stimulace agregace trombocytů  |
| LTB <sub>4</sub>      |                      | AA                  | Prozánětlivé účinky<br>Chemotaxe leukocytů<br>Adheze a extravazace neutrofilů   |  |
| LTC <sub>4</sub>      |                      | AA                  | Prozánětlivé účinky   |  |
| LTD <sub>4</sub>      |                      | AA                  | Bronchokonstrikce   |  |
| LTE <sub>4</sub>      |                      | AA                  | Zvýšená sekrece hlenu<br>Zvýšená permeabilita cév   |  |
| <b>Lipoxiny</b>       | LTB <sub>5</sub>     | EPA                 | Protizánětlivé účinky   |  |
|                       | LXA <sub>4</sub>     | AA                  | Inhibice uvolňování prozánětlivých cytokinů<br>Potlačení tvorby reaktivních forem dusíku<br>Inhibice hyperreakivity dýchacích cest  |  |
|                       | LXB <sub>4</sub>     | AA                  | Protizánětlivé účinky   |  |

| Skupina mediátorů | Název mediátoru | Prekurzor mediátoru | Příklady funkcí mediátoru v organismu  |
|-------------------|-----------------|---------------------|--|
| <b>Resolviny</b>  | RvE1            | EPA                 | Protizánětlivé účinky<br>Potlačení infiltrace neutrofilů<br>Redukce zánětlivé bolesti                            |
|                   | RvD1            | DHA                 | Potlačení infiltrace neutrofilů  |
|                   | RvD2            | DHA                 | Zvýšená fagocytóza bakterií  |
| <b>Protektiny</b> | PD1 (NPD1)      | DHA                 | Regulace apoptózy<br>Podpora hojení ran<br>Potlačení infiltrace neutrofilů                                       |
|                   | MaR1            | DHA                 | Protizánětlivé účinky<br>Regenerace tkání<br>Snížená produkce IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ a INF- $\gamma$ |
| <b>Maresiny</b>   | MaR2            | DHA                 | Slabší protizánětlivé účinky   |

Zdroj: Vlastní zpracování podle [1][6][10][13][27][55][57][61][63][67][70][74][81][82]

Díky svému širokému záběru účinků na organismus mají eikosanoidy nemalý farmakologický potenciál. V praktickém využití se lze setkat kromě přirozených působků také s jejich syntetickými analogy, které mají delší biologický poločas. PG nacházejí uplatnění především u léčby onemocnění cév dolních končetin, žaludečních vředů, zvýšeného krevního tlaku, při kontrole zánětu, léčbě glaukomu a dále v gynekologii a porodnictví. Pro své vazodilatační a antiagregační účinky se v praxi používají alprostadil (PGE<sub>1</sub>), limaprost (analog PGE<sub>1</sub>), epoprostenol (PGI<sub>2</sub>) nebo iloprost (analog PGI<sub>2</sub>). Alprostadil se uplatňuje ve III. a IV. stadiu ischemické choroby dolních končetin například v přípravku Alprostan. Další indikací alprostadilu je léčba erektilní dysfunkce různé etiologie (např. Karon). Léčivé přípravky s obsahem epoprostenolu mohou být indikovány k léčbě plicní arteriální hypertenze (např. Flolan) či v některých případech při hemodialýze (např. Veletri). Pro zlepšení symptomů u pacientů s plicní arteriální hypertenzí se využívá rovněž iloprost např. ve formě roztoku k rozprašování (Ventavis). Mezi látky snižující nitrooční tlak pak patří analogy PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  zahrnující latanoprost (obr. 11), tafluprost, travoprost a unoproston nebo syntetický prostamid strukturálně podobný PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  pod názvem bimatoprost. K léčbě glaukomu s otevřeným úhlem a nitrooční hypertenze se využívají léčivé přípravky ve formě očních kapek s obsahem bimatoprostu (např. Lumigan, Ganfort, Vizibim), latanoprostu (např. Xaloptic, Xalatan, Unilat), travoprostu (např. Travatan, Bondulc) či tafluprostu (např. Taflotan). V porodnictví se uplatňují dinoproston (PGE<sub>2</sub>) a jeho redukováná forma dinoprost (PGF<sub>2 $\alpha$</sub> ), dále karboprost (analog PGF<sub>2 $\alpha$</sub> ), sulproston (analog PGE<sub>2</sub>) nebo analogy PGE<sub>1</sub> misoprostol a gemeprost. Farmakologický význam jmenovaných PG spočívá v navození kontrakcí myometria a ve stimulaci procesu zrání děložního hrdla. K indukci porodu jsou využívány vaginální léčivé přípravky s obsahem dinoprostonu (např. Prostin E2), případně perorální léčivé přípravky obsahující misoprostol (např. Angusta). Pro terapeutický potrat při patologickém těhotenství pak mohou sloužit přípravky s obsaženým dinoprostem (např. Enzaprost F). Další PG se využívají pro jejich inhibiční účinky na sekreci žaludeční šťávy a zároveň ochrannou funkci vůči sliznici GIT. Mezi takovéto látky patří misoprostol indikovaný v terapii a profylaxi peptického vředu způsobeného užíváním NSAID. Obsažen je např. v léčivém přípravku Cytotec [1][6][38][63][83][84].



**Obrázek 11 Chemická struktura latanoprostu**

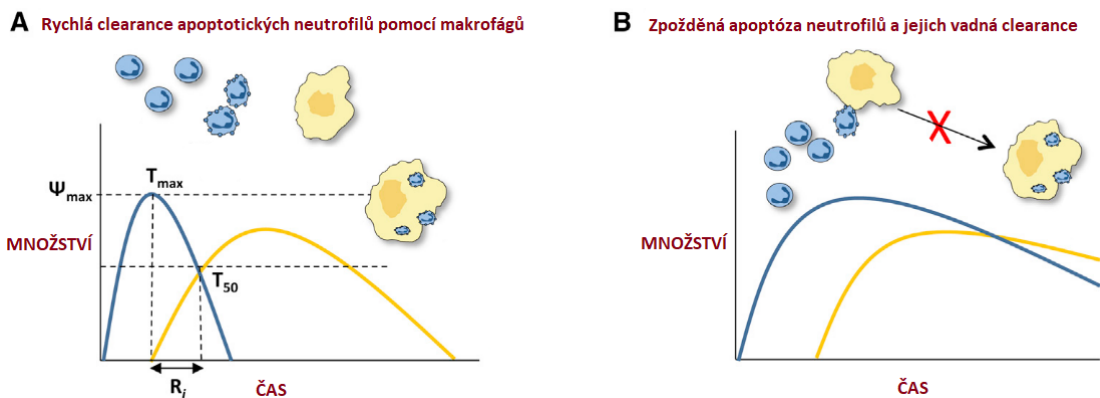
Zdroj: Vlastní zpracování pomocí ChemDraw podle [7]

### **2.4.3 Význam eikosanoidů ve vybraných patologických procesech**

Eikosanoidy hrají podstatnou roli v patogenezi mnoha onemocnění souvisejících především s chronickým zánětem. Jedná se například o různá metabolická, kardiovaskulární, alergická, autoimunitní nebo neurodegenerativní onemocnění. Podílí se také na procesu kancerogeneze. Jednotlivé eikosanoidy mohou patologický proces různými mechanismy podporovat ale i potlačovat. Specifické účinky působků do jisté míry souvisí s jejich prekurzorovou PUFA, která sama o sobě může vykazovat vlastní aktivitu. Porozumění přesnému vlivu konkrétních působků na chorobu přispívá nejen k úplnější orientaci v patofyziologii onemocnění, ale rovněž umožňuje následně objevovat nové terapeutické možnosti [55][57][58].

### **ZÁNĚT A REPARACE TKÁNĚ**

Akutní zánět plní v organismu ochrannou funkci, jeho doba trvání však musí být omezená. Přejde-li zánětlivý proces do chronické perzistující formy, může mít naopak nepříznivé důsledky. Mezi onemocnění spojená s chronickým zánětem můžeme řadit artritidu, astma bronchiale, neurologické degenerativní nebo metabolické choroby jako např. diabetes mellitus, obezitu, ATS a s nimi spojená KVO. Chronický zánět představuje také rizikový faktor pro nádorová onemocnění. Dvěma základními fázemi akutního zánětu jsou iniciace (nástup zánětu) a rezoluce (řešení zánětu) a každá z nich je regulována příslušnými působky. Iničiační fáze bývá spojena s klasickými projevy zánětu (bolest, teplo, svědění apod.) a vedle peptidových a proteinových mediátorů se zde uplatňují také PG a LT. Na druhé fázi akutního zánětu se aktivně podílejí SPM, tedy zmíněné LX, Rv, PD a MaR. Nedojde-li k zažehnání zánětu v rámci této fáze, může se rozvinout jeho chronicita následovaná fibrotizací postižených tkání. Chronický zánět a s ním spojené choroby se navíc vyznačují dysfunkcí leukocytů, a tudíž jsou často provázány různými infekcemi. Aktivita SPM se proto zdá být klíčová pro správný průběh zánětlivé reakce a poskytuje tak perspektivní prostor pro vývoj nových léčiv. Srovnání normálního a pozměněného průběhu zánětlivé reakce je znázorněno na obrázku 12 [30][58][59][60].



**Obrázek 12 Srovnání průběhu normální akutní zánětlivé reakce (A) a pozměněné zánětlivé reakce s deficitem rezoluční fáze (B)**

Zdroj: Upraveno podle [58]

Produkty přeměny PUFA se vedle zánětu účastní nemalou měrou také celkové reparace tkáně. Po poškození dochází obecně k uvolnění AA z buněčné membrány. Ta je dále k dispozici pro tvorbu mediátorů uplatňujících se v jednotlivých fázích reparace, kterými jsou fáze zánětlivá, proliferační a remodelační (zahrnující rezoluci zánětu). Například myeloidní nebo epiteliální buňky jsou schopny produkovat po buněčném poškození velké množství LT. Do reparace se zapojují rovněž protizánětlivé produkty EPA a DHA. Bezprostředně po poškození tkáně je nezbytná produkce  $TXA_2$  zajišťující zástavu krvácení v místě poranění, rychlé uzavření rány a umožňuje tak další průběh opravy tkáně. Z důvodu prevence infekce poškozené tkáně je do procesu zapojen prozánětlivý  $LTB_4$ . Jako hlavní chemoatraktant pro neutrofilů shromažďuje buňky zánětu do místa poranění. Při poruše jeho produkce však může docházet i k nadměrné zánětlivé reakci. Produkce cysteinylových LT musí být během hojení ran naopak zastavena. Způsobují totiž patologickou přestavbu tkáně pozorovanou například u astmatu či obecně u fibrózy. Coby agonista receptoru pro  $LTB_4$  (BLT2) pak působí kyselina 12-hydroxyheptadekatrienová (12-HHT), metabolit produkovaný COX podílející se rovněž na procesu hojení ran. Na myších modelech bylo zjištěno, že 12-HHT podporuje migraci keratinocytů a urychluje tak uzavření rány. Do zánětlivé fáze se zapojuje také  $PGE_2$ , který podporuje kontrakci rány aktivací myofibroblastů a napomáhá jejímu uzavření skrze indukci exprese onkostatinu M (cytokin z rodiny IL-6). V procesu reparace se uplatňují dva receptory  $PGE_2$ , a to EP2 a EP4. Ze zánětlivé fáze je dále umožněn přechod do fáze proliferační.  $PGE_2$  vykazuje přitom jak prozánětlivé, tak protizánětlivé účinky. V pozdější fázi hojení ran vzniká vedle  $PGE_2$  také  $PGD_2$  a jeho degradační produkty. Role těchto mediátorů v reparačním procesu spočívá v negativní regulaci tkáňové přestavby potlačením produkce kolagenu. Přestože vykazují i určité prozánětlivé účinky, podílejí se aktivací PPAR $\gamma$  na ukončení zánětlivé fáze hojení.  $PGI_2$  zasahuje do procesu degradace fibrinové sraženiny z rané fáze hojení a regulaci ukládání extracelulární matrix, čímž předchází tkáňové přestavbě. Na regeneraci tkání a orgánů se podílí také endotelem produkované EET, a to podporou angiogeneze a uzavření rány. Bylo prokázáno, že narušením produkce EET u diabetických myší dochází k prodloužení doby hojení, což představuje jednu z hlavních komplikací DM. Další významnou úlohu v pozdní fázi tkáňové reparace sehrávají LX a Rv. Například u myší postrádajících enzym 12/15-LOX nutný pro syntézu  $LXA_4$  byla zaznamenána zhoršená reepitelizace v oku po poškození rohovky. V případě RvD2 byl na myších modelech zjištěn jeho podpůrný účinek nejen na reepitelizaci, ale rovněž na revaskularizaci postižené tkáně [27][69][85].

Vzhledem k zapojení různých typů eikosanoidů a SPM do všech fází reparace tkáně se nabízí terapeutické uplatnění této skutečnosti v oblasti hojení ran. Farmakologický potenciál lze nalézt například ve využití agonistů BLT2 receptoru nebo agonistů působících na EP receptorech. Pro zlepšení tkáňové reparace u diabetiků se pak nabízí farmakologické zacílení na zvýšení tvorby EET prostřednictvím CYP nebo na inhibici jejich degradace pomocí enzymu sEH. Mechanismem inhibice sEH může být ovlivňován i průběh dalších chorob. Například v terapii očních chorob spojených s abnormální angiogenezí (AMD, diabetická retinopatie a další) mají inhibitory sEH slibný farmakologický potenciál (antiangiogenní efekt epoxydokosapentaenových kyselin) [69][86].

### ***METABOLICKÉ A KARDIOVASKULÁRNÍ CHOROBY***

S chronickým zánětem je spojována patofyziologie metabolických chorob včetně diabetes mellitus. Bylo zjištěno, že hyperglykemie podporuje zánět mimo jiné indukci enzymu ACSL1 (long-chain acyl-CoA synthetase 1), čímž podporuje tvorbu arachidonoyl-CoA a tím i prozánětlivých mediátorů. Zmíněná porucha hojení ran typická pro diabetiky může naopak souviset mimo jiné se sníženou biosyntézou SPM. Výsledky studií ukazují, že SPM významně podporují clearance apoptotických buněk v místě rány prostřednictvím makrofágů. Konkrétně RvD1 dále přispívá k uzavření rány v důsledku zvýšené migrace lidských keratinocytů a příznivě ovlivňuje proces reepitelizace. Jak již bylo zmíněno, RvD2 pak napomáhá zachovávat vaskularizaci rány a zabraňuje tak případným komplikacím. V další studii byl na myších modelech zjišťován vliv Rv na inzulinovou rezistenci vyvolanou obezitou. Po podání exogenního RvD1 došlo ke zlepšení glukózové tolerance a snížení hodnoty glykémie na lačno. U vybraných zástupců SPM bylo zaznamenáno snížení sekrece prozánětlivých adipokinů (proteiny produkované tukovou tkání) současně se zvýšenou sekrecí adiponektinu<sup>8</sup>. V případě RvE1 a PD1 pak došlo ke zvýšení hladiny adiponektinu až do podobné míry jako účinkem antidiabetického léčiva rosiglitazon [58][87][88].

U obezních pacientů se vytváří zánět v tukové tkáni, na jehož vzniku se podílejí produkty COX (např. PGE<sub>2</sub>) i všech tří typů LOX (např. LTB<sub>4</sub>, 12-HETE). Analýza tukové tkáně různých anatomických míst prostřednictvím LC-MS/MS<sup>9</sup> poskytla jedinečné profily bioaktivních lipidových mediátorů v jednotlivých tkáních. Bylo zjištěno, že perivaskulární tuková tkáň má z důvodu odlišného metabolismu větší kapacitu pro biosyntézu SPM v porovnání s tukem podkožním. Tuk obklopující poraněnou tkáň pak obsahuje více prozánětlivých mediátorů než SPM. Množství vznikajících SPM přitom také závisí na zásobách ω-3 PUFA využívaných jako prekurzory biosyntézy. Z analýzy vyplývá, že ω-3 PUFA spouští produkci Rv a PD, zatímco tvorbu eikosanoidů odvozených od ω-6 PUFA inhibují. Dále jsou hladiny SPM regulovány dle rychlosti jejich inaktivace, a tedy množstvím a aktivitou příslušných enzymů. Jak bylo prokázáno, klíčový enzym pro inaktivaci těchto mediátorů (15-PG-dehydrogenáza) je výrazně up regulován právě ve tkáni obezních jedinců. Zásahem do metabolismu tukových buněk mohou produkty ω-3 PUFA zajišťovat prevenci rozvoje nejen inzulinové rezistence indukované obezitou, ale rovněž jaterní steatózy. Právě játra však zřejmě představují další orgán, který u obezních pacientů trpí nedostatkem SPM. U nealkoholické jaterní steatózy byl na myších modelech například zaznamenán příznivý efekt ω-3 PUFA i SPM od nich odvozených. Mechanismus účinku ω-3 PUFA spočívá v up regulaci genů spojených s citlivostí buněk k inzulinu (PPARγ), s transportem glukózy do buněk (GLUT-2/GLUT-4) nebo s intracelulárním přenosem signálu z inzulinového

<sup>8</sup> Jedná se o protizánětlivý adipokin zvyšující inzulinovou senzitivitu buněk [58].

<sup>9</sup> kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií [89]



receptoru (IRS-1/IRS-2). SPM mohou v hepatocytech dokonce zmírnit oxidační stres a poškození DNA. Naopak eikosanoidy vzniklé z  $\omega$ -6 PUFA jsou spojovány s progresí poškození jater. Nedostatek prospěšných SPM byl zaznamenán rovněž u metabolického syndromu. V několika *in vivo* studiích byla například prokázána důležitá role SPM v usnadnění přesunu leukocytů ze zánětlivého místa do lymfatických uzlin. Pokud dochází během tohoto přesunu k hromadění leukocytů v perinodální tukové tkáni, může zde vznikat zánět progredující právě až v metabolický syndrom [58][88][90].

Příznivý účinek SPM byl shledán rovněž u aterosklerotického zánětu. Například byla prokázána nepřímá korelace mezi hladinami ATL a vývojem periferní a koronární ATS. SPM způsobují značně zvýšenou fagocytózu apoptotických buněk, sníženou expresi receptorů pro adhezivní molekuly či sníženou tvorbu chemokinů produkovaných endoteliálními buňkami. V případě  $\text{PGI}_2$  pak byla prokázána celkově významná kardioprotekce. Kromě ATS zasahuje  $\text{PGI}_2$  také do patofyziologie trombózy a hypertenze. Ukázalo se například, že mutace či polymorfismy v prostacyklin syntáze mohou být spojeny s výskytem esenciální hypertenze nebo infarktu myokardu. Na udržování homeostázy KVS se významně podílí také EET. Byly u nich potvrzené vazodilatační, antiagregační a protizánětlivé účinky. Způsobují navíc sníženou proliferaci buněk hladké svaloviny cév a podporují fibrinolýzu. Existují četné důkazy potvrzující vliv EET na patofyziologii hypertenze. Snižování krevního tlaku působením analogů EET nebo inhibitorů sEH bylo zaznamenáno mnoha studiemi. Z toho důvodu představují tyto látky perspektivní cíl v léčbě hypertenze. Zároveň se však ukázalo, že EET podporují růst nádorů a metastáz, což jejich praktické využití značně limituje [58][68][91].

### **ALZHEIMEROVA CHOROBA**

Do komplexní patologie Alzheimerovy choroby (AD) výrazně zasahuje vedle jiných procesů také signalizace eikosanoidů. Dle charakteru látky se mohou podílet jak na progresi nemoci, tak na jejím potlačování. Bylo zjištěno, že přímo volná AA má souvislost s výskytem AD. Za pomoci  $\text{PET}^{10}$  skeneru a radioaktivně značené AA byla ve srovnání s kontrolní skupinou zaznamenána akumulace AA právě v mozkové tkáni pacientů s AD. Jednalo se zejména o oblasti mozku s vyšší hustotou neuritických plaků s přítomností aktivovaných mikroglíí<sup>11</sup>. AA zvyšuje různými mechanismy uvolňování neurotransmiterů a indukuje dlouhodobou potenciaci, což je však v nadměrné míře spojováno spíše se zhoršením paměťových funkcí u pacientů s AD. Pro neurokognitivní rozvoj jsou naopak nezbytné EPA a DHA [56][93][94].

Důležitou roli v patogenezi AD sehrávají také metabolity PUFA. Některé studie prokázaly, že inhibice COX-1 a COX-2 vlivem NSAID může mít preventivní vliv na AD. V analýze postmortální mozkové kůry pacientů s AD byly zjištěny významně vyšší hladiny  $\text{PGD}_2$  a  $\text{TXB}_2$  ve srovnání s kontrolní skupinou. Bylo dokonce zjištěno, že  $\text{PGD}_2$  je nejhojněji zastoupený eikosanoid v mozku a často bývá také spojován s patologickými stavy. Zatímco stimulace receptoru DP1 vykazuje ochranný efekt na neurony, aktivací DP2 receptoru dochází k uvolnění zánětlivých cytokinů a následné ztrátě neuronů. Při tvorbě neuritických plaků byla prokázána up regulace prostaglandin D syntázy a DP1 receptoru v mikroglíích, a to zřejmě v reakci na toxický účinek produkovaného amyloidu beta. Podobně jako u  $\text{PGD}_2$  závisí také celkový účinek  $\text{PGE}_2$  na relativní expresi jeho různých typů receptorů. Zatímco receptory EP1, EP2 a částečně EP3 jsou spojeny s progresí AD, aktivace receptoru EP4 vykazuje účinky brzdící proces choroby. Prozánětlivé

---

<sup>10</sup> pozitronová emisní tomografie

<sup>11</sup> Jedná se o tkáňové makrofágy vyskytující se v mozku. Narušená funkce mikroglíí může být spojena se vznikem a progresí neurodegenerativních onemocnění včetně AD [92].

mediátory přispívající pak jednoznačně k rozvoji choroby podporou produkce amyloidu beta jsou TXA<sub>2</sub>, LTB<sub>4</sub>, cysteinylové LT, 5-HETE nebo izoprostany. Prozánětlivou úlohu by v chorobě mohly hrát také eoxiny. Méně pak do AD zasahuje PGF<sub>2</sub> [93][94].

Na druhou stranu působí v nervové tkáni proti rozvoji AD množství protizánětlivých eikosanoidů. Mezi takové patří například PGI<sub>2</sub> způsobující up regulaci protizánětlivého receptoru PPAR<sub>γ</sub> a zvýšenou tvorbu neuroprotektivního sAPP<sub>α</sub> (soluble amyloid precursor protein alpha). Snížení sekrece prozánětlivých mediátorů (např. TNF- $\alpha$ ) bylo dále prokázáno u LX. Konkrétně molekuly LXA<sub>4</sub> a 15-epi-LXA<sub>4</sub> jsou schopné snižovat rovněž hladiny amyloidu beta a fosforylovaného tau-proteinu primárně spojených s patofyziologií choroby. Mezi protizánětlivé působky v AD patří dále NPD1, jehož neuroprotektivní efekt se projevuje zvyšováním množství sAPP<sub>α</sub> a naopak snižováním amyloidu beta. Rovněž působí proti apoptóze a potlačuje aktivaci prozánětlivých genů. K poklesu produkce amyloidu beta přispívají také RvD1 a MaR1, které zároveň redukuje i vyvolaný zánět. Vedle snižování koncentrace amyloidu beta zeslabuje navíc RvE1 prozánětlivé účinky LTB<sub>4</sub> prostřednictvím vazby na BLT1 receptor. O vlivu J<sub>2</sub> série prostaglandinů<sup>12</sup>, 12-HETE a 15-HETE na rozvoj AD jsou zatím k dispozici poněkud rozporuplné údaje. Celá problematika obecně vyžaduje ještě další studie [56][57][93].

### **NÁDOROVÁ ONEMOCNĚNÍ**

Mnohé studie potvrdily nemalý význam eikosanoidů pro vznik a progresi různých typů nádorů. Uvádí se, že změna normální buňky v nádorovou může být obecně výsledkem chronického zánětu v těle. Další mechanismy zásahů do kancerogeneze spočívají ve stimulaci buněčné proliferace, v podpoře angiogeneze, migrace a invaze nádorových buněk nebo v inhibici apoptózy. Růst nádoru navíc ještě umocňují imunosupresivní vlastnosti některých působků. Dominantní úlohu v patogenezi nádorů sehrává z eikosanoidů především PGE<sub>2</sub>. Zvýšená exprese COX-2 a současně tvorba PGE<sub>2</sub> jako jejího hlavního produktu byla zaznamenána u mnoha nádorových onemocnění například v oblasti tlustého střeva, prsou, plic nebo prostaty. Podporou angiogeneze se do procesu kancerogeneze zapojuje pravděpodobně rovněž TXA<sub>2</sub>. Se stimulací růstu nádorových buněk souvisí i 20-HETE produkovaná cestou CYP. Vyšší exprese specifických enzymů katalyzujících tvorbu 20-HETE byla zjištěna u ovariálních nádorů nebo hematologických malignit. Naopak u PGD<sub>2</sub> a jeho degradačního produktu 15-deoxy- $\Delta$ 12,14-PGJ<sub>2</sub> byla zaznamenána protinádorová aktivita mechanismem aktivace PPAR<sub>γ</sub>. U mnoha typů nádorových tkání dochází rovněž k významné expresi 5-LOX. Konkrétně LTB<sub>4</sub> je například spojen s karcinomem pankreatu a cysteinylové LT s karcinomem tlustého střeva či prostaty. Ovlivňování produkce a aktivity eikosanoidů tedy potenciálně představuje farmakologicky využitelný cíl v léčbě nádorů. Role jednotlivých působků v kancerogenezi je však ještě třeba popsat podrobněji [55][57][59].

Na základě těchto poznatků se sledoval vliv NSAID na míru rizika vzniku solidních nádorů. Bylo zjištěno, že u pacientů s vyšší mírou exprese COX-2 a tím vyššími hladinami například PGE<sub>2</sub>, pokleslo při podávání NSAID riziko nádorového onemocnění. Chemopreventivní účinky NSAID prokázalo množství epidemiologických studií, konkrétně u kolorektálního karcinomu, karcinomu prsu, plic nebo prostaty. Nejvhodněji se pro tuto indikaci jeví podávání nízkých dávek ASA pro její relativně mírné gastrointestinální a žádné kardiovaskulární nežádoucí účinky. Zároveň bylo prokázáno, že AT-SPM vykazují významnou protinádorovou aktivitu. Příznivý účinek ASA na nádorová onemocnění tedy může být vysvětlován nejen potlačením tvorby některých

---

<sup>12</sup> Prostaglandin J<sub>2</sub> (PGJ<sub>2</sub>) vzniká spontánně neenzymatickou dehydratací PGD<sub>2</sub>. V důsledku své nestabilní povahy podléhá následně dalším přeměnám [93].

eikosanoidů, ale rovněž podporou produkce právě této skupiny SPM. Dlouhodobé preventivní podávání jiných NSAID by se pak zřejmě neobešlo bez mnohých nežádoucích účinků právě v oblasti GIT nebo KVS. Proto se také nabízí řešení potlačit cíleně vznik pouze konkrétního eikosanoidu jako např. PGE<sub>2</sub> skrze příslušnou terminální PG syntázu. Inhibice prostaglandin E syntázy však může rovněž ovlivnit konstitutivní produkci PGE<sub>2</sub> a způsobit nežádoucí nahromadění příslušného prekurzorového PG. Nesporný farmakologický potenciál pak představuje inhibice signalizace PGE<sub>2</sub> prostřednictvím antagonistů jeho specifických receptorů (např. EP2 receptory). Takovéto látky by našly uplatnění rovněž v terapii bolestivých, zánětlivých a jiných patologických stavů spojených s produkcí PGE<sub>2</sub>. V terapii nádorů mohou být prospěšné i inhibitory 5-LOX nebo antagonisté specifických receptorů LT [55][59][75][81][95][96].

### **DALŠÍ PATOLOGICKÉ PROCESY**

Alergická onemocnění jsou spojována s eikosanoidy, jakými jsou např. PGD<sub>2</sub>, PGF<sub>2α</sub> a obecně LT, přičemž k jejich produkci dochází až při vzniku samotné alergické reakce. Pro příklad lze uvést astma bronchiale, v jehož patofyziologii se významně uplatňují především LT. Bylo prokázáno, že konkrétně LTB<sub>4</sub> podporuje aktivitu T-lymfocytů a tím se podílí na vzniku alergického zánětu dýchacích cest. Působí prostřednictvím receptoru BLT1 exprimovaným na T-lymfocytech. Přičemž vyšší exprese tohoto receptoru byla zaznamenána právě u pacientů trpících astmatem. LTB<sub>4</sub> může zasahovat také do vzájemné interakce mezi lymfocyty T a B. Navíc LT stimulují chemotaxi a proliferaci fibroblastů a syntézu kolagenu. V terapii astmatu jsou prakticky využívány poznatky o proastmatickém působení cysteinylových LT vyvolávajících bronchokonstrikci. Na tomto podkladě se osvědčilo podávání antileukotrienů<sup>13</sup> u pacientů s aspirin senzitivním astmatem. Terapeutický potenciál mohou mít rovněž analogy LX podílejících se na udržování homeostázy v dýchacích cestách [55][97][98].

Důležitou úlohu mají eikosanoidy obecně v GIT. Je známo, že PG působí jako silné inhibitory sekrece žaludeční šťávy a mohou se tak uplatnit v prevenci tvorby vředů. Role eikosanoidů v GIT se zároveň sledují pomocí inhibice jejich tvorby užíváním NSAID a následného výskytu nežádoucích účinků. Některé studie prokázaly zvýšenou aktivitu LOX v důsledku blokace COX. K poškození žaludeční sliznice by tak mohly přispívat i vznikající LT. Se změnou v produkci eikosanoidů mohou být spojena například i některá zánětlivá onemocnění střev (např. Crohnova choroba nebo ulcerativní kolitida). Bylo prokázáno, že podávání NSAID zhoršuje stav u mnoha pacientů se zánětlivým onemocněním střev. Tato skutečnost by mohla být způsobena zvýšenou biosyntézou LTB<sub>4</sub> a dalších LT právě v souvislosti s inhibicí COX. S potlačením tvorby LT v tlustém střevě je pak spojen mechanismus účinku mesalazinu<sup>14</sup>. Na rozdíl od LT mohou některé PG přispívat k tlumení střevního zánětu. Studie ukazují, že PGD<sub>2</sub> vykazuje při kolitidě protizánětlivé účinky a pomáhá udržovat chorobu v remisi. Tyto příznivé účinky se však pravděpodobně projevují pouze při aktivaci receptoru DP1. Pro potlačení střevního zánětu slouží naopak blokace receptoru DP2. Zvýšená syntéza PGE<sub>2</sub> byla pak zaznamenána u pacientů s aktivní kolitidou. Protizánětlivými účinky působí na kolitidu LX. Například u LXA<sub>4</sub> byla prokázána snížená exprese prozánětlivých genů ve střevních epiteliálních buňkách, down regulace degranulace leukocytů nebo snížené uvolňování chemokinů. Příznivé účinky na sliznici GIT vykazují rovněž ATL [67].

---

<sup>13</sup> Působí jako inhibitory biosyntézy LT (inhibitory 5-LOX) nebo antagonisté receptorů pro cysteinylové LT typu 1 (CysLT1), kam patří např. montelukast [97].

<sup>14</sup> Mesalazin (5-aminosalicylová kyselina) patří mezi základní léčiva využívaná v léčbě střevních zánětů, jakými jsou Crohnova choroba nebo ulcerativní kolitida.

Eikosanoidy se podílejí také na patofyziologii destrukce kloubů při revmatoidní či psoriatické artritidě. Některé z nich však mají ochranný účinek. Nevyvážené množství jednotlivých eikosanoidních působků může stát právě za těmito zánětlivými onemocněními kloubů. V synoviální tekutině pacientů s RA byly prokázány zvýšené hladiny PG. Zejména pak PGE<sub>2</sub> přispívá svými prozánětlivými účinky k progresi choroby. Zcela zásadní roli pro samotný rozvoj artritidy plní podle výsledků studií LTB<sub>4</sub> a jeho receptory. V další studii byla zjištěna pozitivní korelace mezi množstvím prozánětlivých eikosanoidů odvozených od AA a parametry aktivity kloubního onemocnění. Vyšší hladiny byly zaznamenány také v případě protizánětlivých eikosanoidů odvozených od EPA. Děje se tak zřejmě z důvodu kompenzace zvýšeného množství prozánětlivých působků. Naopak negativní korelaci s aktivitou choroby vykazovaly například Rv odvozené od DHA, což svědčí o zmíněné teoretické nerovnováze eikosanoidů v patogenezi zánětu kloubů. Tyto poznatky by potenciálně mohly být využity i ve farmakoterapii choroby, ale jsou zde opět zapotřebí další studie [55][99].

## **2.5 Bioanalýza mastných kyselin**

Pro stanovení MK v lidských tkáních je metodou první volby plynová chromatografie. Před samotným provedením analýzy biologického materiálu je nutné odebrané vzorky tkání příslušným způsobem upravit. Předchází se tím nejen nežádoucí interferenci biologické matrice se stanovovanou látkou, ale také znehodnocení přístrojového vybavení. Příprava vzorku zahrnuje mimo jiné homogenizaci tkání, extrakci lipidů a derivatizaci MK. Celý tento proces je časově náročný, vyžaduje manuální zručnost a je třeba mu věnovat velkou pozornost. Právě příprava vzorků k analýze totiž může představovat častý zdroj chyb vedoucí ke zkreslení výsledků [100][101].

### **2.5.1 Homogenizace tkání**

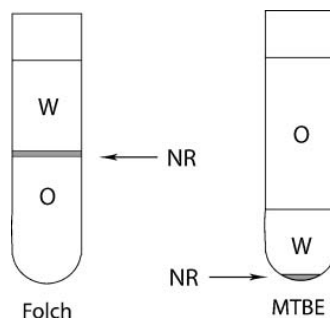
Reprezentativní vzorek příslušné tkáně je zapotřebí nejprve adekvátním způsobem zhomogenizovat. K tomuto účelu se využívají speciální homogenizátory. Při samotné homogenizaci je nezbytné zohledňovat charakter jednotlivých tkání a přizpůsobit tomu postup práce [102].

### **2.5.2 Extrakce lipidů**

Míra náročnosti extrakce je dána mimo jiné typem extrahovaného lipidu. Zatímco extrakce jednoduchých zásobních lipidů probíhá relativně snadno, v případě komplexních lipidů v membránách je proces složitější. Používaná rozpouštědla a jejich směsi musí zajišťovat snadnou rozpustnost extrahovaných lipidů a překonání interakcí lipidů s biologickou maticí. Folchova metoda například využívá pro extrakci lipidů z homogenizovaných tkání směs chloroformu a metanolu v objemovém poměru 2 : 1. Separace organické a vodné fáze se pak provádí přidáním příslušného množství vody či solného roztoku s následnou centrifugací [102][103][104][105][106].

Bligh a Dyer navrhli jednu z dalších metod, která spočívá v použití mísitelné směsi chloroformu, metanolu a vody ve specifickém poměru. Novější metoda pak využívá coby extrakční činidlo metyl-terc-butyléter (MTBE). Tento způsob poskytuje rychlejší, selektivnější a automatizovatelnou extrakci lipidů. Na rozdíl od metod využívajících chloroform tvoří organická fáze s MTBE horní vrstvu při separaci fází, a to v důsledku nízké hustoty použitého MTBE (viz obr. 13). Tím se zjednodušuje sběr organické fáze obsahující lipidy a dochází rovněž k minimalizaci ztrát. Neextrahovatelná matrice navíc zůstává u dna extrakční zkumavky, zatímco v případě chloroformu se nachází na rozhraní fází a hrozí tak kontaminace odebírané organické

fáze. Nevýhoda chloroformu spočívá také v jeho značném zdravotním riziku a možné chemické modifikaci některých lipidů. Naproti tomu MTBE je považován za netoxický, nekarcinogenní, a navíc rovněž chemicky stálý. Dále se k extrakci může využívat např. směs hexanu a isopropanolu, butanolu a metanolu a další rozpouštědla. Pro zvýšení rychlosti extrakce a snížení spotřeby rozpouštědel lze využít také ultrazvukovou či mikrovlnnou extrakci [31][103][104][105][107].



**Obrázek 13 Srovnání separace fází u Folchovy metody a při použití MTBE**

Vysvětlivky: W = vodná fáze, O = organická fáze, NR = neextrahovatelná matrice

Zdroj: [105]

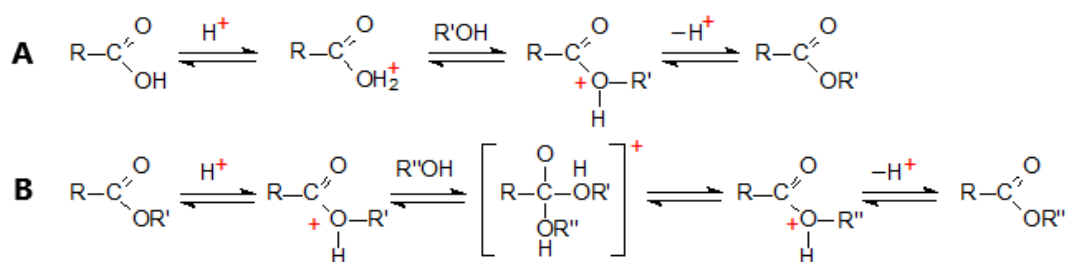
Při extrakci PUFA může docházet ke zkreslení analýzy vlivem autooxidace iniciované světlem či ionty kovů. Proto je zapotřebí průběh této reakce minimalizovat například přidávkem antioxidantního činidla a manipulací se vzorky v atmosféře dusíku. Během procesu extrakce lipidů a celé analýzy MK je rovněž nutné si uvědomovat rizika používaných rozpouštědel a podle toho s nimi zacházet. Ze získaného extraktu se následně zpravidla odpařuje rozpouštědlo pod proudem dusíku za současného mírného zahřívání [103][108].

### 2.5.3 Derivatizace mastných kyselin

Před následující analýzou plynovou chromatografií je nezbytné provést u MK obsažených v extrahovaných lipidech proces derivatizace. Jedná se o převedení látek na příslušné nepolární těkavé deriváty s nízkou molekulovou hmotností. V případě MK se nejčastěji využívá derivatizace na odpovídající metylestery. Většina lipidů nevyžaduje provedení hydrolyzy k získání volných MK a umožňuje tak přímou transesterifikační reakci. K této transesterifikaci O-acyl lipidů a zároveň také esterifikaci přítomných volných MK dochází jejich zahříváním s velkým přebytkem bezvodého metanolu, a to v přítomnosti příslušného katalyzátoru. Jako kyselý katalyzátor v metanolu se využívá například bezvodý chlorovodík vznikající buď pomalým přidáním acetylchloridu či probubláváním metanolu plynným chlorovodíkem. Při použití acetylchloridu se směs zahřívá obvykle na 100 °C po dobu 60 minut. Mezi další kyselý katalyzátory patří koncentrovaná kyselina sírová nebo fluorid boritý. Transesterifikace v bezvodém metanolu může probíhat také v přítomnosti bazického katalyzátoru. Nejčastěji je využíván methoxid sodný, dále lze jmenovat hydroxid draselný, hydroxid sodný či methoxid draselný. Transesterifikace lipidů probíhá s použitím bazických katalyzátorů mnohem rychleji, volné MK však tímto způsobem esterifikovány nejsou. Pakliže nelze použít jiné činidlo, může být derivatizace provedena také pomocí diazometanu. Vzniklé metylestery jsou následně extrahovány do organického rozpouštědla a připraveny k analýze [31][103][106][108][109][110].

Tvorba esterů má reverzibilní povahu a použitím katalyzátoru dochází k urychlení reakce oběma směry (viz obr. 14). Rovnováha reakce je posunuta ve prospěch vzniku metylesterů díky

velkému přebytku bezvodého metanolu. Po dokončení derivatizace se zabraňuje zpětné reakci metylesterů neutralizací katalyzátoru vhodným činidlem<sup>15</sup>. Přítomnost vody v reakčním prostředí esterifikaci i transesterifikaci ruší z důvodu nežádoucí hydrolyzy vzniklých esterů. V přebytku metanolu jsou nepolární extrahované lipidy nerozpustné, čímž u nich transesterifikační reakce ve stanoveném čase neprobíhá. Z toho důvodu se do reakční směsi přidává další vhodné rozpouštědlo, jako je toluen nebo tetrahydrofuran. Použití benzenu se vzhledem k jeho vysoce toxickému charakteru nedoporučuje. Pokud je k analyzovanému vzorku přidáván vnitřní standard, děje se tak ještě před procesem derivatizace. Jako vnitřní standard se volí MK nevyskytující se v biologickém vzorku zpravidla s lichým počtem uhlíků. Předpokládá se, že při použití vnitřního standardu není pro kvantitativní analýzu nezbytné kompletní dokončení derivatizační reakce a rovněž případné ztráty esterů výsledky analýzy neruší [31][103][108][110][111].



**Obrázek 14** Schéma kyselou katalyzované esterifikace MK (A) a transesterifikace lipidů (B)

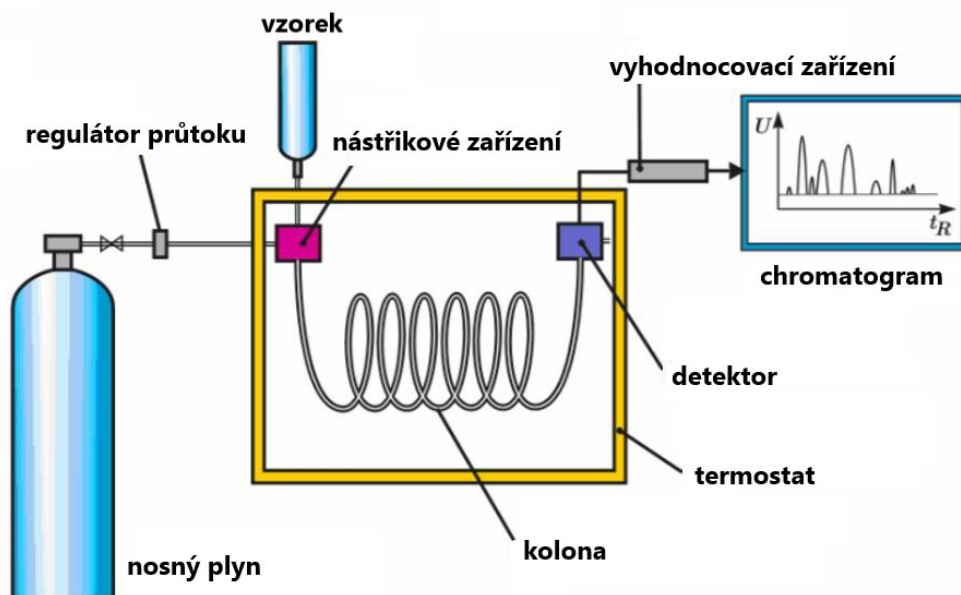
Zdroj: Upraveno podle [110]

#### 2.5.4 Plynová chromatografie

Pro analýzu MK ve tkáních se s výhodou využívá především zmíněná plynová chromatografie (GC), konkrétně tzv. gas-liquid chromatography (GLC). Tato analytická technika patří mezi rozdělovací chromatografické metody s plynnou mobilní fází a kapalnou stacionární fází. Umožňuje získat výsledky ve formě podílů jednotlivých MK nebo přímo jejich koncentrací ve vzorku. Plynový chromatograf se skládá ze tří základních částí, a to z nástřikového zařízení, kolony a detektoru. Zjednodušené schéma plynového chromatografu je uvedeno na obrázku 15. Po převedení do plynného stavu je vzorek unášen mobilní fází na kolonu, kde je zároveň zadržován stacionární fází. Princip oddělení složek vzorku spočívá v jejich rozdílné afinitě ke stacionární fází, což podmiňuje rozdílné retenční časy<sup>16</sup> analytů. Po průchodu kolonou jsou analyty příslušným způsobem detekovány a formou píků zaznamenány na výstupním chromatogramu [100][101][103][112].

<sup>15</sup> V případě kyselých katalyzátorů se používá např. roztok uhličitanu draselného [101].

<sup>16</sup> Retenční čas je definován jako doba měřená od nástřiku vzorku po dosažení maxima chromatografického píku.



**Obrázek 15 Schéma plynového chromatografu**

Zdroj: Upraveno podle [113]

Mobilní fáze v GC má povahu nosného plynu. V praxi je k tomuto účelu využíván dusík, helium nebo vodík. Kapalná stacionární fáze musí být především dostatečně selektivní pro požadovanou separaci analytů. Klíčovou roli hraje především polarita kapalně stacionární fáze. Rovněž by měla vykazovat přiměřenou chemickou a tepelnou stabilitu. Na koloně musí docházet k účinné separaci MK s různou délkou řetězce, stupněm nasycení, umístěním dvojných vazeb a s různou izomerií. Příslušné stacionární fáze pro konkrétní analyty se stanovují experimentálně. Jedná se například o polymery typu polyglykolů, polysiloxanů či o iontové kapaliny [31][103][114].

Pro GC jsou k dispozici dva základní typy kolon. Náplňové kolony vyrobené ze skla či kovu mají vnitřní průměr široký 2 nebo 4 mm a délku od 1,5 do 2,5 m. V případě GLC se jedná o trubici naplněnou inertním pevným nosičem potaženým kapalnou stacionární fází. V současnosti jsou však hojněji využívány kapilární kolony s křemennou či skleněnou konstrukcí o vnitřním průměru 0,1 až 1,25 mm a délce 10 až 50 m. Mezi kapilární kolony se řadí tzv. support coated open tubular (SCOT) nebo wall coated open tubular (WCOT). V případě SCOT kolony se na vnitřní straně kapiláry nachází vrstva pevného nosiče potaženého kapalnou stacionární fází. Naproti tomu vnitřní stěna WCOT kolony je potažena přímo tenkým filmem kapalně stacionární fáze. Účinnost kolony může být definována pomocí parametrů, mezi které patří například počet teoretických pater nebo šířka píku měřená v polovině jeho maximální výšky. Tato účinnost závisí na zmíněných rozměrech kolony, tloušťce kapalně stacionární fáze, povaze a průtoku nosného plynu či na teplotě kolony. Optimalizací těchto chromatografických podmínek lze dosáhnout vyššího rozlišení, obvykle však na úkor delší doby analýzy. Podle nastavení termostatu, ve kterém je kolona uložena, se dělí GC na izotermickou (konstantní teplota) a gradientovou (mění se teplota) [103][114].

Analyzovaný vzorek se vpravuje do plynového chromatografu pomocí příslušného nástřikového zařízení. Zpravidla se jedná o specifickou injekční stříkačku pro ruční nebo automatické provedení nástřiku vzorku o objemu 0,1–5  $\mu\text{l}$ . Nástřikují se buď přímo plynné vzorky nebo těkavé kapalně stacionární vzorky přecházející do plynného stavu při nástřiku. V případě nízké

těkavosti analytu lze jeho vlastnosti zmíněnou derivatizací předem upravit. Během procesu nástřiku by pak ideálně nemělo docházet k žádným změnám ve složení vzorku. Z důvodu zamezení přetížení kapilárních kolon velkým objemem či vysokou koncentrací vzorku byl zaveden tzv. split nástřik. Tato nástřiková technika přivádí na kolonu jen část nosného plynu se vzorkem, zbytek odchází ze systému. Dělení toku nosného plynu však neprobíhá vždy přesně dle přednastaveného split poměru. Naopak dávkování vzorku bez děliče toku se nazývá splitless nástřik. Mezi další možné metody patří například nástřik přímo na kolonu nebo nástřik s programovanou teplotou [103][112].

K detekci analytů v rámci GC se využívají zejména plamenoionizační detektor (FID), detektor elektronového záchytu (ECD) a hmotnostní spektrometr (MS). Princip FID spočívá ve spalování organických sloučenin eluovaných z kolony pomocí plamene vznikajícího hořením vodíku ve vzduchu. Nabité částice vznikající během procesu spalování vytvářejí mezi dvěma elektrodami měřitelný ionizační proud, který odpovídá koncentraci eluovaného analytu. Mezi výhody FID patří jeho vysoká citlivost a rychlá odezva s linearitou v mimořádně širokém rozsahu. FID je všeobecně nejčastěji využívaným detektorem také pro svou jednoduchou konstrukci a obsluhu, a navíc vysokou spolehlivost při dlouhodobém používání. Pouze pro některé typy látek neposkytuje FID dostatečný signál. V případě ECD dochází působením radioaktivního zdroje k ionizaci nosného plynu a vzniku volných elektronů vytvářejících měřitelný proud. Hodnota tohoto proudu se snižuje, pokud chemická struktura detekovaného analytu obsahuje elektronegativní skupiny. Předností ECD je především vysoká citlivost a specifita detektoru. Využívá se s výhodou pro molekuly obsahující atomy halogenů. Při detekci pomocí MS jsou analyty nejprve ionizovány pomocí elektronů a dále případně různými způsoby fragmentovány. V magnetickém či elektrostatickém poli se vzniklé ionty následně rozdělují podle svého poměru hmotnosti a náboje ( $m/z$ ). Právě GC ve spojení s MS patří v současnosti k hojně využívaným analytickým metodám nejen v oblasti lipidomiky [101][103][112].



## 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 3.1 Biologický materiál

Vzorky biologického materiálu pro stanovení mastných kyselin jsme sbírali ve spolupráci s Ústavem soudního lékařství Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové v období od 26. 2. 2020 do 14. 7. 2020. Jednalo se o vzorky vždy sedmi druhů tkání odebraných v průběhu pitvy od zemřelých dárců. Hmotnost každého vzorku se pohybovala přibližně kolem 20 g. Seznam konkrétních druhů odebíraných tkání je uveden v tabulce 6. Odebrané vzorky jsme následně v co nejkratším čase transportovali do laboratoře Centra pro výzkum a vývoj v rámci Fakultní nemocnice Hradec Králové. Biologický materiál byl dále skladován při teplotě  $-86\text{ }^{\circ}\text{C}$  až do doby analýzy.

**Tabulka 6 Seznam odebíraných tkání**

| Přiřazená čísla | Odebraná tkáň                             |
|-----------------|---|
| 1.              | Subendokardiální část levé komory srdeční |
| 2.              | Jaterní parenchym                         |
| 3.              | Korová vrstva ledvin                      |
| 4.              | Tkáň nadledvin                            |
| 5.              | Kosterní svalovina bicepsu pravé paže     |
| 6.              | Břišní podkožní tuková tkáň               |
| 7.              | Mozková kůra z frontálního laloku         |

Zdroj: Vlastní zpracování

#### 3.1.1 Charakteristika výzkumného souboru

Za uvedené období jsme nasbírali celkem 140 vzorků od 20 dárců rozdělených do dvou skupin. Při zařazování dárců do skupin byl zohledňován především jejich zdravotní stav, věk a příčina úmrtí. Do skupiny A tvořené náhle zemřelými, relativně zdravými a mladými jedinci byly zařazeny vzorky od 8 dárců. Skupina B zahrnující vzorky od polymorbidních či dlouhodobě nemocných pacientů vyššího věku pak čítala 12 dárců. Konkrétní údaje o dárcích z obou skupin včetně příčiny úmrtí a data odběru jednotlivých vzorků jsou uvedeny v tabulkách 7 a 8.

Z poskytnutých informací o farmakoterapii dárců bylo zaznamenáno užívání NSAID (včetně ASA) nebo kortikosteroidů u 5 jedinců ze skupiny B. Tato skutečnost mohla mít rovněž vliv na celkové hladiny MK ve tkáních dárců.

**Tabulka 7 Charakteristika skupiny A**

|    | Pohlaví | Věk | Příčina úmrtí              | Poznámka  | Datum odběru |
|----|---------|-----|----------------------------|---|--------------|
| 1. | muž     | 41  | úrazový šok                | čelní střet motorkáře s osobním automobilem   | 30.03.2020   |
| 2. | muž     | 26  | zevní a vnitřní vykrvácení | psychiatrický pacient; sebevražda (vícečetná bodnořezná poranění; strangulace; alkohol; extáze) | 06.05.2020   |
| 3. | muž     | 17  | intoxikace tisem           | psychiatrické onemocnění (Aspergerův syndrom)   | 11.05.2020   |
| 4. | muž     | 44  | zhmoždění mozku            | sebevražda střelnou zbraní  | 21.05.2020   |
| 5. | muž     | 29  | oběšení                    | sebevražda  | 29.06.2020   |

|    | <b>Pohlaví</b> | <b>Věk</b> | <b>Příčina úmrtí</b>                             | <b>Poznámka</b>   | <b>Datum odběru</b> |
|----|----------------|------------|--|---|---------------------|
| 6. | muž            | 41         | pravděpodobně zadržování v epileptickém záchvatu | epilepsie   | 07.07.2020          |
| 7. | muž            | 19         | zhmoždění mozku                                  | úraz motocyklisty   | 08.07.2020          |
| 8. | muž            | 40         | oběšení  | sebevražda (nadměrné užívání alkoholu a anamnesticky také užívání drog) | 14.07.2020          |

Zdroj: Vlastní zpracování dle dat poskytnutých Ústavem soudního lékařství Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové

**Tabulka 8 Charakteristika skupiny B**

|     | <b>Pohlaví</b> | <b>Věk</b> | <b>Příčina úmrtí</b>   | <b>Osobní anamnéza</b>   | <b>Datum odběru</b> |
|-----|----------------|------------|--|--|---------------------|
| 1.  | muž            | 74         | srdeční selhání  | CHOPN; námahová dušnost; dilatace levé síně; hypertrofie levé komory; trikuspidální regurgitace; FiS; AH   | 26.02.2020          |
| 2.  | muž            | 81         | zhoubný nádor slinivky břišní                                    | karcinom pankreatu; AH; CHOPN; hyperlipidémie; hyperurikémie; BHP; kuřák   | 27.02.2020          |
| 3.  | muž            | 72         | kardiopulmonální selhání   | CHOPN; AH; chronická FiS; HLP; sick sinus syndrom; sludge žlučníku; dyspeptický syndrom  | 28.02.2020          |
| 4.  | muž            | 64         | kardiopulmonální selhání   | B-chronická lymfatická leukémie; CHOPN; esenciální AH; HLP; kuřák  | 05.03.2020          |
| 5.  | žena           | 82         | kardiopulmonální selhání   | AH; AV blokáda; tumor pravého horního plicního laloku  | 05.03.2020          |
| 6.  | žena           | 75         | srdeční selhání  | kardiačka; opakované selhání srdce; punkce   | 06.03.2020          |
| 7.  | žena           | 63         | akutní otrava léky   | etylismus; CHOPN; polyneuropatie; depresivní syndrom; suicidální pokusy (2x); chronické srdeční selhání; hnisavý zánět dolních dýchacích cest                  | 03.06.2020          |
| 8.  | žena           | 73         | srdeční selhání  | ICHS (stav po IM); chronické srdeční selhání; FiS; AH; blokáda pravého Tawarova raménka; dyslipidémie; chronické onemocnění ledvin; cirhóza jater; stav po CMP | 08.06.2020          |
| 9.  | žena           | 88         | kardiopulmonální selhání   | karcinom blíže neurčené lokalizace; těžká ATS; CHOPN; vyhublost; hypotyreóza; DM 2. typu; AH   | 08.06.2020          |
| 10. | muž            | 68         | akutní sterkorální zánět pobřišnice (perforace peptického vředu) | opakující se krvácení do GIT; stav po IM; ICHS; dyslipidémie; bezdomovec; alkoholik; kuřák   | 09.06.2020          |
| 11. | muž            | 52         | srdeční selhání  | stav po iCMP; AH; HLP; chronická bronchitida   | 10.06.2020          |
| 12. | muž            | 65         | oběšení (sebevražda)   | pokročilý karcinom jazyka; vyhublost   | 10.06.2020          |

Vysvětlivky: CHOPN (chronická obstrukční plicní nemoc), FiS (fibrilace síní), AH (arteriální hypertenze), AV (atrioventrikulární), BHP (benigní hyperplazie prostaty), IM (infarkt myokardu), iCMP (ischemická cévní mozková příhoda), HLP (hyperlipoproteinémie)

Zdroj: Vlastní zpracování dle dat poskytnutých Ústavem soudního lékařství Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové

Z obou skupin jsme měli k dispozici vzorky od 15 mužů a 5 žen, přičemž skupinu A tvořili pouze muži. Průměrný věk všech 20 dárců představoval  $55,7 \pm 22,1$  let (medián 63,5). Pro skupinu A pak byla vypočtena hodnota  $32,1 \pm 10,7$  let (medián 34,5), zatímco pro skupinu B hodnota  $71,4 \pm 9,8$  let (medián 72,5). Hodnota věkového průměru u mužů byla v případě obou skupin dohromady  $48,9 \pm 20,9$  let (medián 44,0), ve skupině B  $68,0 \pm 9,1$  let (medián 68,0) a ve skupině A se hodnota shodovala s výše uvedeným celkovým věkovým průměrem pro skupinu A. U žen ve skupině B potom představoval průměrný věk hodnotu  $76,2 \pm 9,5$  let (medián 75,0).

### 3.2 Chemikálie

- Metanol (Merck, Německo)
- Metyl-terc-butyléter (Merck, Německo)
- Toluén (Sigma-Aldrich, Německo)
- Acetylchlorid (Merck, Německo)
- Kyselina heptadekanová (Sigma-Aldrich, Německo)
- Uhličitan draselný (Merck, Německo)
- Dusík (SIAD, ČR)
- Helium (SIAD, ČR)
- Fyziologický roztok – NaCl 0,9% (Braun, Německo)
- Hexan (Sigma-Aldrich, Německo)
- Vodík (SIAD, ČR)
- Destilovaná voda (Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice Hradec Králové)

### 3.3 Přístrojové vybavení a pomůcky

- Laboratorní váhy LE623S-OCE (Sartorius, Německo)
- Homogenizátor T10 basic ULTRA-TURRAX (IKA, Německo)
- Vortex Lab Dancer (IKA, Německo)
- Třepačka ROLLER 6 digital (IKA, Německo)
- Centrifuga 5810 R (Eppendorf, Německo)
- Termoblok QBT2 digital (Grant, Velká Británie)
- Rotátor SB3 (Stuart, Velká Británie)
- Horkovzdušný sterilizátor Stericell 55 (Brněnská Medicínská Technika, ČR)
- Plynový chromatograf MASTER vybavený FID a autosamplérem (DANI Analitica, Itálie)

- Kapilární GC kolona Rtx-2330 (60 m × 0,25 mm × 0,2 μm) (Restek, USA)
- Automatické pipety a mikropipety Biohit Proline (Sartorius, Německo)
- Laboratorní sklo a plast
- Skalpel, chirurgické nůžky, pinzeta
- Krimpovací kleště

### 3.4 Pracovní postup

Při přípravě a následné analýze vzorků jsme vycházeli z pracovního postupu poskytnutého Centrem pro výzkum a vývoj v rámci Ústavu klinické biochemie a diagnostiky Fakultní nemocnice Hradec Králové. Tento postup byl převzatý z [116][117][118].

#### 3.4.1 Homogenizace vzorků

Vzorky tkání uchovávané v mrazícím zařízení (−86 °C) jsme nechali samovolně rozmraznout při laboratorní teplotě. Reprezentativní část jednotlivé tkáně jsme rozkrájeli pomocí skalpelu na menší části a navážili jsme vždy vzorek o hmotnosti 1,0–1,1 g. Naváženou tkáň jsme dále mechanicky rozmělnili za pomoci chirurgických nůžek a skalpelu. Takto rozmělněnou tkáň jsme převedli do skleněné vialky a přidali jsme 2 ml fyziologického roztoku (0,9% NaCl). Následně jsme tkáň kompletně rozrušili pomocí homogenizátoru. Z takto připraveného homogenátu jsme odpipetovali 200 μl do jiné skleněné vialky k dalšímu zpracování. Pro získání homogenní konzistence všech vzorků jsme vždy respektovali různorodou povahu zpracovávaných tkání.

#### 3.4.2 Extrakce lipidů

K odebranému homogenátu tkáně jsme přidali 1,5 ml metanolu a uzavřeli jsme vialku šroubovacím víčkem s vloženým septem s vnitřní teflonovou vrstvou. Obsah vialky jsme důkladně promíchali na vortexu a dále jsme ke směsi napipetovali 5 ml metyl-terc-butyléteru (MTBE). Poté jsme nechali směs ve vialce rotovat po dobu 1 hod v horizontální třepačce, kde probíhala vlastní extrakce lipidů. Separaci organické a vodné fáze jsme následně indukovali přidáním 1,25 ml destilované vody, načež jsme směs nechali 10 min inkubovat při laboratorní teplotě. Pro docílení dostatečné sedimentace obsahu vialky jsme následně provedli centrifugaci při 1000 ot/min po dobu 10 min. Oddělenou vrchní organickou fází jsme odebrali plastovou Pasteurovou pipetou do předem připravené acylační zkumavky.

Spodní vrstvu jsme dále reextrahovali přidáním 2 ml roztoku MTBE, metanolu a destilované vody v objemovém poměru 10 : 3 : 2,5. Následně jsme opět provedli centrifugaci při rychlosti 1000 ot/min po dobu 10 min. Vrchní organickou fází jsme poté obdobným způsobem odpipetovali a přidali k první části extraktu. Acylační zkumavku s extraktem jsme dále umístili do termobloku předehřátého na teplotu 60 °C a zároveň jsme proudem dusíku odpařili obsažené rozpouštědlo.

#### 3.4.3 Derivatizace mastných kyselin

K vysušenému extraktu lipidů jsme postupně přidali 50 μl kyseliny heptadekanové (vnitřní standard) rozpuštěné v hexanu, 3 ml metanolu a nakonec 1 ml směsi toluenu a acetylchloridu v objemovém poměru 4 : 1. Acylační zkumavku jsme důsledně uzavřeli plastovým víčkem s řádně těsnícím gumovým kroužkem. Poté jsme směs s použitím rotátoru 15 min promíchávali. Obsah acylační zkumavky jsme následně 1 hod inkubovali v horkovzdušném sterilizátoru při teplotě

100 °C, kde docházelo k samotné derivatizaci MK. Během zahřívání jsme stav vzorku pravidelně kontrolovali kvůli možnému odpaření organické fáze a dotahovali jsme případně povolené víčko. Po uplynutí stanovené doby jsme nechali obsah zkumavky vychladnout. Následně jsme ke směsi přidali 6 ml 12% roztoku K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, čímž proběhla neutralizace katalyzátoru. Acylační zkumavku jsme opět pevně uzavřeli a promíchávali její obsah 15 min pomocí rotátoru. Poté jsme provedli centrifugaci při teplotě 4 °C a rychlosti 3000 ot/min, a to po dobu 5 min. Ve zkumavce tak došlo k separaci fází, z nichž jsme vrchní vrstvu opatrně odebrali plastovou Pasteurovou pipetou do připravené vialky a tu jsme uzavřeli pomocí krimpovacích kleští hliníkovým víčkem. Takto zpracované a řádně označené vzorky jsme skladovali v mrazícím boxu při teplotě -20 °C až do doby analýzy.

### 3.5 Chromatografická analýza

Pod odborným vedením MUDr. Radomíra Hyšplera, Ph.D. a RNDr. Aleny Tiché, Ph.D. jsme provedli chromatografickou analýzu 140 připravených vzorků. Použili jsme přitom plynový chromatograf MASTER vybavený FID detektorem a autosamplerem. Pro analýzu byla zvolena kapilární kolona typu Rtx-2330 o rozměrech 60 m × 0,25 mm × 0,2 μm se stacionární fází 90 % biskyanopropyl/10 % fenylkyanopropyl polysiloxan. Jako nosný plyn jsme použili helium. Analýza proběhla za dodržení následujících chromatografických podmínek:

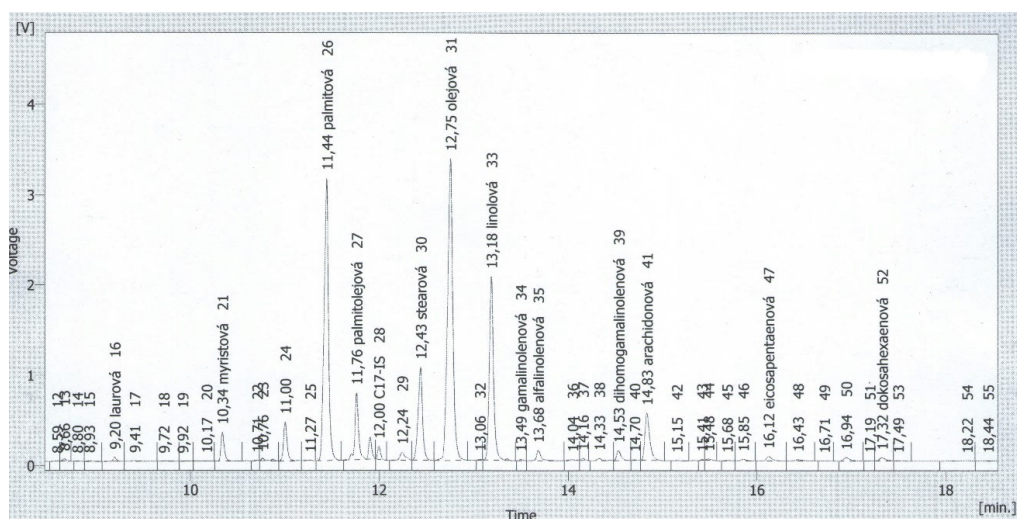
- objem nástřiku: 0,5-1 μl
- tlak nosného plynu: 300 kPa
- teplota injektoru: 280 °C
- teplota termostatu kolony: počáteční teplota 100 °C po dobu 1 min
- teplotní gradient: 14 °C/min do výsledné teploty 250 °C
- teplota detektoru: 330 °C

Pro sběr a zpracování výsledných dat jsme využívali software *Clarity* (DataApex, ČR). Výstup analýzy představoval chromatogram s hodnotami retenčních časů na ose x a odezvou detektoru ve formě napětí na ose y (viz obrázek 16). Mezi získanými píky jsme identifikovali a stanovovali 13 následujících MK a vnitřní standard (IS) v tomto pořadí:

- kyselina laurová (LAA)
- kyselina myristová (MA)
- kyselina palmitová (PA)
- kyselina palmitoolejová (POA)
- C17:0 IS
- kyselina stearová (SA)
- kyselina olejová (OA)
- kyselina linolová (LA)
- kyselina γ-linolenová (GLA)
- kyselina α-linolenová (ALA)

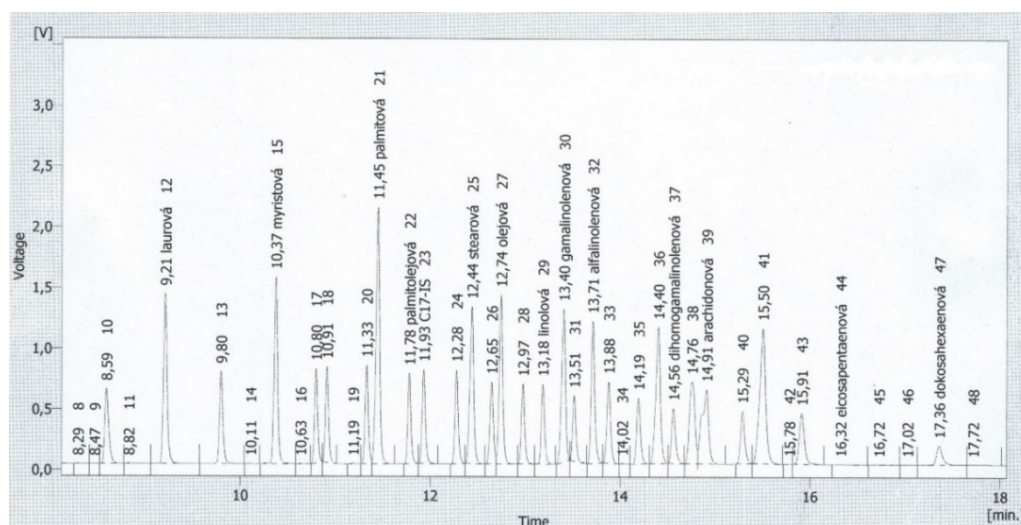
- kyselina dihomo- $\gamma$ -linolenová (DGLA)
- kyselina arachidonová (AA)
- kyselina eikosapentaenová (EPA)
- kyselina dokosaheptaenová (DHA)

Uvedené MK obsažené v analyzovaných vzorcích jsme identifikovali podle jejich příslušných retenčních časů s využitím chromatogramu zobrazujícího standard MK (obr. 17). Pomocí softwaru *Clarity* jsme zjistili plochu pod každým identifikovaným píkem (*area under the curve*; AUC). Metodou normalizace<sup>17</sup> jsme následně ze získaných AUC vypočítali procentuální zastoupení jednotlivých MK v každém vzorku.



**Obrázek 16** Příklad chromatografického záznamu analýzy reálného vzorku tkáňe (sval)

Zdroj: Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice Hradec Králové



**Obrázek 17** Chromatografický záznam standardu hodnocených MK

Zdroj: Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice Hradec Králové

<sup>17</sup> Jedná se o podíl AUC stanovené MK a sumy AUC všech identifikovaných MK kromě IS převedený na procenta.

### 3.6 Statistické zpracování dat a vyhodnocení

Získané hodnoty jednotlivých MK z chromatografické analýzy jsme dále statisticky zpracovávali za účelem následného porovnání a vyhodnocení dat. Využívali jsme přitom program *Microsoft Excel* a software *GraphPad Prism*. U každého analyzovaného vzorku jsme měli k dispozici data o procentuálním zastoupení 13 obsažených MK. Porovnávali jsme hladiny MK mezi skupinami A a B a zároveň mezi různými tkáněmi. Získaná data u každé ze 13 MK jsme tedy rozdělili celkem do 14 souborů po 8 či 12 hodnotách. Takto sestavené soubory dat byly charakterizovány typem tkáně (srdce, játra, ledviny, nadledviny, sval, tuk, mozek) a příslušností ke skupině dárců (A, B). Kromě hodnocení hladin uvedených MK jsme u získaných dat sledovali rovněž následující parametry:

- tSFA = suma nasycených mastných kyselin [%]
- tMUFA = suma mononenasycených mastných kyselin [%]
- $\omega$ -6 PUFA = suma  $\omega$ -6 polynenasycených mastných kyselin [%]
- $\omega$ -3 PUFA = suma  $\omega$ -3 polynenasycených mastných kyselin [%]
- OA/SA = poměr kyseliny olejové a kyseliny stearové
- AA/DGLA = poměr kyseliny arachidonové a kyseliny dihomo- $\gamma$ -linolenové
- LA/ALA = poměr kyseliny linolové a kyseliny  $\alpha$ -linolenové
- AA/EPA = poměr kyseliny arachidonové a kyseliny eikosapentaenové
- $\omega$ -6/ $\omega$ -3 PUFA = poměr  $\omega$ -6 a  $\omega$ -3 polynenasycených mastných kyselin

Každý soubor dat jsme zhodnotili z hlediska deskriptivní statistiky pomocí *MS Excel*. Mezi hodnocené statistické parametry jsme zařadili počet analyzovaných hodnot, minimální a maximální hodnotu, aritmetický průměr, směrodatnou odchylku (SD; standard deviation), medián, 25% percentil a 75% percentil.

Normalitu rozdělení dat jsme pak posoudili využitím softwaru *GraphPad Prism*, konkrétně s pomocí *D'Agostino-Pearson omnibus K2* testu. V případě potvrzení normálního rozdělení dat jsme k porovnání dvou souborů ze skupiny A a B využili některý z parametrických nepárových testů. Pakliže normalita rozdělení nebyla prokázána, porovnávali jsme soubory dat použitím příslušného neparametrického nepárového testu (Mann-Whitney test). Parametrické testy využívají pro testování statistických hypotéz aritmetický průměr, zatímco neparametrické testy porovnávají medián dvou souborů. Typ testu pro porovnávaná data s normálním rozdělením jsme určili dle rovnosti či nerovnosti rozptylů zjištěné pomocí Fisherova testu (F-test). Pokud jsme tímto způsobem rovnost rozptylů potvrdili, použili jsme následně k porovnání souborů dvou-výběrový t-test s rovností rozptylů. Naopak v případě vyvrácení rovnosti rozptylů jsme porovnávali data využitím dvou-výběrového t-testu s nerovností rozptylů. Hladina významnosti pro testování statistických hypotéz byla stanovena na hodnotu  $p = 0,05$ . Uvedené testy jsme realizovali opět s využitím *MS Excel*, případně také *GraphPad Prism*.

Získané výsledky jsme dále zpracovali do grafické podoby. Ve formě sloupcových grafů jsou znázorněny rozdíly průměrného procentuálního zastoupení jednotlivých MK v analyzovaných tkáních u obou skupin zvlášť i celkově. Krabicové grafy potom znázorňují kromě statisticky významných rozdílů mezi soubory také parametry deskriptivní statistiky hodnocených dat. Horní

a dolní hrana obdélníku zde představuje první a třetí kvartil (25% percentil a 75% percentil). Křížek uvnitř obdélníku dále zobrazuje hodnotu aritmetického průměru, zatímco horizontální čára označuje medián. Vertikální čáry vystupující z obdélníku směrem nahoru a dolů naznačují maximální a minimální hodnotu. Odlehlé hodnoty jsme z důvodu lepší přehlednosti do krabicových grafů neznázorňovali.



## 4 VÝSLEDKY

Z kapacitních důvodů nejsou v této kapitole uvedeny přímo hodnoty zjištěných AUC jednotlivých MK ani úplný výčet jejich procentuálního zastoupení u každého vzorku. Získaná data byla výše uvedeným způsobem zpracována a jsou prezentována formou tabulek, sloupcových a krabicových grafů a stručně slovně zhodnocena. Krabicové grafy jsou pak opět z kapacitních důvodů umístěny do přílohy zařazené na konci této práce.

### 4.1 Výsledky jednotlivých mastných kyselin

#### 4.1.1 Kyselina laurová

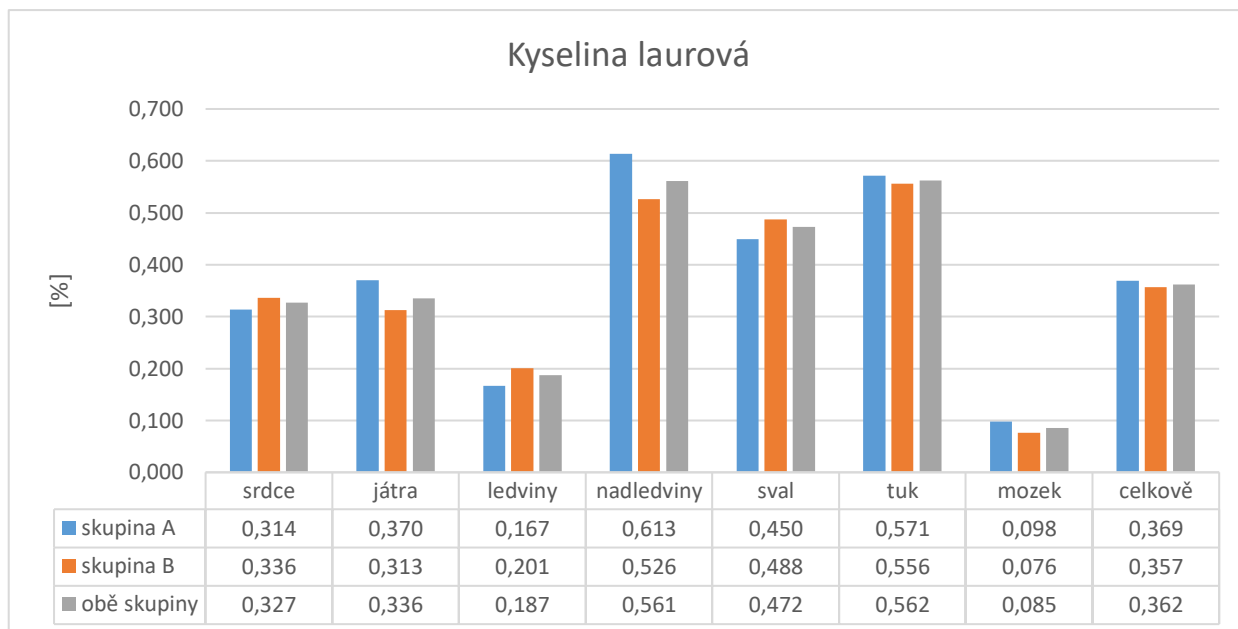
Deskriptivní statistika výsledných hodnot LAA je zaznamenána v tabulce 9.

**Tabulka 9 Kyselina laurová – deskriptivní statistika**

| LAA                 | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | sval A | sval B | tuk A | tuk B | mozek A | mozek B |
|---------------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|-------|-------|---------|---------|
| počet hodnot        | 8       | 12      | 8       | 12      | 8         | 12        | 8            | 12           | 8      | 12     | 8     | 12    | 8       | 12      |
| min.                | 0,209   | 0,183   | 0,135   | 0,125   | 0,117     | 0,118     | 0,349        | 0,204        | 0,295  | 0,215  | 0,323 | 0,153 | 0,052   | 0,059   |
| max.                | 0,581   | 0,579   | 0,947   | 0,607   | 0,229     | 0,316     | 1,032        | 0,933        | 0,592  | 0,592  | 1,007 | 0,930 | 0,153   | 0,101   |
| arit. průměr        | 0,314   | 0,336   | 0,370   | 0,313   | 0,167     | 0,201     | 0,613        | 0,526        | 0,450  | 0,488  | 0,571 | 0,556 | 0,098   | 0,076   |
| SD                  | 0,117   | 0,130   | 0,271   | 0,162   | 0,037     | 0,064     | 0,260        | 0,235        | 0,117  | 0,189  | 0,278 | 0,263 | 0,036   | 0,015   |
| medián              | 0,274   | 0,315   | 0,325   | 0,249   | 0,162     | 0,195     | 0,532        | 0,477        | 0,469  | 0,476  | 0,504 | 0,537 | 0,113   | 0,074   |
| 25% percentil       | 0,252   | 0,234   | 0,144   | 0,214   | 0,140     | 0,152     | 0,393        | 0,355        | 0,357  | 0,371  | 0,338 | 0,408 | 0,066   | 0,063   |
| 75% percentil       | 0,329   | 0,402   | 0,468   | 0,422   | 0,191     | 0,255     | 0,803        | 0,677        | 0,532  | 0,651  | 0,699 | 0,768 | 0,115   | 0,085   |
| normalita rozdělení | ne      | ano     | ne      | ano     | ano       | ano       | ano          | ano          | ano    | ano    | ano   | ano   | ano     | ano     |

Zdroj: Vlastní zpracování

Na obrázku 18 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení LAA v hodnocených tkáních u jednotlivých skupin i dohromady. Průměrná hladina LAA ve tkáních byla stanovena přibližně na hodnotu 0,4 %. Nejvyšší hodnoty vykazuje nadledvinová a tuková tkáň, naopak nejnižší tkáň mozková. Ve skupinách A a B hodnoty nepravidelně kolísají.



**Obrázek 18 Kyselina laurová – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních**

Zdroj: Vlastní zpracování

V případě LAA nebyl zaznamenán žádný statisticky významný rozdíl v jejím zastoupení u jednotlivých skupin. Zhodnocení výsledků je shrnuto v tabulce 10.

**Tabulka 10 Kyselina laurová – statisticky významné rozdíly**

| Kyselina laurová |              |              |              |              |              |              |
|------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Srdce            | Játra        | Ledviny      | Nadledviny   | Sval         | Tuk          | Mozek        |
| <b>A = B</b>     | <b>A = B</b> | <b>A = B</b> | <b>A = B</b> | <b>A = B</b> | <b>A = B</b> | <b>A = B</b> |

Zdroj: Vlastní zpracování

#### 4.1.2 Kyselina myristová

Deskriptivní statistika výsledných hodnot MA je zaznamenána v tabulce 11.

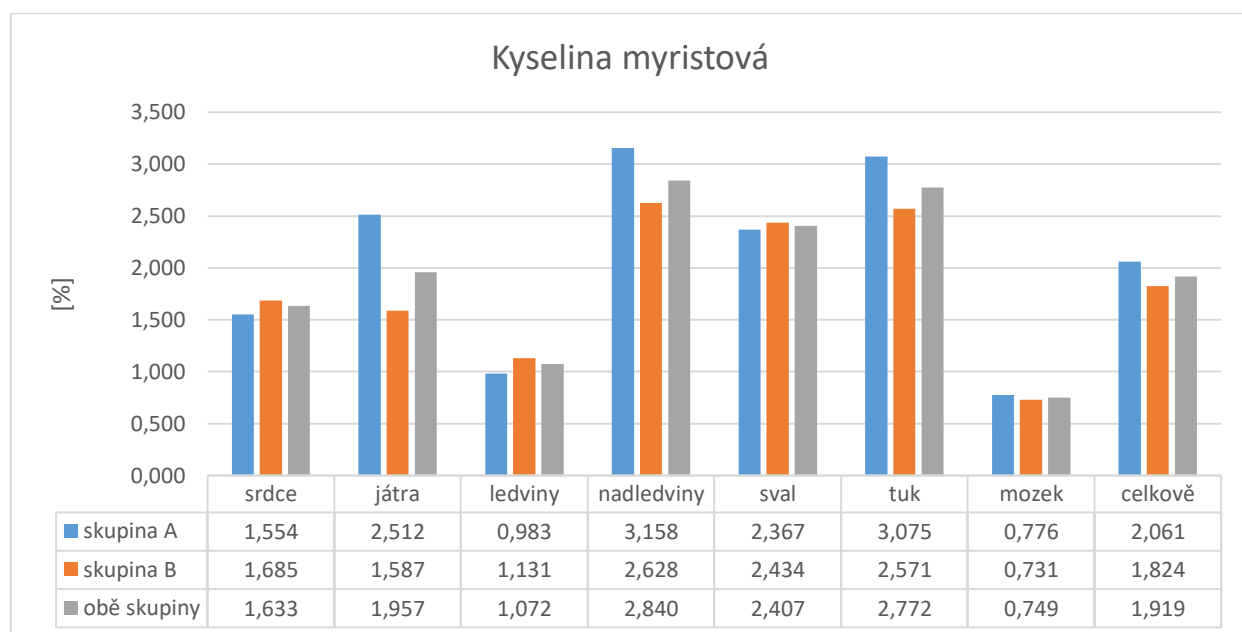
**Tabulka 11 Kyselina myristová – deskriptivní statistika**

| MA            | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | sval A | sval B | tuk A | tuk B | mozek A | mozek B |
|---------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|-------|-------|---------|---------|
| počet hodnot  | 8       | 12      | 8       | 12      | 8         | 12        | 8            | 12           | 8      | 12     | 8     | 12    | 8       | 12      |
| min.          | 0,969   | 0,817   | 0,720   | 0,700   | 0,686     | 0,647     | 2,403        | 1,997        | 1,714  | 1,780  | 2,517 | 1,601 | 0,565   | 0,634   |
| max.          | 2,318   | 2,854   | 4,898   | 3,757   | 1,533     | 2,474     | 4,904        | 4,236        | 4,939  | 3,356  | 3,855 | 3,486 | 0,976   | 0,906   |
| arit. průměr  | 1,554   | 1,685   | 2,512   | 1,587   | 0,983     | 1,131     | 3,158        | 2,628        | 2,367  | 2,434  | 3,075 | 2,571 | 0,776   | 0,731   |
| SD            | 0,392   | 0,642   | 1,641   | 0,950   | 0,294     | 0,491     | 0,774        | 0,631        | 1,064  | 0,452  | 0,538 | 0,689 | 0,143   | 0,077   |
| medián        | 1,498   | 1,557   | 2,526   | 1,140   | 0,919     | 1,011     | 2,962        | 2,447        | 2,012  | 2,437  | 2,983 | 2,731 | 0,769   | 0,734   |
| 25% percentil | 1,419   | 1,227   | 0,866   | 0,920   | 0,778     | 0,885     | 2,795        | 2,275        | 1,881  | 2,088  | 2,611 | 2,011 | 0,677   | 0,677   |

| MA                  | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | sval A | sval B | tuk A | tuk B | mozek A | mozek B |
|---------------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|-------|-------|---------|---------|
| 75% percentil       | 1,630   | 2,190   | 3,865   | 2,062   | 1,062     | 1,175     | 3,125        | 2,698        | 2,181  | 2,703  | 3,446 | 3,078 | 0,885   | 0,765   |
| normalita rozdělení | ano     | ano     | ano     | ano     | ano       | ne        | ne           | ne           | ne     | ano    | ano   | ano   | ano     | ano     |

Zdroj: Vlastní zpracování

Na obrázku 19 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení MA v hodnocených tkáních u jednotlivých skupin i dohromady. Průměrná hladina MA ve tkáních byla stanovena přibližně na hodnotu 1,9 %. Svým rozložením v jednotlivých tkáních se MA podobá předchozí LAA. V nadledvinách a tuku tedy vykazuje nejvyšší množství a v mozku naopak nejnižší. Mezi skupinami A a B rozdíly v tkáních opět kolísají.



**Obrázek 19 Kyselina myristová – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních**

Zdroj: Vlastní zpracování

V případě MA byl prokázán pouze jediný statisticky významný rozdíl v jejím zastoupení u jednotlivých skupin. Jedná se o vyšší hodnoty MA v nadledvinách jedinců skupiny A. Zhodnocení výsledků je shrnuto v tabulce 12.

**Tabulka 12 Kyselina myristová – statisticky významné rozdíly**

| Kyselina myristová |       |         |            |       |       |       |
|--------------------|-------|---------|------------|-------|-------|-------|
| Srdce              | Játra | Ledviny | Nadledviny | Sval  | Tuk   | Mozek |
| A = B              | A = B | A = B   | A > B      | A = B | A = B | A = B |

Zdroj: Vlastní zpracování

### 4.1.3 Kyselina palmitová

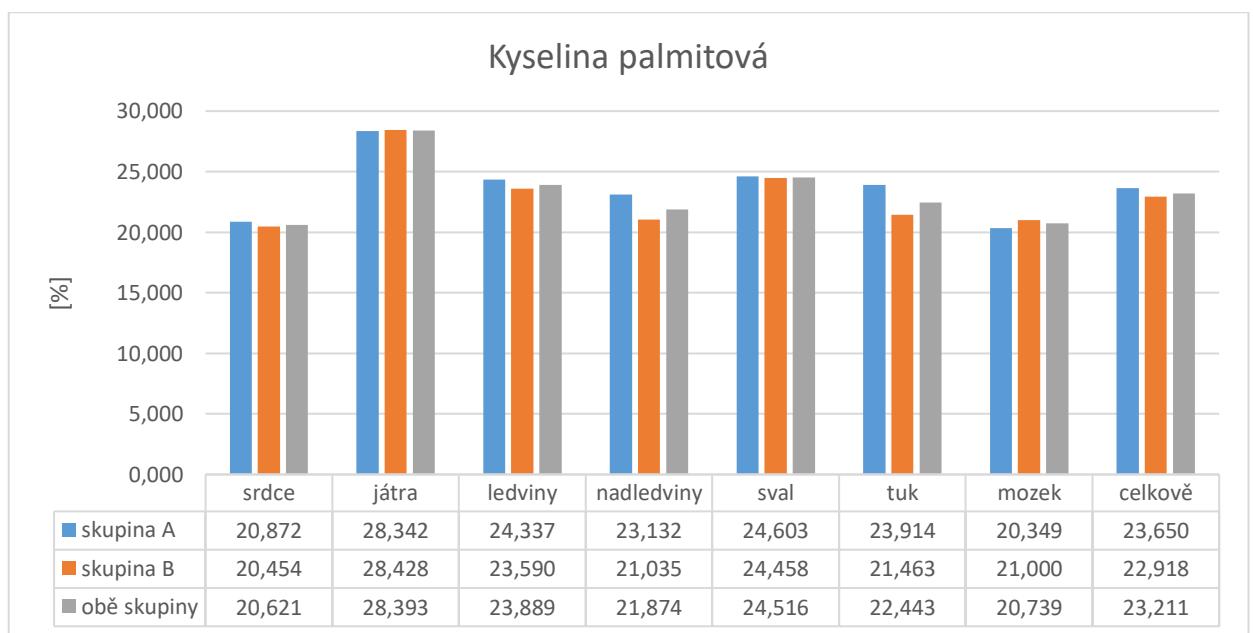
Deskriptivní statistika výsledných hodnot PA je zaznamenána v tabulce 13.

**Tabulka 13 Kyselina palmitová – deskriptivní statistika**

| PA                  | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | sval A | sval B | tuk A  | tuk B  | mozek A | mozek B |
|---------------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|
| počet hodnot        | 8       | 12      | 8       | 12      | 8         | 12        | 8            | 12           | 8      | 12     | 8      | 12     | 8       | 12      |
| min.                | 17,501  | 17,805  | 24,182  | 21,770  | 22,849    | 20,064    | 19,249       | 16,672       | 22,077 | 20,111 | 20,396 | 16,843 | 18,420  | 16,231  |
| max.                | 24,457  | 23,903  | 36,083  | 34,607  | 26,754    | 27,765    | 27,374       | 30,318       | 27,702 | 32,081 | 27,689 | 28,309 | 21,833  | 24,590  |
| arit. průměr        | 20,872  | 20,454  | 28,342  | 28,428  | 24,337    | 23,590    | 23,132       | 21,035       | 24,603 | 24,458 | 23,914 | 21,463 | 20,349  | 21,000  |
| SD                  | 2,231   | 2,339   | 4,500   | 3,953   | 1,397     | 2,112     | 2,998        | 3,819        | 1,830  | 3,427  | 2,766  | 3,378  | 1,344   | 2,426   |
| medián              | 21,018  | 19,903  | 27,071  | 29,640  | 24,279    | 23,879    | 24,221       | 20,933       | 24,340 | 23,183 | 23,156 | 21,423 | 20,742  | 21,488  |
| 25% percentil       | 19,575  | 18,547  | 24,541  | 25,635  | 23,024    | 21,692    | 20,327       | 18,238       | 23,482 | 22,721 | 21,994 | 18,706 | 19,066  | 19,835  |
| 75% percentil       | 21,974  | 23,049  | 30,561  | 31,063  | 25,232    | 24,234    | 24,758       | 22,476       | 25,743 | 25,634 | 26,481 | 23,111 | 21,370  | 22,428  |
| normalita rozdělení | ano     | ano     | ano     | ano     | ano       | ano       | ano          | ne           | ano    | ano    | ano    | ano    | ano     | ano     |

Zdroj: Vlastní zpracování

Na obrázku 20 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení PA v hodnocených tkáních u jednotlivých skupin i dohromady. Průměrná hladina PA ve tkáních byla stanovena přibližně na hodnotu 23,2 %. PA se vyskytovala ve všech tkáních u obou skupin v poměrně vyrovnaném množství. O něco málo vyšší hladiny pak byly zaznamenány v játrech.



**Obrázek 20 Kyselina palmitová – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních**

Zdroj: Vlastní zpracování

V případě PA nebyl mezi skupinami zjištěný žádný statisticky významný rozdíl v jejím zastoupení. Zhodnocení výsledků je shrnuto v tabulce 14.

**Tabulka 14 Kyselina palmitová – statisticky významné rozdíly**

| Kyselina palmitová |       |         |            |       |       |       |
|--------------------|-------|---------|------------|-------|-------|-------|
| Srdce              | Játra | Ledviny | Nadledviny | Sval  | Tuk   | Mozek |
| A = B              | A = B | A = B   | A = B      | A = B | A = B | A = B |

Zdroj: Vlastní zpracování

#### 4.1.4 Kyselina palmitoolejová

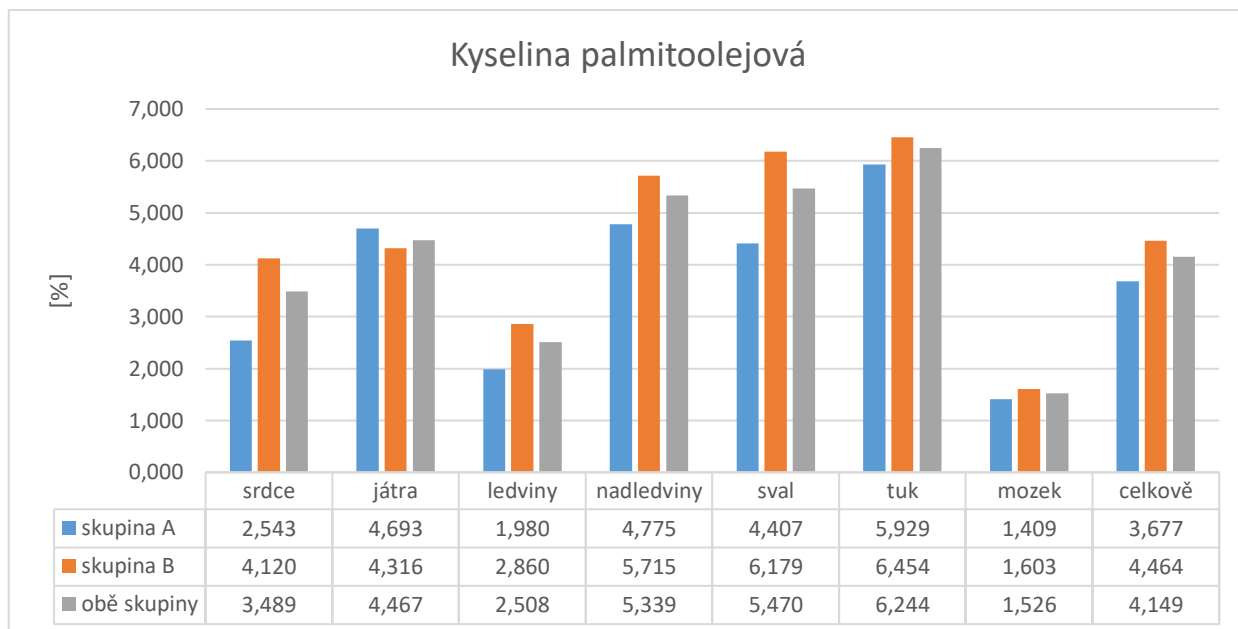
Deskriptivní statistika výsledných hodnot POA je zaznamenána v tabulce 15.

**Tabulka 15 Kyselina palmitoolejová – deskriptivní statistika**

| POA                 | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | sval A | sval B | tuk A | tuk B | mozek A | mozek B |
|---------------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|-------|-------|---------|---------|
| počet hodnot        | 8       | 12      | 8       | 12      | 8         | 12        | 8            | 12           | 8      | 12     | 8     | 12    | 8       | 12      |
| min.                | 1,384   | 1,252   | 1,673   | 1,918   | 1,181     | 1,131     | 2,836        | 3,206        | 2,411  | 4,417  | 4,065 | 3,129 | 0,886   | 0,902   |
| max.                | 6,416   | 8,655   | 8,422   | 10,645  | 3,014     | 5,478     | 8,198        | 8,523        | 7,242  | 9,136  | 8,130 | 8,833 | 1,621   | 2,603   |
| arit. průměr        | 2,543   | 4,120   | 4,693   | 4,316   | 1,980     | 2,860     | 4,775        | 5,715        | 4,407  | 6,179  | 5,929 | 6,454 | 1,409   | 1,603   |
| SD                  | 1,654   | 1,946   | 2,705   | 2,660   | 0,791     | 1,242     | 1,926        | 1,507        | 1,795  | 1,341  | 1,456 | 1,772 | 0,234   | 0,543   |
| medián              | 1,958   | 3,725   | 4,148   | 3,307   | 1,891     | 2,462     | 4,129        | 5,536        | 3,608  | 5,764  | 5,597 | 5,983 | 1,480   | 1,455   |
| 25% percentil       | 1,584   | 3,470   | 2,334   | 2,531   | 1,259     | 2,270     | 3,306        | 4,990        | 3,327  | 5,616  | 5,288 | 5,577 | 1,380   | 1,305   |
| 75% percentil       | 2,705   | 4,343   | 7,053   | 4,872   | 2,566     | 3,269     | 5,871        | 6,321        | 5,853  | 6,742  | 6,384 | 7,683 | 1,554   | 1,808   |
| normalita rozdělení | ne      | ne      | ano     | ne      | ano       | ano       | ano          | ano          | ano    | ano    | ano   | ano   | ne      | ano     |

Zdroj: Vlastní zpracování

Na obrázku 21 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení POA v hodnocených tkáních u jednotlivých skupin i dohromady. Průměrná hladina POA ve tkáních byla stanovena přibližně na hodnotu 4,1 %. Z výsledných hodnot je patrná pravidelně zvýšená hladina POA ve tkáních u skupiny B (kromě jater). Poměrně nízké zastoupení POA bylo zjištěno v mozkové tkáni.



**Obrázek 21 Kyselina palmitoolejová – průměrná procentuální zastoupení ve tkáních**

Zdroj: Vlastní zpracování

V případě POA byly potvrzeny dva statisticky významné rozdíly v jejím zastoupení u jednotlivých skupin. Srdeční a svalová tkáň ve skupině B vykazovala vyšší hladiny POA. Zhodnocení výsledků je shrnuto v tabulce 16.

**Tabulka 16 Kyselina palmitoolejová – statisticky významné rozdíly**

| Kyselina palmitoolejová |       |         |            |       |       |       |
|-------------------------|-------|---------|------------|-------|-------|-------|
| Srdce                   | Játra | Ledviny | Nadledviny | Sval  | Tuk   | Mozek |
| A < B                   | A = B | A = B   | A = B      | A < B | A = B | A = B |

Zdroj: Vlastní zpracování

#### 4.1.5 Kyselina stearová

Deskriptivní statistika výsledných hodnot SA je zaznamenána v tabulce 17.

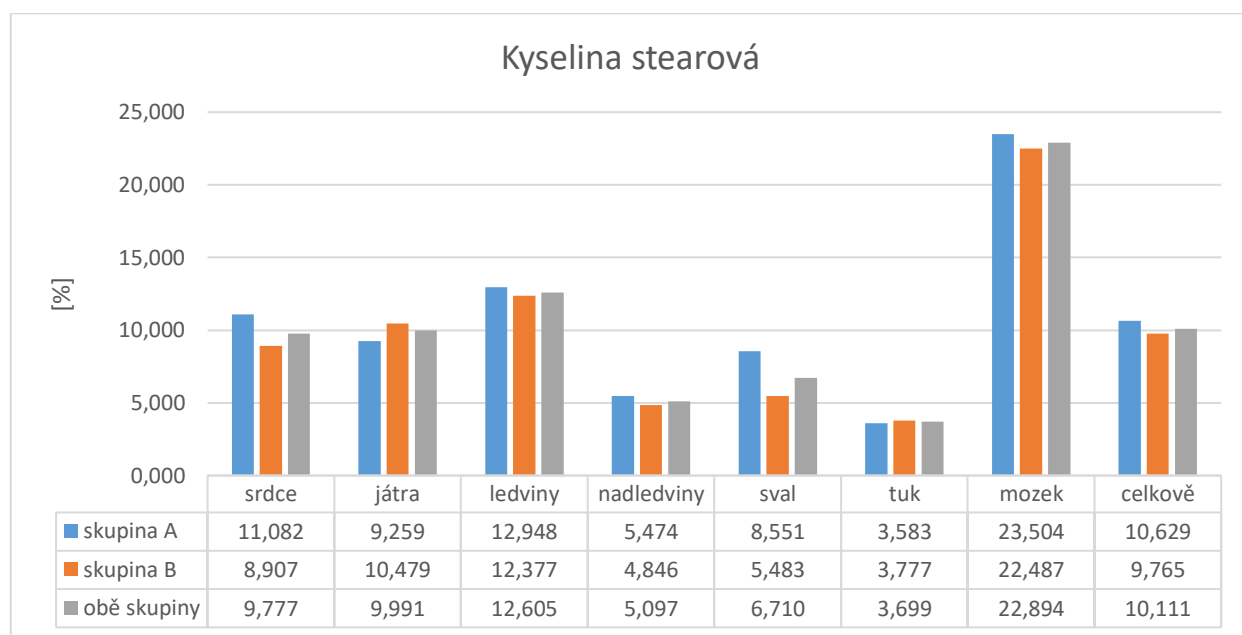
**Tabulka 17 Kyselina stearová – deskriptivní statistika**

| SA            | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | sval A | sval B | tuk A | tuk B | mozek A | mozek B |
|---------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|-------|-------|---------|---------|
| počet hodnot  | 8       | 12      | 8       | 12      | 8         | 12        | 8            | 12           | 8      | 12     | 8     | 12    | 8       | 12      |
| min.          | 5,183   | 4,928   | 5,208   | 6,403   | 10,493    | 7,006     | 3,720        | 3,333        | 6,910  | 2,862  | 2,418 | 1,908 | 22,329  | 20,076  |
| max.          | 13,322  | 13,749  | 13,830  | 15,708  | 14,139    | 15,124    | 6,657        | 7,040        | 12,198 | 7,864  | 4,639 | 6,205 | 24,475  | 24,127  |
| arit. průměr  | 11,082  | 8,907   | 9,259   | 10,479  | 12,948    | 12,377    | 5,474        | 4,846        | 8,551  | 5,483  | 3,583 | 3,777 | 23,504  | 22,487  |
| SD            | 2,643   | 2,520   | 3,676   | 3,165   | 1,181     | 2,302     | 0,866        | 1,095        | 1,647  | 1,399  | 0,832 | 1,232 | 0,848   | 1,179   |
| medián        | 12,025  | 8,626   | 8,479   | 10,889  | 13,216    | 12,159    | 5,565        | 4,787        | 8,198  | 5,854  | 3,783 | 3,760 | 23,358  | 22,546  |
| 25% percentil | 10,354  | 7,365   | 5,992   | 7,550   | 12,706    | 11,246    | 5,342        | 4,175        | 7,535  | 4,428  | 2,998 | 3,044 | 22,886  | 21,797  |

| SA                  | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | sval A | sval B | tuk A | tuk B | mozek A | mozek B |
|---------------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|-------|-------|---------|---------|
| 75% percentil       | 12,751  | 9,958   | 13,078  | 12,096  | 13,737    | 14,103    | 5,784        | 5,304        | 8,735  | 6,467  | 4,210 | 4,476 | 24,406  | 23,353  |
| normalita rozdělení | ne      | ano     | ano     | ano     | ano       | ano       | ano          | ano          | ne     | ano    | ano   | ano   | ano     | ano     |

Zdroj: Vlastní zpracování

Na obrázku 22 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení SA v hodnocených tkáních u jednotlivých skupin i dohromady. Průměrná hladina SA ve tkáních byla stanovena přibližně na hodnotu 10,1 %. Na rozdíl od ostatních SFA byla u SA zaznamenána výrazně vyšší hladina v mozku ve srovnání s ostatními tkáněmi. Rozdíly mezi skupinami A a B nejeví příliš pravidelný trend.



**Obrázek 22 Kyselina stearová – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních**

Zdroj: Vlastní zpracování

V případě SA byly prokázány dva protichůdné statisticky významné rozdíly v jejím zastoupení u jednotlivých skupin. Vyšší hodnoty SA byly zaznamenány v játrech u skupiny B a zároveň ve svalu u skupiny A. Zhodnocení výsledků je shrnuto v tabulce 18.

**Tabulka 18 Kyselina stearová – statisticky významné rozdíly**

| Kyselina stearová |                 |              |              |                 |              |              |
|-------------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|
| Srdce             | Játra           | Ledviny      | Nadledviny   | Sval            | Tuk          | Mozek        |
| <b>A = B</b>      | <b>A &lt; B</b> | <b>A = B</b> | <b>A = B</b> | <b>A &gt; B</b> | <b>A = B</b> | <b>A = B</b> |

Zdroj: Vlastní zpracování

#### 4.1.6 Kyselina olejová

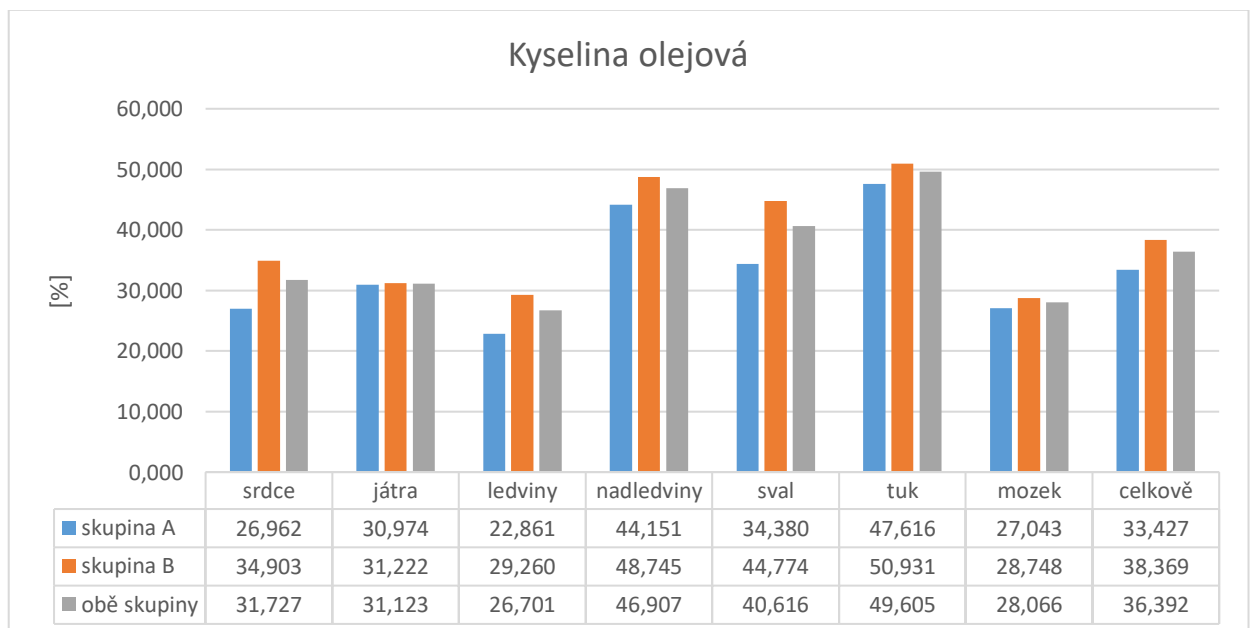
Deskriptivní statistika výsledných hodnot OA je zaznamenána v tabulce 19.

**Tabulka 19 Kyselina olejová– deskriptivní statistika**

| OA                  | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | sval A | sval B | tuk A  | tuk B  | mozek A | mozek B |
|---------------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|
| počet hodnot        | 8       | 12      | 8       | 12      | 8         | 12        | 8            | 12           | 8      | 12     | 8      | 12     | 8       | 12      |
| min.                | 19,751  | 18,391  | 20,976  | 19,828  | 20,528    | 21,539    | 40,262       | 43,762       | 22,611 | 38,152 | 43,713 | 46,244 | 24,142  | 23,069  |
| max.                | 44,431  | 45,889  | 42,638  | 46,011  | 28,611    | 39,895    | 48,439       | 54,687       | 39,723 | 50,147 | 51,379 | 59,270 | 30,494  | 36,321  |
| arit. průměr        | 26,962  | 34,903  | 30,974  | 31,222  | 22,861    | 29,260    | 44,151       | 48,745       | 34,380 | 44,774 | 47,616 | 50,931 | 27,043  | 28,748  |
| SD                  | 8,006   | 8,131   | 8,298   | 7,378   | 2,706     | 6,134     | 2,336        | 3,055        | 5,245  | 4,018  | 3,016  | 3,876  | 2,686   | 4,183   |
| medián              | 24,842  | 35,671  | 33,330  | 33,026  | 21,786    | 27,762    | 43,896       | 48,008       | 34,771 | 45,227 | 46,720 | 50,073 | 27,226  | 28,256  |
| 25% percentil       | 21,781  | 31,775  | 22,422  | 25,770  | 21,093    | 25,208    | 43,412       | 46,686       | 34,114 | 42,079 | 45,367 | 48,079 | 24,279  | 26,479  |
| 75% percentil       | 29,135  | 40,341  | 36,377  | 34,637  | 23,590    | 33,900    | 44,999       | 50,655       | 37,790 | 48,044 | 50,792 | 53,113 | 28,902  | 30,443  |
| normalita rozdělení | ne      | ano     | ano     | ano     | ne        | ano       | ano          | ano          | ne     | ano    | ano    | ano    | ano     | ano     |

Zdroj: Vlastní zpracování

Na obrázku 23 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení OA v hodnocených tkáních u jednotlivých skupin i dohromady. Průměrná hladina OA ve tkáních byla stanovena přibližně na hodnotu 36,4 %. Hodnoty OA v jednotlivých tkáních jsou poměrně vyrovnané, pouze v nadledvinách, ve svalu a v tuku jsou zaznamenány vyšší hladiny. S výjimkou jater je patrné pravidelně mírně zvýšené zastoupení OA u jedinců ze skupiny B.



**Obrázek 23 Kyselina olejová – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních**

Zdroj: Vlastní zpracování



V případě OA byly zjištěny hned čtyři statisticky významné rozdíly v jejím zastoupení u jednotlivých skupin. Statisticky významně vyšší hladiny OA měli jedinci ze skupiny B v srdeční, ledvinové, nadledvinové a svalové tkáni. Přitom v týchž tkáních byla u skupiny B zaznamenána také alespoň mírně nižší hladina SA, jak je patrné z příslušného grafu výše. Zhodnocení výsledků je shrnuto v tabulce 20.

**Tabulka 20 Kyselina olejová – statisticky významné rozdíly**

| Kyselina olejová |       |         |            |       |       |       |
|------------------|-------|---------|------------|-------|-------|-------|
| Srdce            | Játra | Ledviny | Nadledviny | Sval  | Tuk   | Mozek |
| A < B            | A = B | A < B   | A < B      | A < B | A = B | A = B |

Zdroj: Vlastní zpracování

#### 4.1.7 Kyselina linolová

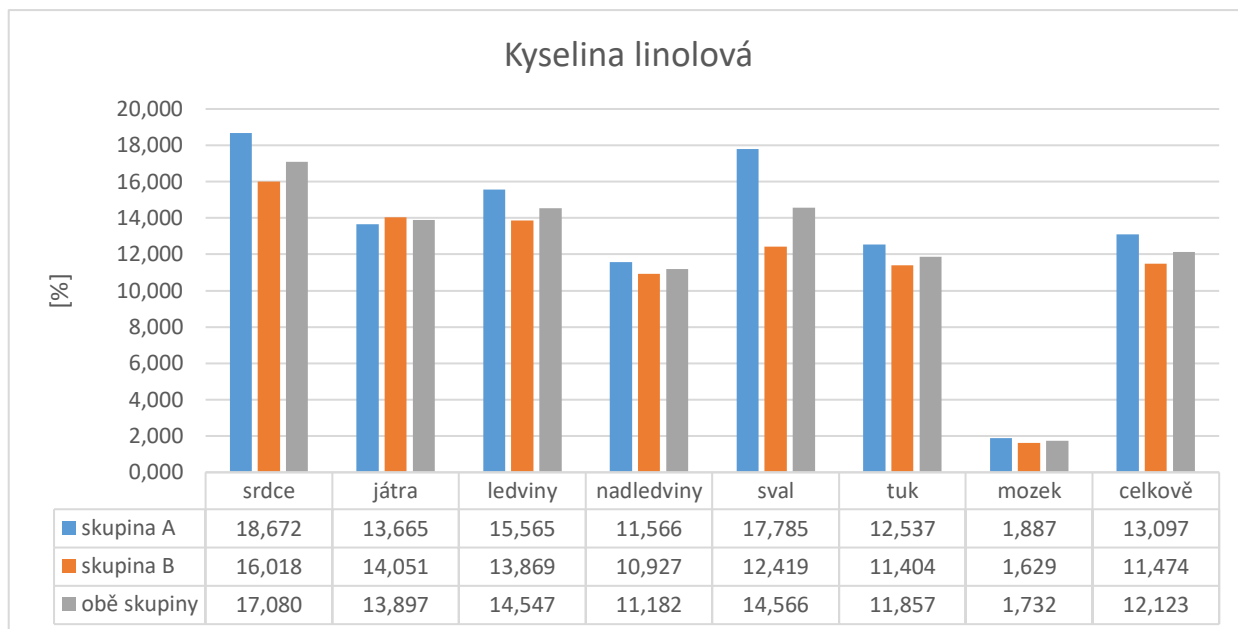
Deskriptivní statistika výsledných hodnot LA je zaznamenána v tabulce 21.

**Tabulka 21 Kyselina linolová – deskriptivní statistika**

| LA                  | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | sval A | sval B | tuk A  | tuk B  | mozek A | mozek B |
|---------------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|
| počet hodnot        | 8       | 12      | 8       | 12      | 8         | 12        | 8            | 12           | 8      | 12     | 8      | 12     | 8       | 12      |
| min.                | 11,004  | 9,906   | 8,033   | 8,032   | 13,095    | 10,625    | 9,127        | 7,486        | 12,752 | 7,727  | 10,238 | 7,742  | 1,254   | 1,024   |
| max.                | 23,000  | 24,283  | 20,533  | 19,603  | 18,358    | 18,520    | 15,012       | 20,443       | 25,128 | 18,323 | 15,866 | 21,440 | 2,821   | 2,111   |
| arit. průměr        | 18,672  | 16,018  | 13,665  | 14,051  | 15,565    | 13,869    | 11,566       | 10,927       | 17,785 | 12,419 | 12,537 | 11,404 | 1,887   | 1,629   |
| SD                  | 3,663   | 4,026   | 5,011   | 3,569   | 1,657     | 2,650     | 2,189        | 3,398        | 3,637  | 2,907  | 2,163  | 3,844  | 0,635   | 0,370   |
| medián              | 18,398  | 14,782  | 13,249  | 13,987  | 15,798    | 13,767    | 11,488       | 9,773        | 16,998 | 11,706 | 12,227 | 10,382 | 1,658   | 1,603   |
| 25% percentil       | 18,126  | 13,897  | 9,193   | 11,479  | 15,172    | 11,696    | 9,448        | 9,052        | 16,290 | 10,470 | 10,644 | 8,895  | 1,345   | 1,393   |
| 75% percentil       | 20,664  | 18,324  | 17,518  | 16,779  | 16,004    | 15,256    | 13,105       | 11,405       | 18,247 | 13,960 | 13,922 | 12,201 | 2,456   | 1,942   |
| normalita rozdělení | ano     | ano     | ano     | ano     | ano       | ano       | ano          | ne           | ano    | ano    | ano    | ne     | ano     | ano     |

Zdroj: Vlastní zpracování

Na obrázku 24 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení LA v hodnocených tkáních u jednotlivých skupin i dohromady. Průměrná hladina LA ve tkáních byla stanovena přibližně na hodnotu 12,1 %. Rozložení LA v jednotlivých tkáních je poměrně rovnoměrné až na výrazně nižší hladiny v mozku. U skupiny A je ve všech případech kromě jater patrná alespoň mírně vyšší hladina LA ve srovnání se skupinou B.



**Obrázek 24 Kyselina linolová – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních**

Zdroj: Vlastní zpracování

V případě LA byl prokázán pouze jediný statisticky významný rozdíl v jejím zastoupení u jednotlivých skupin. Jedná se o vyšší hladiny LA ve svalové tkáni u skupiny A. Zhodnocení výsledků je shrnuto v tabulce 22.

**Tabulka 22 Kyselina linolová – statisticky významné rozdíly**

| Kyselina linolová |       |         |            |       |       |       |
|-------------------|-------|---------|------------|-------|-------|-------|
| Srdce             | Játra | Ledviny | Nadledviny | Sval  | Tuk   | Mozek |
| A = B             | A = B | A = B   | A = B      | A > B | A = B | A = B |

Zdroj: Vlastní zpracování

#### 4.1.8 Kyselina $\gamma$ -linolenová

Deskriptivní statistika výsledných hodnot GLA je zaznamenána v tabulce 23.

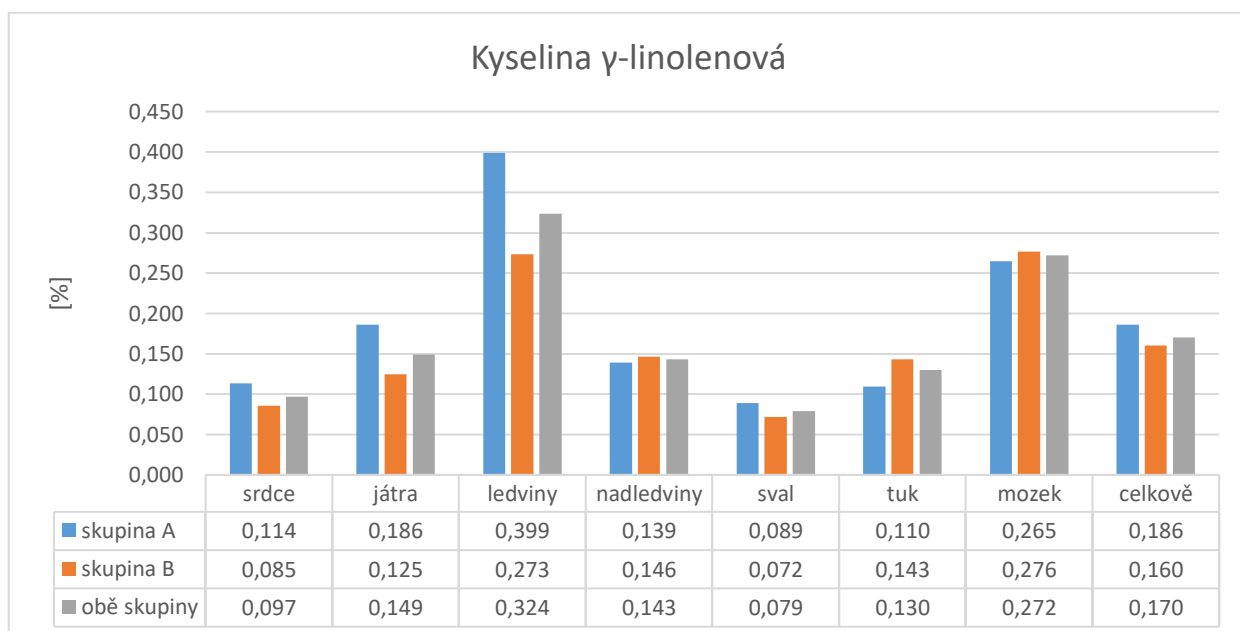
**Tabulka 23 Kyselina  $\gamma$ -linolenová – deskriptivní statistika**

| GLA           | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | sval A | sval B | tuk A | tuk B | mozek A | mozek B |
|---------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|-------|-------|---------|---------|
| počet hodnot  | 8       | 12      | 8       | 12      | 8         | 12        | 8            | 12           | 8      | 12     | 8     | 12    | 8       | 12      |
| min.          | 0,061   | 0,044   | 0,064   | 0,060   | 0,287     | 0,045     | 0,048        | 0,064        | 0,050  | 0,041  | 0,068 | 0,048 | 0,203   | 0,212   |
| max.          | 0,170   | 0,168   | 0,429   | 0,248   | 0,795     | 0,478     | 0,213        | 0,217        | 0,120  | 0,148  | 0,180 | 0,256 | 0,336   | 0,357   |
| arit. průměr  | 0,114   | 0,085   | 0,186   | 0,125   | 0,399     | 0,273     | 0,139        | 0,146        | 0,089  | 0,072  | 0,110 | 0,143 | 0,265   | 0,276   |
| SD            | 0,043   | 0,037   | 0,113   | 0,057   | 0,164     | 0,157     | 0,056        | 0,055        | 0,024  | 0,031  | 0,045 | 0,073 | 0,040   | 0,045   |
| medián        | 0,107   | 0,076   | 0,172   | 0,106   | 0,356     | 0,325     | 0,137        | 0,161        | 0,093  | 0,063  | 0,092 | 0,149 | 0,268   | 0,272   |
| 25% percentil | 0,077   | 0,058   | 0,112   | 0,090   | 0,317     | 0,130     | 0,102        | 0,099        | 0,073  | 0,050  | 0,073 | 0,072 | 0,251   | 0,249   |

| GLA                 | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | sval A | sval B | tuk A | tuk B | mozek A | mozek B |
|---------------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|-------|-------|---------|---------|
| 75% percentil       | 0,151   | 0,106   | 0,217   | 0,140   | 0,384     | 0,374     | 0,187        | 0,186        | 0,108  | 0,083  | 0,148 | 0,199 | 0,276   | 0,294   |
| normalita rozdělení | ano     | ano     | ne      | ano     | ne        | ano       | ano          | ano          | ano    | ne     | ano   | ano   | ano     | ano     |

Zdroj: Vlastní zpracování

Na obrázku 25 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení GLA v hodnocených tkáních u jednotlivých skupin i dohromady. Průměrná hladina GLA ve tkáních byla stanovena přibližně na hodnotu 0,2 %. Vyšší hladiny GLA byly zjištěny v mozkové a zejména pak v ledvinové tkáni. Rozdíly mezi skupinami A a B nevykazují zcela pravidelný trend.



**Obrázek 25 Kyselina  $\gamma$ -linolenová – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních**

Zdroj: Vlastní zpracování

V případě GLA nebyl prokázán žádný statisticky významný rozdíl v jejím zastoupení u jednotlivých skupin. Zhodnocení výsledků je shrnuto v tabulce 24.

**Tabulka 24 Kyselina  $\gamma$ -linolenová – statisticky významné rozdíly**

| Kyselina $\gamma$ -linolenová |       |         |            |       |       |       |
|-------------------------------|-------|---------|------------|-------|-------|-------|
| Srdce                         | Játra | Ledviny | Nadledviny | Sval  | Tuk   | Mozek |
| A = B                         | A = B | A = B   | A = B      | A = B | A = B | A = B |

Zdroj: Vlastní zpracování

#### 4.1.9 Kyselina $\alpha$ -linolenová

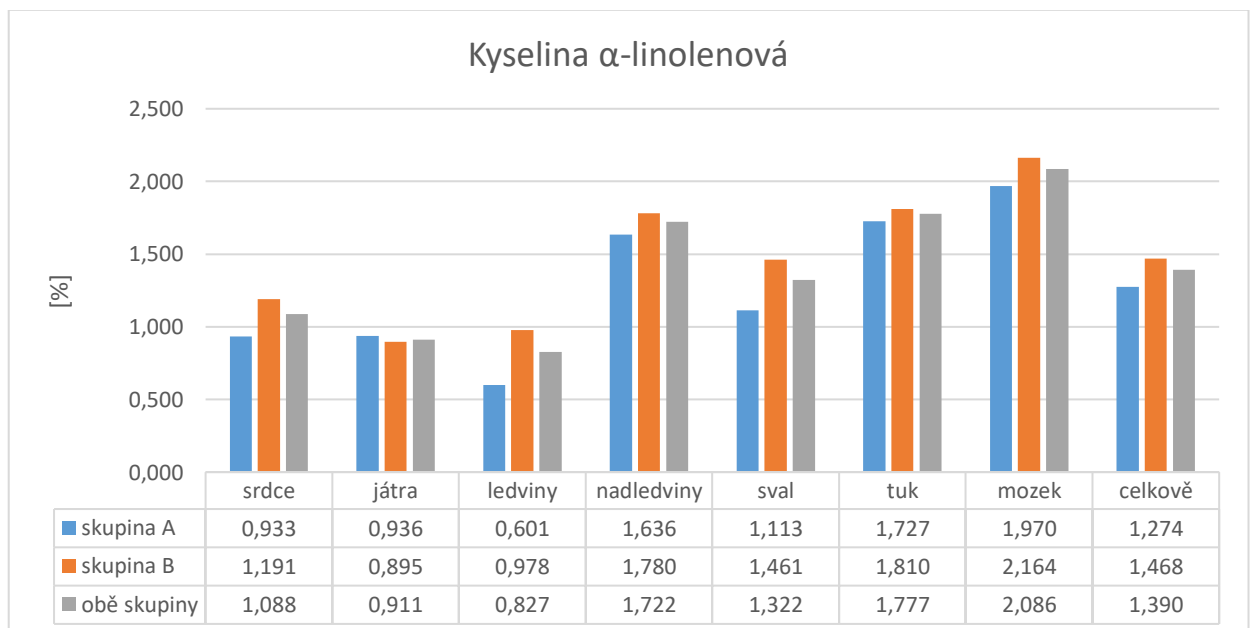
Deskriptivní statistika výsledných hodnot ALA je zaznamenána v tabulce 25.

**Tabulka 25 Kyselina  $\alpha$ -linolenová – deskriptivní statistika**

| ALA                 | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | sval A | sval B | tuk A | tuk B | mozek A | mozek B |
|---------------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|-------|-------|---------|---------|
| počet hodnot        | 8       | 12      | 8       | 12      | 8         | 12        | 8            | 12           | 8      | 12     | 8     | 12    | 8       | 12      |
| min.                | 0,565   | 0,543   | 0,486   | 0,555   | 0,402     | 0,620     | 1,256        | 1,195        | 0,625  | 1,063  | 1,463 | 1,216 | 1,224   | 1,049   |
| max.                | 1,381   | 1,904   | 1,411   | 1,338   | 0,852     | 1,827     | 2,094        | 2,335        | 1,533  | 2,016  | 2,237 | 2,427 | 3,109   | 5,014   |
| arit. průměr        | 0,933   | 1,191   | 0,936   | 0,895   | 0,601     | 0,978     | 1,636        | 1,780        | 1,113  | 1,461  | 1,727 | 1,810 | 1,970   | 2,164   |
| SD                  | 0,284   | 0,402   | 0,279   | 0,279   | 0,159     | 0,349     | 0,291        | 0,399        | 0,277  | 0,288  | 0,291 | 0,323 | 0,703   | 1,114   |
| medián              | 0,883   | 1,230   | 0,893   | 0,785   | 0,565     | 0,874     | 1,520        | 1,703        | 1,116  | 1,438  | 1,673 | 1,754 | 2,023   | 1,853   |
| 25% percentil       | 0,787   | 0,922   | 0,801   | 0,721   | 0,495     | 0,755     | 1,466        | 1,529        | 0,980  | 1,235  | 1,487 | 1,614 | 1,256   | 1,580   |
| 75% percentil       | 1,098   | 1,385   | 1,104   | 1,162   | 0,677     | 1,144     | 1,875        | 2,131        | 1,283  | 1,630  | 1,800 | 1,966 | 2,363   | 2,210   |
| normalita rozdělení | ano     | ano     | ano     | ano     | ano       | ne        | ano          | ano          | ano    | ano    | ano   | ano   | ano     | ne      |

Zdroj: Vlastní zpracování

Na obrázku 26 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení ALA v hodnocených tkáních u jednotlivých skupin i dohromady. Průměrná hladina ALA ve tkáních byla stanovena přibližně na hodnotu 1,4 %. Nejvyšší hodnoty ALA vykazovala mozková, tuková a nadledvinová tkáň. U všech tkání opět kromě jater se pravidelně opakovalo mírné zvýšení hladin ALA u skupiny B.



**Obrázek 26 Kyselina  $\alpha$ -linolenová – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních**

Zdroj: Vlastní zpracování

V případě ALA byly potvrzeny dva statisticky významné rozdíly v jejím zastoupení u jednotlivých skupin. V obou případech byly zjištěny vyšší hladiny ALA ve skupině B. Jednalo se o ledvinovou a svalovou tkáň. Zhodnocení výsledků je shrnuto v tabulce 26.

**Tabulka 26 Kyselina  $\alpha$ -linolenová – statisticky významné rozdíly**

| Kyselina $\alpha$ -linolenová |              |                 |              |                 |              |              |
|-------------------------------|--------------|-----------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|
| Srdce                         | Játra        | Ledviny         | Nadledviny   | Sval            | Tuk          | Mozek        |
| <b>A = B</b>                  | <b>A = B</b> | <b>A &lt; B</b> | <b>A = B</b> | <b>A &lt; B</b> | <b>A = B</b> | <b>A = B</b> |

Zdroj: Vlastní zpracování

#### 4.1.10 Kyselina dihomogamma-linolenová

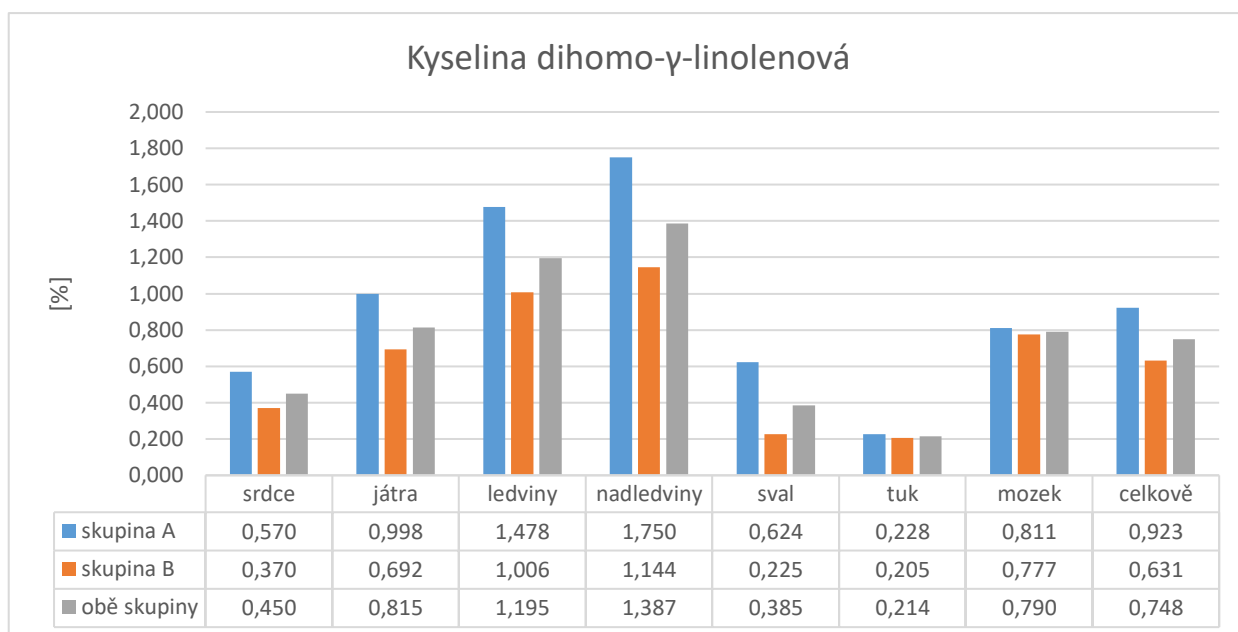
Deskriptivní statistika výsledných hodnot DGLA je zaznamenána v tabulce 27.

**Tabulka 27 Kyselina dihomogamma-linolenová – deskriptivní statistika**

| DGLA                | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | sval A | sval B | tuk A | tuk B | mozek A | mozek B |
|---------------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|-------|-------|---------|---------|
| počet hodnot        | 8       | 12      | 8       | 12      | 8         | 12        | 8            | 12           | 8      | 12     | 8     | 12    | 8       | 12      |
| min.                | 0,232   | 0,224   | 0,132   | 0,270   | 1,237     | 0,407     | 0,153        | 0,121        | 0,423  | 0,044  | 0,123 | 0,122 | 0,615   | 0,598   |
| max.                | 0,840   | 0,589   | 1,923   | 1,455   | 2,225     | 1,780     | 3,850        | 2,702        | 0,883  | 0,327  | 0,291 | 0,464 | 0,935   | 0,931   |
| arit. průměr        | 0,570   | 0,370   | 0,998   | 0,692   | 1,478     | 1,006     | 1,750        | 1,144        | 0,624  | 0,225  | 0,228 | 0,205 | 0,811   | 0,777   |
| SD                  | 0,173   | 0,112   | 0,702   | 0,372   | 0,339     | 0,358     | 1,312        | 0,786        | 0,190  | 0,079  | 0,059 | 0,097 | 0,112   | 0,103   |
| medián              | 0,608   | 0,391   | 1,142   | 0,620   | 1,306     | 0,990     | 1,518        | 0,901        | 0,556  | 0,241  | 0,238 | 0,175 | 0,825   | 0,777   |
| 25% percentil       | 0,507   | 0,275   | 0,292   | 0,405   | 1,280     | 0,772     | 0,792        | 0,694        | 0,465  | 0,187  | 0,209 | 0,148 | 0,760   | 0,720   |
| 75% percentil       | 0,624   | 0,429   | 1,529   | 0,894   | 1,553     | 1,181     | 2,474        | 1,698        | 0,808  | 0,283  | 0,273 | 0,218 | 0,884   | 0,850   |
| normalita rozdělení | ano     | ano     | ano     | ano     | ne        | ano       | ano          | ano          | ano    | ano    | ano   | ne    | ano     | ano     |

Zdroj: Vlastní zpracování

Na obrázku 27 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení DGLA v hodnocených tkáních u jednotlivých skupin i dohromady. Průměrná hladina DGLA ve tkáních byla stanovena přibližně na hodnotu 0,7 %. Zmíněný graf zobrazuje poměrně vyrovnané hladiny DGLA mezi oběma skupinami v tukové a mozkové tkáni. Pravidelně vyšší hladiny u skupiny A jsou naopak zřetelné ve všech ostatních tkáních. Podobné rozložení v jednotlivých tkáních bylo zaznamenáno už v případě GLA, jak je patrné z příslušného grafu. Nejvyšší hodnota DGLA byla zaznamenána v případě nadledvin, nejnižší potom v případě tuku.



**Obrázek 27 Kyselina dihomο-γ-linolenová – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních**

Zdroj: Vlastní zpracování

V případě DGLA byly prokázány celkem tři statisticky významné rozdíly v jejím zastoupení u jednotlivých skupin. Ve všech případech se jedná o vyšší hladiny DGLA u skupiny A ve srovnání se skupinou B. Zmíněné rozdíly se týkají srdce, ledvin a svalů. Zhodnocení výsledků je shrnuto v tabulce 28.

**Tabulka 28 Kyselina dihomο-γ-linolenová – statisticky významné rozdíly**

| Kyselina dihomο-γ-linolenová |       |         |            |       |       |       |
|------------------------------|-------|---------|------------|-------|-------|-------|
| Srdce                        | Játra | Ledviny | Nadledviny | Sval  | Tuk   | Mozek |
| A > B                        | A = B | A > B   | A = B      | A > B | A = B | A = B |

Zdroj: Vlastní zpracování

#### 4.1.11 Kyselina arachidonová

Deskriptivní statistika výsledných hodnot AA je zaznamenána v tabulce 29.

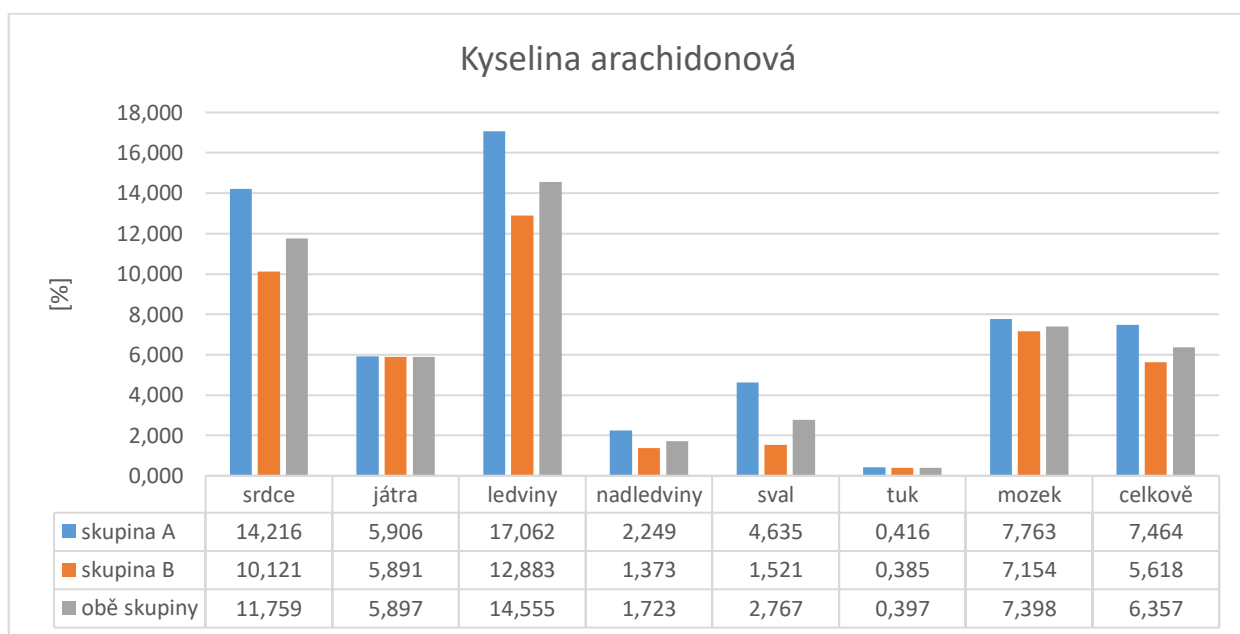
**Tabulka 29 Kyselina arachidonová – deskriptivní statistika**

| AA           | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | sval A | sval B | tuk A | tuk B | mozek A | mozek B |
|--------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|-------|-------|---------|---------|
| počet hodnot | 8       | 12      | 8       | 12      | 8         | 12        | 8            | 12           | 8      | 12     | 8     | 12    | 8       | 12      |
| min.         | 3,314   | 4,178   | 0,842   | 1,775   | 14,053    | 3,822     | 0,349        | 0,323        | 2,850  | 0,782  | 0,242 | 0,164 | 6,817   | 4,867   |
| max.         | 19,504  | 19,661  | 12,887  | 10,403  | 20,525    | 18,400    | 5,147        | 2,949        | 9,067  | 3,828  | 0,588 | 0,692 | 8,592   | 9,120   |
| arit. průměr | 14,216  | 10,121  | 5,906   | 5,891   | 17,062    | 12,883    | 2,249        | 1,373        | 4,635  | 1,521  | 0,416 | 0,385 | 7,763   | 7,154   |
| SD           | 5,196   | 5,554   | 4,805   | 2,790   | 2,210     | 4,273     | 1,734        | 0,843        | 2,035  | 0,882  | 0,135 | 0,168 | 0,793   | 1,081   |
| medián       | 15,069  | 9,022   | 3,904   | 5,261   | 17,608    | 12,827    | 1,714        | 1,005        | 4,277  | 1,309  | 0,392 | 0,341 | 7,843   | 7,234   |

| AA                  | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | sval A | sval B | tuk A | tuk B | mozek A | mozek B |
|---------------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|-------|-------|---------|---------|
| 25% percentil       | 12,454  | 4,458   | 2,216   | 4,398   | 15,417    | 10,850    | 1,096        | 0,834        | 3,261  | 1,078  | 0,337 | 0,283 | 7,028   | 6,759   |
| 75% percentil       | 17,524  | 13,344  | 10,671  | 8,334   | 18,212    | 16,435    | 2,910        | 1,763        | 5,062  | 1,444  | 0,537 | 0,467 | 8,522   | 7,523   |
| normalita rozdělení | ano     | ano     | ano     | ano     | ano       | ano       | ano          | ano          | ne     | ne     | ano   | ano   | ano     | ano     |

Zdroj: Vlastní zpracování

Na obrázku 28 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení AA v hodnocených tkáních u jednotlivých skupin i dohromady. Průměrná hladina AA ve tkáních byla stanovena přibližně na hodnotu 6,4 %. Zatímco v srdeční a ledvinové tkáni se AA vyskytovala ve vysokém množství, podstatně nižší byly její hodnoty ve svalu, v nadledvinách, a především v tuku. U tkání byly patrné buď vyrovnané hladiny AA nebo případně vyšší hodnoty u skupiny A.



**Obrázek 28 Kyselina arachidonová – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních**

Zdroj: Vlastní zpracování

V případě AA byly zjištěny dva statisticky významné rozdíly v jejím zastoupení u jednotlivých skupin. Hladiny AA byly zvýšeny v ledvinách a ve svalu u jedinců ze skupiny A. Zhodnocení výsledků je shrnuto v tabulce 30.

**Tabulka 30 Kyselina arachidonová – statisticky významné rozdíly**

| Kyselina arachidonová |              |                 |              |                 |              |              |
|-----------------------|--------------|-----------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|
| Srdce                 | Játra        | Ledviny         | Nadledviny   | Sval            | Tuk          | Mozek        |
| <b>A = B</b>          | <b>A = B</b> | <b>A &gt; B</b> | <b>A = B</b> | <b>A &gt; B</b> | <b>A = B</b> | <b>A = B</b> |

Zdroj: Vlastní zpracování

#### 4.1.12 Kyselina eikosapentaenová

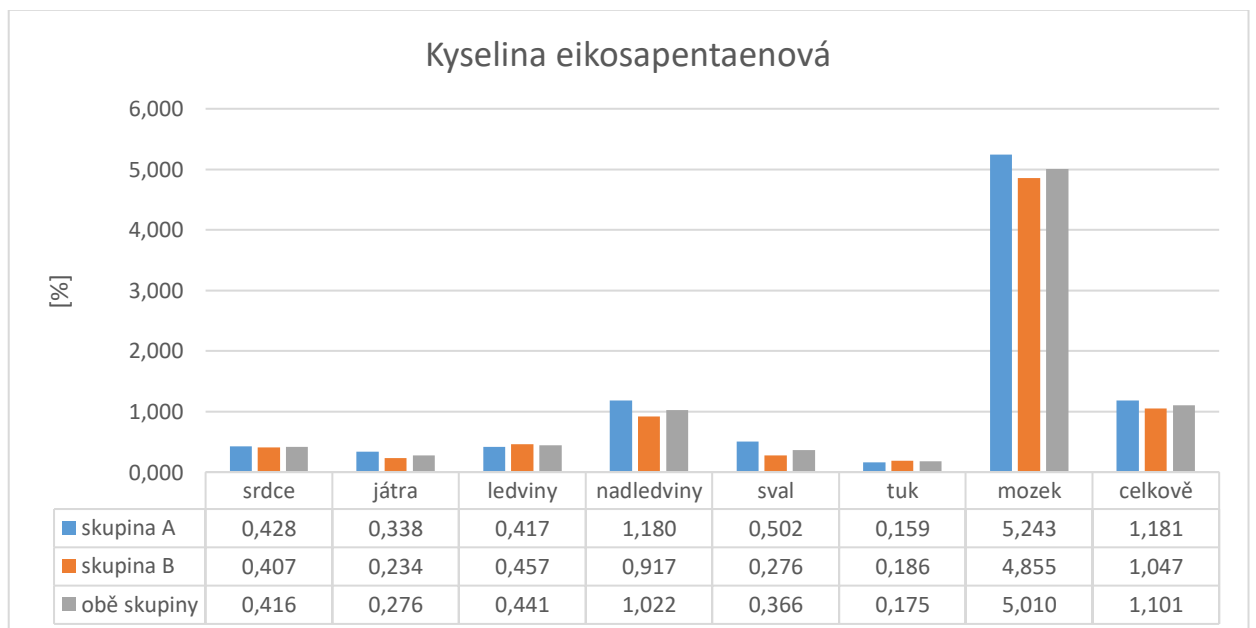
Deskriptivní statistika výsledných hodnot EPA je zaznamenána v tabulce 31.

**Tabulka 31 Kyselina eikosapentaenová – deskriptivní statistika**

| EPA                 | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | svál A | svál B | tuk A | tuk B | mozek A | mozek B |
|---------------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|-------|-------|---------|---------|
| počet hodnot        | 8       | 12      | 8       | 12      | 8         | 12        | 8            | 12           | 8      | 12     | 8     | 12    | 8       | 12      |
| min.                | 0,221   | 0,174   | 0,064   | 0,078   | 0,313     | 0,184     | 0,145        | 0,180        | 0,362  | 0,160  | 0,092 | 0,068 | 4,527   | 3,929   |
| max.                | 0,651   | 0,710   | 1,033   | 0,396   | 0,596     | 0,663     | 2,911        | 1,995        | 0,621  | 0,417  | 0,226 | 0,354 | 6,370   | 5,563   |
| arit. průměr        | 0,428   | 0,407   | 0,338   | 0,234   | 0,417     | 0,457     | 1,180        | 0,917        | 0,502  | 0,276  | 0,159 | 0,186 | 5,243   | 4,855   |
| SD                  | 0,131   | 0,154   | 0,314   | 0,088   | 0,095     | 0,148     | 1,019        | 0,630        | 0,075  | 0,078  | 0,048 | 0,093 | 0,531   | 0,511   |
| medián              | 0,421   | 0,375   | 0,283   | 0,244   | 0,392     | 0,439     | 0,837        | 0,625        | 0,500  | 0,271  | 0,168 | 0,180 | 5,114   | 4,808   |
| 25% percentil       | 0,352   | 0,332   | 0,129   | 0,176   | 0,352     | 0,381     | 0,538        | 0,438        | 0,482  | 0,228  | 0,129 | 0,103 | 5,028   | 4,496   |
| 75% percentil       | 0,489   | 0,487   | 0,389   | 0,275   | 0,451     | 0,577     | 1,433        | 1,538        | 0,525  | 0,335  | 0,183 | 0,220 | 5,354   | 5,245   |
| normalita rozdělení | ano     | ano     | ne      | ano     | ano       | ano       | ano          | ano          | ano    | ano    | ano   | ano   | ne      | ano     |

Zdroj: Vlastní zpracování

Na obrázku 29 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení EPA v hodnocených tkáních u jednotlivých skupin i dohromady. Průměrná hladina EPA ve tkáních byla stanovena přibližně na hodnotu 1,1 %. Dominantní zastoupení EPA bylo prokázáno v mozkové tkáni. V ostatních tkáních se vyskytovala EPA v poměrně vyrovnaných nízkých hladinách, pouze u nadledvin byly patrné vyšší hodnoty. Rozdíly mezi skupinami A a B spíše kolísaly.



**Obrázek 29 Kyselina eikosapentaenová – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních**

Zdroj: Vlastní zpracování



V případě EPA byl prokázán pouze jeden statisticky významný rozdíl v jejím zastoupení u jednotlivých skupin. Ve skupině A vykazovala svalová tkáň vyšší hodnoty EPA než ve skupině B. Zhodnocení výsledků je shrnuto v tabulce 32.

**Tabulka 32 Kyselina eikosapentaenová– statisticky významné rozdíly**

| Kyselina eikosapentaenová |       |         |            |       |       |       |
|---------------------------|-------|---------|------------|-------|-------|-------|
| Srdce                     | Játra | Ledviny | Nadledviny | Sval  | Tuk   | Mozek |
| A = B                     | A = B | A = B   | A = B      | A > B | A = B | A = B |

Zdroj: Vlastní zpracování

#### 4.1.13 Kyselina dokosahexaenová

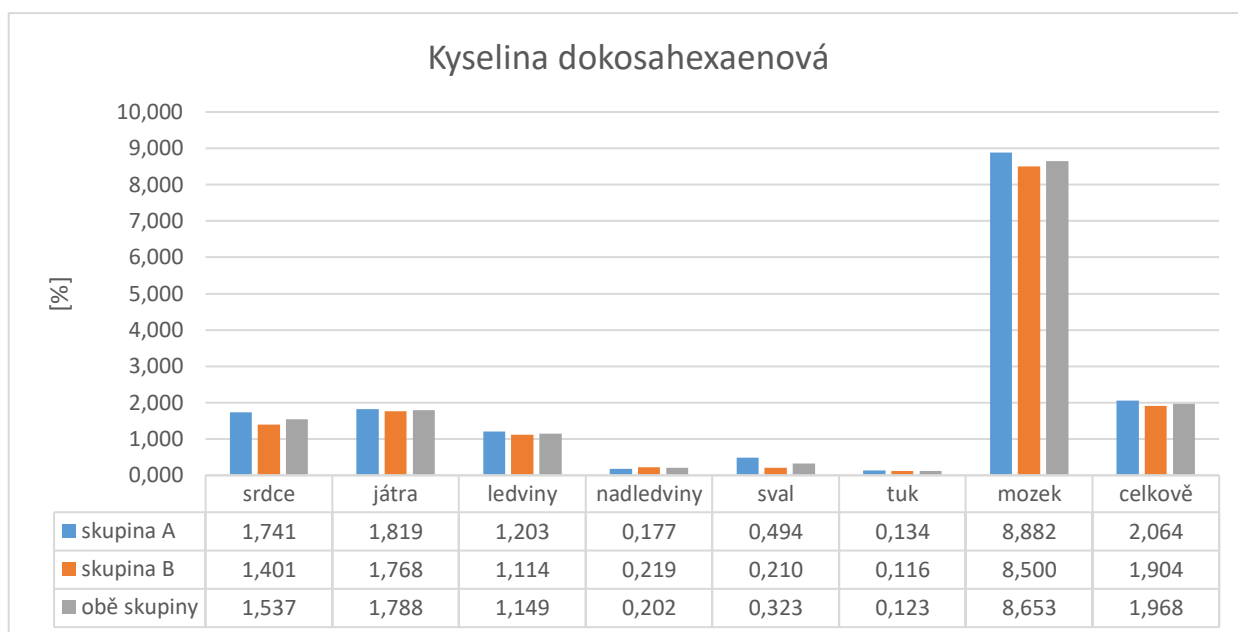
Deskriptivní statistika výsledných hodnot DHA je zaznamenána v tabulce 33.

**Tabulka 33 Kyselina dokosahexaenová– deskriptivní statistika**

| DHA                 | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | sval A | sval B | tuk A | tuk B | mozek A | mozek B |
|---------------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|-------|-------|---------|---------|
| počet hodnot        | 8       | 12      | 8       | 12      | 8         | 12        | 8            | 12           | 8      | 12     | 8     | 12    | 8       | 12      |
| min.                | 0,618   | 0,380   | 0,129   | 0,444   | 0,949     | 0,181     | 0,064        | 0,063        | 0,283  | 0,083  | 0,028 | 0,038 | 7,011   | 5,083   |
| max.                | 2,581   | 2,802   | 4,629   | 3,687   | 1,429     | 1,898     | 0,333        | 0,598        | 1,108  | 0,428  | 0,318 | 0,436 | 10,087  | 11,656  |
| arit. průměr        | 1,741   | 1,401   | 1,819   | 1,768   | 1,203     | 1,114     | 0,177        | 0,219        | 0,494  | 0,210  | 0,134 | 0,116 | 8,882   | 8,500   |
| SD                  | 0,584   | 0,797   | 1,683   | 0,973   | 0,184     | 0,468     | 0,101        | 0,166        | 0,282  | 0,103  | 0,100 | 0,109 | 1,249   | 1,922   |
| medián              | 1,734   | 1,157   | 1,270   | 1,523   | 1,238     | 1,167     | 0,144        | 0,175        | 0,384  | 0,186  | 0,103 | 0,075 | 9,298   | 8,453   |
| 25% percentil       | 1,538   | 0,787   | 0,438   | 1,233   | 1,041     | 0,765     | 0,110        | 0,125        | 0,313  | 0,135  | 0,066 | 0,054 | 7,702   | 7,701   |
| 75% percentil       | 2,088   | 1,848   | 3,083   | 2,217   | 1,343     | 1,322     | 0,226        | 0,244        | 0,540  | 0,252  | 0,179 | 0,140 | 9,971   | 9,487   |
| normalita rozdělení | ano     | ano     | ano     | ano     | ano       | ano       | ano          | ne           | ne     | ano    | ano   | ne    | ano     | ano     |

Zdroj: Vlastní zpracování

Na obrázku 30 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení DHA v hodnocených tkáních u jednotlivých skupin i dohromady. Průměrná hladina DHA ve tkáních byla stanovena přibližně na hodnotu 2,0 %. Podobně jako v případě EPA je také DHA zastoupena především v mozku. Podstatně nižší hladiny DHA pak byly prokázány u srdce, jater a ledvin. Velmi malé množství DHA se pak vyskytuje v nadledvinách, svalu a tuku. S výjimkou nadledvin je potom patrná mírně vyšší hladina DHA vždy u tkání skupiny A.



**Obrázek 30 Kyselina dokosahexaenová – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních**

Zdroj: Vlastní zpracování

V případě DHA byl potvrzen opět jeden statisticky významný rozdíl v jejím zastoupení u jednotlivých skupin. Jedná se podobně jako u EPA o vyšší hodnoty DHA ve svalu u skupiny A. Zhodnocení výsledků je shrnuto v tabulce 34.

**Tabulka 34 Kyselina dokosahexaenová– statisticky významné rozdíly**

| Kyselina dokosahexaenová |       |         |            |       |       |       |
|--------------------------|-------|---------|------------|-------|-------|-------|
| Srdce                    | Játra | Ledviny | Nadledviny | Sval  | Tuk   | Mozek |
| A = B                    | A = B | A = B   | A = B      | A > B | A = B | A = B |

Zdroj: Vlastní zpracování

## 4.2 Výsledky dalších sledovaných parametrů

### 4.2.1 Suma nasycených mastných kyselin

Deskriptivní statistika výsledných hodnot tSFA je zaznamenána v tabulce 35.

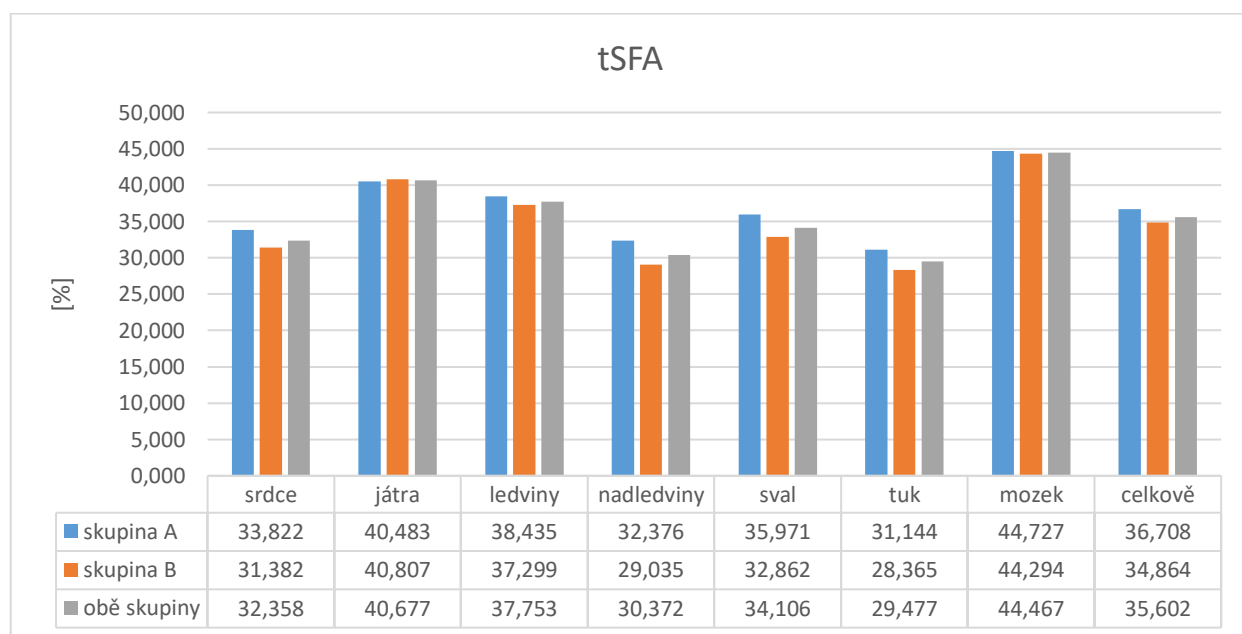
**Tabulka 35 tSFA – deskriptivní statistika**

| tSFA         | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | sval A | sval B | tuk A  | tuk B  | mozek A | mozek B |
|--------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|
| počet hodnot | 8       | 12      | 8       | 12      | 8         | 12        | 8            | 12           | 8      | 12     | 8      | 12     | 8       | 12      |
| min.         | 31,562  | 27,198  | 34,068  | 30,616  | 35,098    | 33,497    | 28,409       | 22,903       | 33,453 | 27,102 | 27,456 | 21,439 | 41,482  | 38,464  |
| max.         | 37,257  | 35,383  | 45,699  | 48,918  | 40,582    | 39,666    | 37,030       | 39,084       | 38,354 | 41,557 | 35,676 | 34,653 | 46,458  | 48,806  |
| arit. průměr | 33,822  | 31,382  | 40,483  | 40,807  | 38,435    | 37,299    | 32,376       | 29,035       | 35,971 | 32,862 | 31,144 | 28,365 | 44,727  | 44,294  |
| SD           | 2,334   | 2,441   | 3,796   | 5,164   | 1,696     | 2,037     | 2,846        | 4,549        | 1,733  | 4,113  | 3,157  | 4,311  | 1,818   | 2,921   |
| medián       | 33,097  | 31,066  | 40,020  | 41,408  | 38,567    | 37,572    | 33,119       | 28,662       | 36,443 | 32,377 | 30,340 | 27,984 | 45,039  | 44,902  |

| tSFA                | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | sval A | sval B | tuk A  | tuk B  | mozek A | mozek B |
|---------------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|
| 25% percentil       | 31,878  | 29,723  | 38,856  | 37,315  | 37,758    | 36,657    | 30,165       | 25,428       | 35,050 | 30,286 | 28,951 | 25,039 | 43,867  | 43,689  |
| 75% percentil       | 35,419  | 33,084  | 42,462  | 43,721  | 39,578    | 38,660    | 33,732       | 31,378       | 36,827 | 35,508 | 34,061 | 30,717 | 46,263  | 45,931  |
| normalita rozdělení | ano     | ano     | ano     | ano     | ano       | ano       | ano          | ano          | ano    | ano    | ano    | ano    | ano     | ano     |

Zdroj: Vlastní zpracování

Na obrázku 31 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení tSFA v hodnocených tkáních u jednotlivých skupin i dohromady. Průměrná hladina tSFA ve tkáních byla stanovena přibližně na hodnotu 35,6 %. Nejvíce SFA bylo celkově zaznamenáno v mozku, ale rozložení v jednotlivých tkáních je poměrně vyrovnané. Mírně nižší hladiny SFA jsou patrné v některých tkáních u skupiny B.



**Obrázek 31 tSFA – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních**

Zdroj: Vlastní zpracování

V případě tSFA byly potvrzeny dva statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými skupinami. Jedná se o vyšší hodnoty tSFA v srdci a ve svalu u skupiny A. Zhodnocení výsledků je shrnuto v tabulce 36.

**Tabulka 36 tSFA – statisticky významné rozdíly**

| tSFA  |       |         |            |       |       |       |
|-------|-------|---------|------------|-------|-------|-------|
| Srdce | Játra | Ledviny | Nadledviny | Sval  | Tuk   | Mozek |
| A > B | A = B | A = B   | A = B      | A > B | A = B | A = B |

Zdroj: Vlastní zpracování

#### 4.2.2 Suma mononenasyčených mastných kyselin

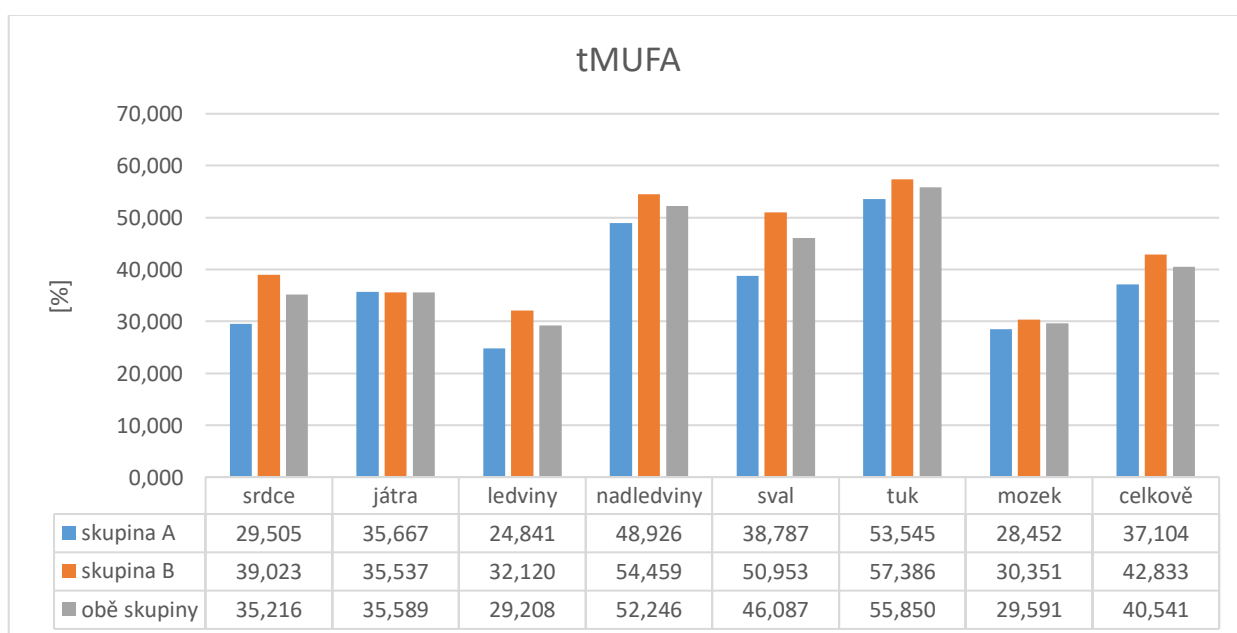
Deskriptivní statistika výsledných hodnot tMUFA je zaznamenána v tabulce 37.

**Tabulka 37 tMUFA – deskriptivní statistika**

| tMUFA               | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | sval A | sval B | tuk A  | tuk B  | mozek A | mozek B |
|---------------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|
| počet hodnot        | 8       | 12      | 8       | 12      | 8         | 12        | 8            | 12           | 8      | 12     | 8      | 12     | 8       | 12      |
| min.                | 21,243  | 19,643  | 23,272  | 21,746  | 21,789    | 22,670    | 44,711       | 49,722       | 25,021 | 42,569 | 49,340 | 51,588 | 25,696  | 24,677  |
| max.                | 50,847  | 49,813  | 49,487  | 52,070  | 31,026    | 45,373    | 51,827       | 60,774       | 45,020 | 57,765 | 59,432 | 63,808 | 31,777  | 37,601  |
| arit. průměr        | 29,505  | 39,023  | 35,667  | 35,537  | 24,841    | 32,120    | 48,926       | 54,459       | 38,787 | 50,953 | 53,545 | 57,386 | 28,452  | 30,351  |
| SD                  | 9,528   | 9,544   | 10,705  | 9,032   | 3,107     | 6,875     | 2,448        | 3,636        | 6,093  | 4,740  | 3,948  | 3,804  | 2,548   | 4,260   |
| medián              | 26,752  | 39,449  | 37,478  | 36,105  | 24,157    | 31,246    | 48,892       | 54,916       | 39,833 | 52,282 | 52,251 | 58,706 | 28,606  | 30,001  |
| 25% percentil       | 23,833  | 35,317  | 24,263  | 29,848  | 22,707    | 27,460    | 47,438       | 51,032       | 37,987 | 47,487 | 50,906 | 54,511 | 25,784  | 28,050  |
| 75% percentil       | 31,809  | 46,855  | 44,231  | 39,219  | 25,335    | 36,347    | 51,102       | 56,943       | 41,854 | 54,686 | 55,873 | 59,836 | 30,371  | 32,095  |
| normalita rozdělení | ne      | ano     | ano     | ano     | ano       | ano       | ano          | ano          | ne     | ano    | ano    | ano    | ano     | ano     |

Zdroj: Vlastní zpracování

Na obrázku 32 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení tMUFA v hodnocených tkáních u jednotlivých skupin i dohromady. Průměrná hladina tMUFA ve tkáních byla stanovena přibližně na hodnotu 40,5 %. Hladiny MUFA jsou ve všech tkáních poměrně vyrovnané. Nejvyšší hodnoty vykazují tuk, nadledviny a sval. Téměř u všech tkání (kromě jater) byly pak zaznamenány alespoň mírně zvýšené hodnoty tMUFA u skupiny B.



**Obrázek 32 tMUFA – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních**

Zdroj: Vlastní zpracování

V případě tMUFA bylo prokázáno hned pět statisticky významných rozdílů mezi jednotlivými skupinami. S výjimkou jater a mozku byly zjištěny u všech tkání významně vyšší hodnoty tMUFA u skupiny B. Zhodnocení výsledků je shrnuto v tabulce 38.

**Tabulka 38 tMUFA – statisticky významné rozdíly**

| tMUFA |       |         |            |       |       |       |
|-------|-------|---------|------------|-------|-------|-------|
| Srdce | Játra | Ledviny | Nadledviny | Sval  | Tuk   | Mozek |
| A < B | A = B | A < B   | A < B      | A < B | A < B | A = B |

Zdroj: Vlastní zpracování

#### 4.2.3 Suma $\omega$ -6 polynenasycených mastných kyselin

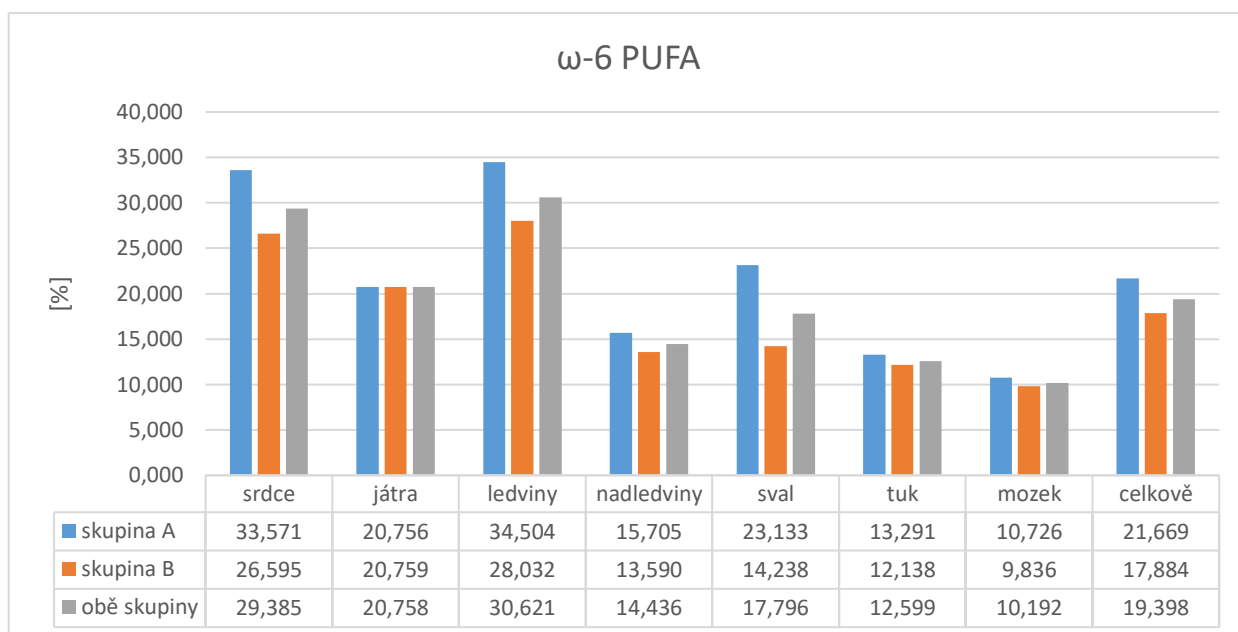
Deskriptivní statistika výsledných hodnot  $\omega$ -6 PUFA je zaznamenána v tabulce 39.

**Tabulka 39  $\omega$ -6 PUFA – deskriptivní statistika**

| $\omega$ -6 PUFA    | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | sval A | sval B | tuk A  | tuk B  | mozek A | mozek B |
|---------------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|
| počet hodnot        | 8       | 12      | 8       | 12      | 8         | 12        | 8            | 12           | 8      | 12     | 8      | 12     | 8       | 12      |
| min.                | 14,619  | 14,787  | 9,559   | 10,173  | 29,127    | 15,421    | 9,678        | 8,578        | 17,044 | 8,849  | 11,155 | 8,286  | 9,229   | 7,564   |
| max.                | 42,821  | 44,543  | 32,970  | 28,812  | 38,174    | 37,262    | 20,004       | 22,582       | 35,095 | 22,501 | 16,733 | 22,189 | 12,294  | 11,479  |
| arit. průměr        | 33,571  | 26,595  | 20,756  | 20,759  | 34,504    | 28,032    | 15,705       | 13,590       | 23,133 | 14,238 | 13,291 | 12,138 | 10,726  | 9,836   |
| SD                  | 8,633   | 8,909   | 10,019  | 5,692   | 2,850     | 5,979     | 3,345        | 3,856        | 5,524  | 3,502  | 2,095  | 3,890  | 0,973   | 1,108   |
| medián              | 34,327  | 27,540  | 18,043  | 22,300  | 35,270    | 28,706    | 16,386       | 12,774       | 21,741 | 13,959 | 12,950 | 11,323 | 10,652  | 9,813   |
| 25% percentil       | 32,580  | 18,428  | 13,022  | 16,284  | 33,564    | 24,896    | 13,642       | 11,631       | 20,655 | 11,949 | 11,441 | 9,462  | 10,154  | 9,327   |
| 75% percentil       | 38,855  | 30,570  | 31,423  | 24,420  | 36,095    | 31,118    | 17,903       | 14,263       | 23,139 | 15,643 | 14,482 | 12,748 | 11,386  | 10,367  |
| normalita rozdělení | ne      | ano     | ano     | ano     | ano       | ano       | ano          | ano          | ne     | ano    | ano    | ne     | ano     | ano     |

Zdroj: Vlastní zpracování

Na obrázku 33 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení  $\omega$ -6 PUFA v hodnocených tkáních u jednotlivých skupin i dohromady. Průměrná hladina  $\omega$ -6 PUFA ve tkáních byla stanovena přibližně na hodnotu 19,4 %. Nejvyšší zastoupení  $\omega$ -6 PUFA bylo zaznamenáno v ledvinách a v srdci. V některých tkání jsou znatelné vyšší hladiny  $\omega$ -6 PUFA u skupiny A.



**Obrázek 33  $\omega$ -6 PUFA – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních**

Zdroj: Vlastní zpracování

V případě  $\omega$ -6 PUFA byly zjištěny dva statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými skupinami. Rozdíly se týkají ledvinové a svalové tkáně vykazující vyšší hodnoty  $\omega$ -6 PUFA u skupiny A. Zhodnocení výsledků je shrnuto v tabulce 40.

**Tabulka 40  $\omega$ -6 PUFA – statisticky významné rozdíly**

| <b><math>\omega</math>-6 PUFA</b> |              |                 |                   |                 |              |              |
|-----------------------------------|--------------|-----------------|-------------------|-----------------|--------------|--------------|
| <i>Srdce</i>                      | <i>Játra</i> | <i>Ledviny</i>  | <i>Nadledviny</i> | <i>Sval</i>     | <i>Tuk</i>   | <i>Mozek</i> |
| <b>A = B</b>                      | <b>A = B</b> | <b>A &gt; B</b> | <b>A = B</b>      | <b>A &gt; B</b> | <b>A = B</b> | <b>A = B</b> |

Zdroj: Vlastní zpracování

#### 4.2.4 Suma $\omega$ -3 polynenasycených mastných kyselin

Deskriptivní statistika výsledných hodnot  $\omega$ -3 PUFA je zaznamenána v tabulce 41.

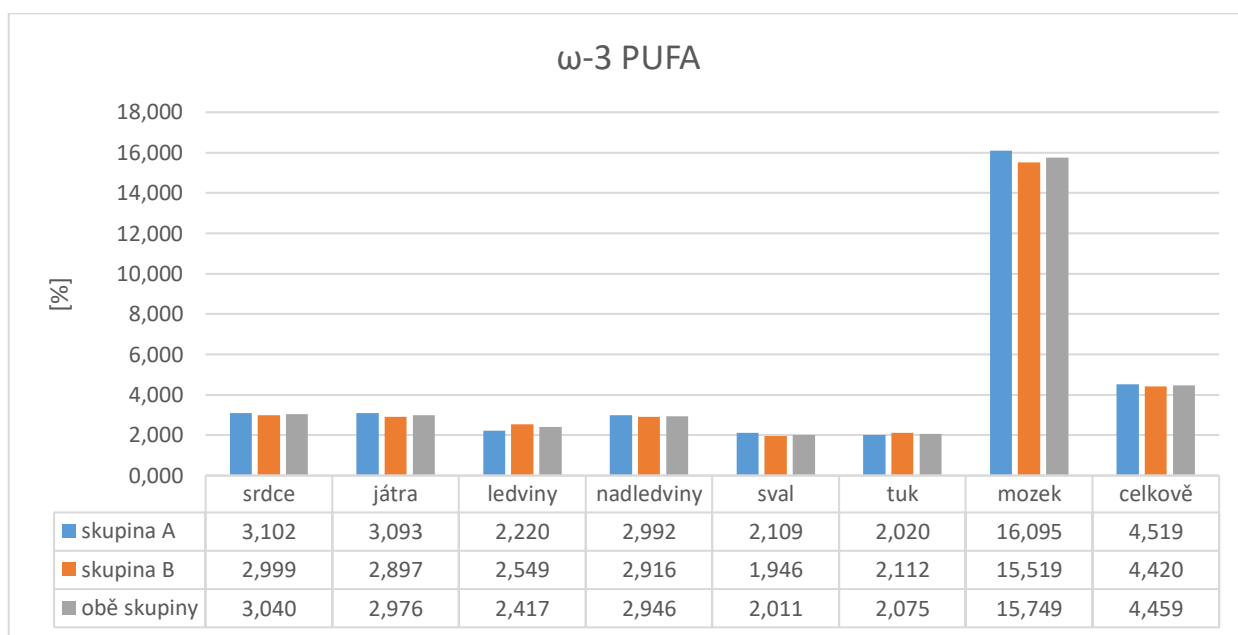
**Tabulka 41  $\omega$ -3 PUFA – deskriptivní statistika**

| <b><math>\omega</math>-3 PUFA</b> | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | sval A | sval B | tuk A | tuk B | mozek A | mozek B |
|-----------------------------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|-------|-------|---------|---------|
| počet hodnot                      | 8       | 12      | 8       | 12      | 8         | 12        | 8            | 12           | 8      | 12     | 8     | 12    | 8       | 12      |
| min.                              | 2,220   | 1,925   | 1,142   | 1,915   | 1,832     | 1,646     | 1,466        | 1,589        | 1,596  | 1,582  | 1,727 | 1,451 | 14,340  | 13,527  |
| max.                              | 3,767   | 4,444   | 5,834   | 4,728   | 2,483     | 3,991     | 4,800        | 4,748        | 2,542  | 2,660  | 2,580 | 2,787 | 17,241  | 17,209  |
| arit. průměr                      | 3,102   | 2,999   | 3,093   | 2,897   | 2,220     | 2,549     | 2,992        | 2,916        | 2,109  | 1,946  | 2,020 | 2,112 | 16,095  | 15,519  |
| SD                                | 0,486   | 0,713   | 1,611   | 0,993   | 0,212     | 0,613     | 1,190        | 1,036        | 0,282  | 0,332  | 0,293 | 0,385 | 0,966   | 1,197   |
| medián                            | 3,123   | 2,875   | 2,786   | 2,627   | 2,175     | 2,426     | 2,673        | 2,500        | 2,075  | 1,849  | 1,922 | 2,064 | 16,224  | 15,833  |
| 25% percentil                     | 2,952   | 2,545   | 1,814   | 2,112   | 2,147     | 2,241     | 2,457        | 2,199        | 2,022  | 1,743  | 1,842 | 1,872 | 15,616  | 14,338  |

| $\omega$ -3 PUFA    | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | sval A | sval B | tuk A | tuk B | mozek A | mozek B |
|---------------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|-------|-------|---------|---------|
| 75% percentil       | 3,376   | 3,230   | 4,259   | 3,304   | 2,396     | 2,708     | 3,302        | 3,627        | 2,235  | 2,027  | 2,085 | 2,385 | 16,650  | 16,218  |
| normalita rozdělení | ano     | ano     | ano     | ano     | ano       | ano       | ano          | ano          | ano    | ano    | ano   | ano   | ano     | ano     |

Zdroj: Vlastní zpracování

Na obrázku 34 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení  $\omega$ -3 PUFA v hodnocených tkáních u jednotlivých skupin i dohromady. Průměrná hladina  $\omega$ -3 PUFA ve tkáních byla stanovena přibližně na hodnotu 4,5 %. Dominantní výskyt  $\omega$ -3 PUFA byl prokázán v mozkové tkáni. V ostatních tkáních jsou pak hladiny  $\omega$ -3 PUFA nízké a poměrně vyrovnané. Výraznější rozdíly mezi skupinami A a B nejsou z grafu patrné.



**Obrázek 34  $\omega$ -3 PUFA – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních**

Zdroj: Vlastní zpracování

V případě  $\omega$ -3 PUFA nebyl prokázán žádný statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými skupinami. Zhodnocení výsledků je shrnuto v tabulce 42.

**Tabulka 42  $\omega$ -3 PUFA – statisticky významné rozdíly**

| $\omega$ -3 PUFA |       |         |            |       |       |       |
|------------------|-------|---------|------------|-------|-------|-------|
| Srdce            | Játra | Ledviny | Nadledviny | Sval  | Tuk   | Mozek |
| A = B            | A = B | A = B   | A = B      | A = B | A = B | A = B |

Zdroj: Vlastní zpracování

#### 4.2.5 Poměr kyseliny olejové a kyseliny stearové

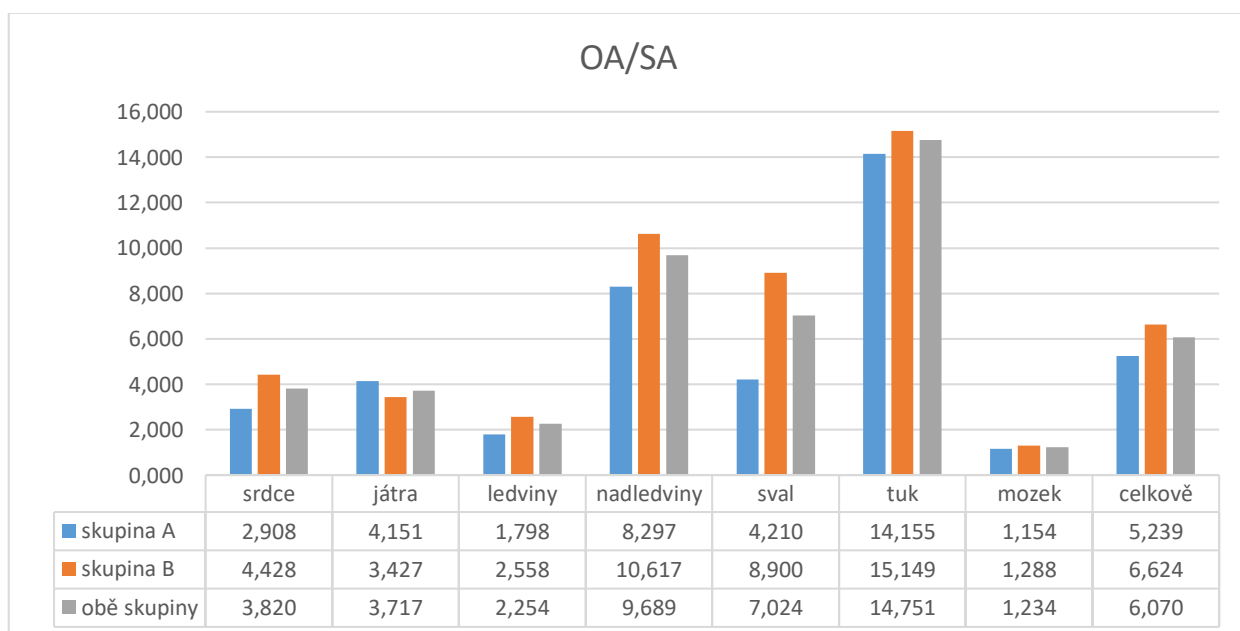
Deskriptivní statistika výsledných hodnot OA/SA je zaznamenána v tabulce 43.

**Tabulka 43 OA/SA – deskriptivní statistika**

| OA/SA               | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | sval A | sval B | tuk A  | tuk B  | mozek A | mozek B |
|---------------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|
| počet hodnot        | 8       | 12      | 8       | 12      | 8         | 12        | 8            | 12           | 8      | 12     | 8      | 12     | 8       | 12      |
| min.                | 1,483   | 1,338   | 1,517   | 1,374   | 1,452     | 1,424     | 6,048        | 6,601        | 1,854  | 5,433  | 10,047 | 7,723  | 0,988   | 0,988   |
| max.                | 8,573   | 8,081   | 6,930   | 7,141   | 2,727     | 5,695     | 11,728       | 16,407       | 5,749  | 16,074 | 21,153 | 26,366 | 1,366   | 1,696   |
| arit. průměr        | 2,908   | 4,428   | 4,151   | 3,427   | 1,798     | 2,558     | 8,297        | 10,617       | 4,210  | 8,900  | 14,155 | 15,149 | 1,154   | 1,288   |
| SD                  | 2,348   | 2,030   | 2,363   | 1,756   | 0,416     | 1,189     | 1,688        | 2,871        | 1,154  | 3,257  | 4,472  | 6,023  | 0,146   | 0,238   |
| medián              | 2,004   | 4,263   | 4,234   | 3,088   | 1,671     | 2,228     | 8,078        | 9,949        | 4,327  | 7,845  | 11,932 | 13,422 | 1,153   | 1,256   |
| 25% percentil       | 1,744   | 3,202   | 1,716   | 2,186   | 1,557     | 1,714     | 7,526        | 9,278        | 3,847  | 6,665  | 11,518 | 11,407 | 1,021   | 1,124   |
| 75% percentil       | 2,815   | 5,735   | 6,277   | 4,353   | 1,794     | 2,865     | 8,789        | 12,227       | 4,821  | 11,275 | 15,979 | 17,164 | 1,252   | 1,432   |
| normalita rozdělení | ne      | ano     | ano     | ano     | ne        | ne        | ano          | ano          | ano    | ano    | ano    | ano    | ano     | ano     |

Zdroj: Vlastní zpracování

Na obrázku 35 jsou znázorněny průměrné hodnoty OA/SA v hodnocených tkáních u jednotlivých skupin i celkově. Průměrná hodnota OA/SA ve tkáních byla stanovena přibližně na 6,1. Nejvyšší hodnotu OA/SA vykazuje tuková tkáň, naopak nejnižší tkáň mozková. Téměř u všech tkání (s výjimkou jater) jsou pak zřetelné alespoň mírně vyšší hodnoty OA/SA ve skupině B.



**Obrázek 35 OA/SA – průměrné hodnoty ve tkáních**

Zdroj: Vlastní zpracování



V případě OA/SA byl potvrzen jeden statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými skupinami. Jedná se o vyšší hodnotu OA/SA ve svalu u jedinců ze skupiny B. Toto zjištění koresponduje s předchozí statisticky významně vyšší hladinou SA u skupiny A a vyšší hladinou OA naopak o skupiny B. Zhodnocení výsledků je shrnuto v tabulce 44.

**Tabulka 44 OA/SA– statisticky významné rozdíly**

| OA/SA |       |         |            |       |       |       |
|-------|-------|---------|------------|-------|-------|-------|
| Srdce | Játra | Ledviny | Nadledviny | Sval  | Tuk   | Mozek |
| A = B | A = B | A = B   | A = B      | A < B | A = B | A = B |

Zdroj: Vlastní zpracování

#### 4.2.6 Poměr kyseliny arachidonové a kyseliny dihomo- $\gamma$ -linolenové

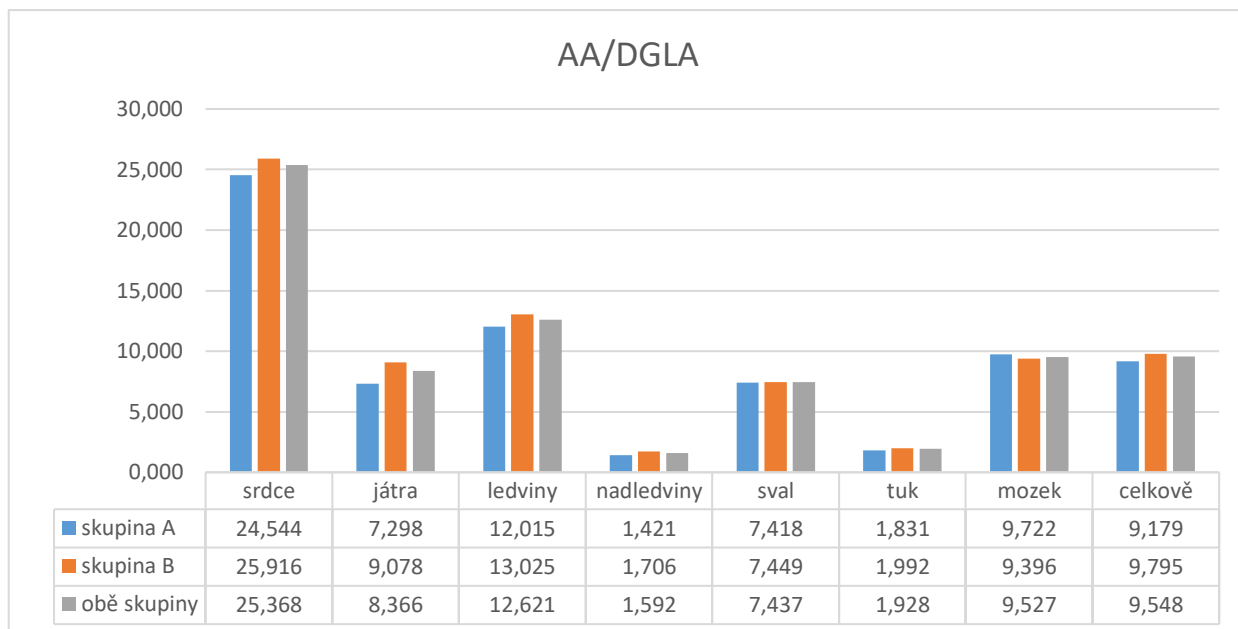
Deskriptivní statistika výsledných hodnot AA/DGLA je zaznamenána v tabulce 45.

**Tabulka 45 AA/DGLA – deskriptivní statistika**

| AA/DGLA             | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | sval A | sval B | tuk A | tuk B | mozek A | mozek B |
|---------------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|-------|-------|---------|---------|
| počet hodnot        | 8       | 12      | 8       | 12      | 8         | 12        | 8            | 12           | 8      | 12     | 8     | 12    | 8       | 12      |
| min.                | 14,302  | 15,851  | 1,182   | 4,434   | 7,088     | 7,308     | 0,949        | 0,856        | 5,456  | 3,767  | 1,331 | 0,929 | 7,876   | 5,391   |
| max.                | 33,249  | 45,664  | 17,402  | 15,108  | 16,597    | 16,339    | 2,282        | 6,772        | 11,469 | 18,877 | 2,203 | 3,198 | 13,350  | 12,010  |
| arit. průměr        | 24,544  | 25,916  | 7,298   | 9,078   | 12,015    | 13,025    | 1,421        | 1,706        | 7,418  | 7,449  | 1,831 | 1,992 | 9,722   | 9,396   |
| SD                  | 6,701   | 9,047   | 4,706   | 3,227   | 2,905     | 2,957     | 0,428        | 1,639        | 2,051  | 4,392  | 0,339 | 0,749 | 1,628   | 1,957   |
| medián              | 24,128  | 25,999  | 6,356   | 8,109   | 11,142    | 14,185    | 1,355        | 1,224        | 6,541  | 5,743  | 1,904 | 1,893 | 9,403   | 9,315   |
| 25% percentil       | 19,694  | 17,933  | 5,266   | 7,024   | 10,884    | 10,725    | 1,151        | 0,930        | 6,050  | 4,898  | 1,529 | 1,525 | 8,983   | 8,485   |
| 75% percentil       | 29,953  | 31,459  | 8,452   | 10,264  | 14,139    | 15,363    | 1,491        | 1,684        | 8,417  | 7,181  | 2,124 | 2,397 | 9,980   | 10,909  |
| normalita rozdělení | ano     | ano     | ne      | ano     | ano       | ano       | ano          | ne           | ano    | ne     | ano   | ano   | ne      | ano     |

Zdroj: Vlastní zpracování

Na obrázku 36 jsou znázorněny průměrné hodnoty AA/DGLA v hodnocených tkáních u jednotlivých skupin i celkově. Průměrná hodnota AA/DGLA ve tkáních byla stanovena přibližně na 9,5. V srdeční tkáni byla zaznamenána nejvyšší hodnota AA/DGLA. Nadledviny a tuk vykazovaly naopak nejnižší hodnoty. Mezi oběma skupinami nebyl příliš patrný rozdíl.



**Obrázek 36 AA/DGLA – průměrné hodnoty ve tkáních**

Zdroj: Vlastní zpracování

V případě AA/DGLA nebyl zjištěn žádný statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými skupinami. Zhodnocení výsledků je shrnuto v tabulce 46.

**Tabulka 46 AA/DGLA – statisticky významné rozdíly**

| AA/DGLA |       |         |            |       |       |       |
|---------|-------|---------|------------|-------|-------|-------|
| Srdce   | Játra | Ledviny | Nadledviny | Sval  | Tuk   | Mozek |
| A = B   | A = B | A = B   | A = B      | A = B | A = B | A = B |

Zdroj: Vlastní zpracování

#### 4.2.7 Poměr kyseliny linolové a kyseliny $\alpha$ -linolenové

Deskriptivní statistika výsledných hodnot LA/ALA je zaznamenána v tabulce 47.

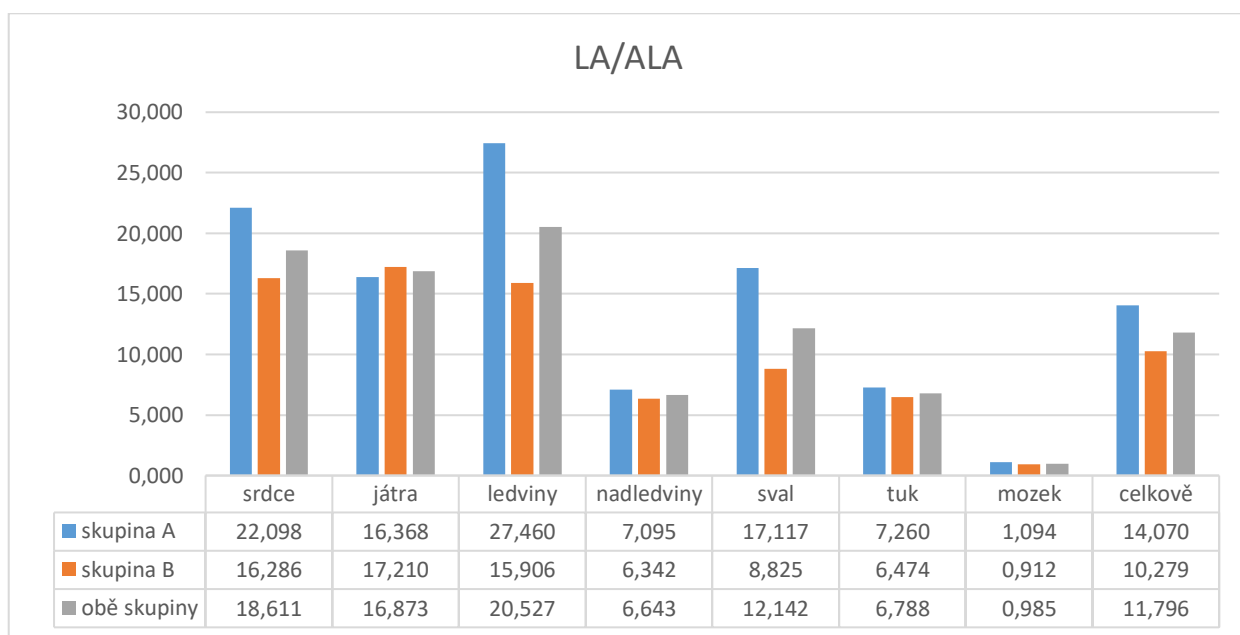
**Tabulka 47 LA/ALA – deskriptivní statistika**

| LA/ALA        | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | sval A | sval B | tuk A | tuk B  | mozek A | mozek B |
|---------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|-------|--------|---------|---------|
| počet hodnot  | 8       | 12      | 8       | 12      | 8         | 12        | 8            | 12           | 8      | 12     | 8     | 12     | 8       | 12      |
| min.          | 7,969   | 6,213   | 6,725   | 6,774   | 16,557    | 8,614     | 6,034        | 3,856        | 10,824 | 5,129  | 6,955 | 3,812  | 0,436   | 0,288   |
| max.          | 32,286  | 44,681  | 34,582  | 29,996  | 36,492    | 29,825    | 8,710        | 10,098       | 27,211 | 14,798 | 8,021 | 12,044 | 2,160   | 1,603   |
| arit. průměr  | 22,098  | 16,286  | 16,368  | 17,210  | 27,460    | 15,906    | 7,095        | 6,342        | 17,117 | 8,825  | 7,260 | 6,474  | 1,094   | 0,912   |
| SD            | 8,155   | 10,929  | 9,398   | 6,973   | 7,108     | 6,838     | 0,801        | 1,932        | 6,312  | 2,835  | 0,335 | 2,391  | 0,560   | 0,419   |
| medián        | 22,939  | 14,496  | 12,278  | 14,771  | 28,537    | 14,438    | 7,104        | 6,350        | 16,110 | 7,880  | 7,206 | 6,435  | 1,149   | 0,887   |
| 25% percentil | 17,303  | 9,306   | 10,123  | 13,386  | 23,310    | 9,741     | 6,608        | 4,694        | 12,233 | 7,318  | 7,070 | 4,604  | 0,668   | 0,605   |

| LA/ALA              | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | sval A | sval B | tuk A | tuk B | mozek A | mozek B |
|---------------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|-------|-------|---------|---------|
| 75% percentil       | 27,816  | 16,015  | 22,182  | 22,011  | 32,836    | 19,260    | 7,308        | 7,316        | 19,006 | 10,256 | 7,269 | 6,729 | 1,320   | 1,213   |
| normalita rozdělení | ano     | ne      | ano     | ano     | ano       | ano       | ano          | ano          | ano    | ano    | ne    | ne    | ano     | ano     |

Zdroj: Vlastní zpracování

Na obrázku 37 jsou znázorněny průměrné hodnoty LA/ALA v hodnocených tkáních u jednotlivých skupin i celkově. Průměrná hodnota LA/ALA ve tkáních byla stanovena přibližně na 11,8. Výrazně nižší hodnoty LA/ALA jsou oproti ostatním tkáním prokázány v mozku. Nejvyšší hodnoty byly zaznamenány v ledvinách, srdci a játrech. Mezi skupinami pak převládají vyšší hodnoty LA/ALA v případě skupiny A.



**Obrázek 37 LA/ALA – průměrné hodnoty ve tkáních**

Zdroj: Vlastní zpracování

V případě LA/ALA byly zaznamenány tři statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými skupinami. Vyšší hodnoty LA/ALA byly prokázány ve skupině A. Rozdíly se týkají ledvinové, svalové a tukové tkáně. Zhodnocení výsledků je shrnuto v tabulce 48.

**Tabulka 48 LA/ALA – statisticky významné rozdíly**

| LA/ALA |       |         |            |       |       |       |
|--------|-------|---------|------------|-------|-------|-------|
| Srdce  | Játra | Ledviny | Nadledviny | Sval  | Tuk   | Mozek |
| A = B  | A = B | A > B   | A = B      | A > B | A > B | A = B |

Zdroj: Vlastní zpracování

#### 4.2.8 Poměr kyseliny arachidonové a kyseliny eikosapentaenové

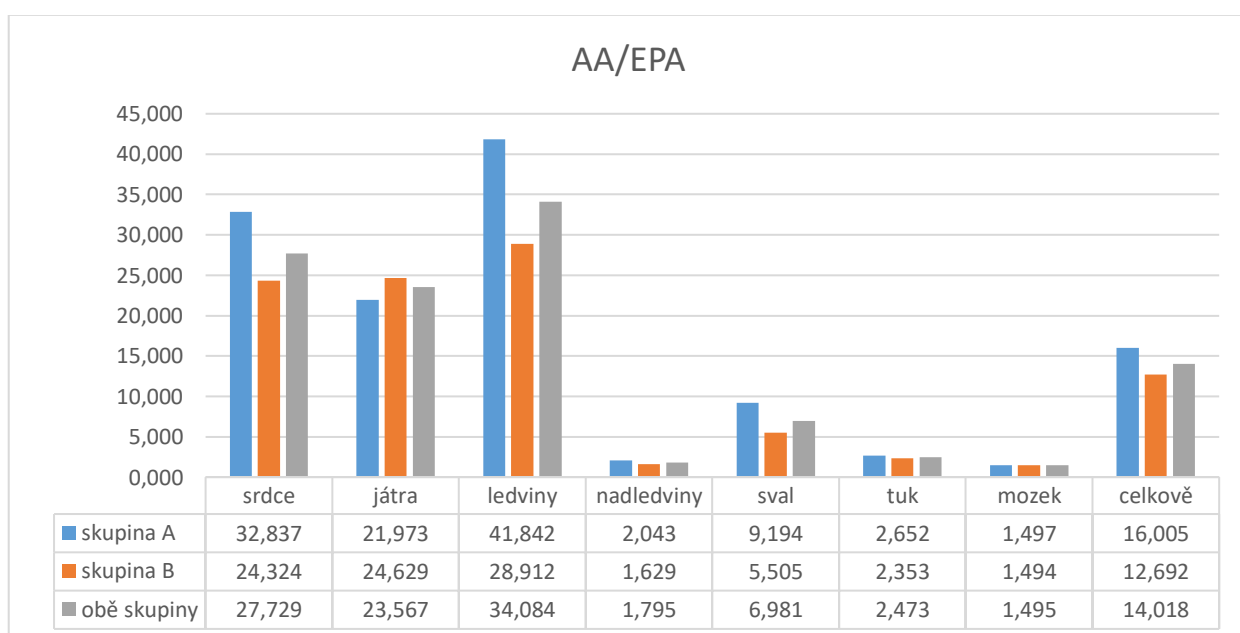
Deskriptivní statistika výsledných hodnot AA/EPA je zaznamenána v tabulce 49.

**Tabulka 49 AA/EPA – deskriptivní statistika**

| AA/EPA              | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | sval A | sval B | tuk A | tuk B | mozek A | mozek B |
|---------------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|-------|-------|---------|---------|
| počet hodnot        | 8       | 12      | 8       | 12      | 8         | 12        | 8            | 12           | 8      | 12     | 8     | 12    | 8       | 12      |
| min.                | 14,970  | 11,614  | 2,202   | 16,308  | 34,466    | 17,767    | 1,594        | 1,043        | 6,055  | 3,095  | 1,915 | 1,113 | 1,173   | 0,875   |
| max.                | 50,183  | 43,751  | 35,154  | 34,115  | 51,405    | 42,795    | 2,402        | 2,606        | 17,735 | 11,164 | 3,415 | 5,457 | 1,896   | 2,025   |
| arit. průměr        | 32,837  | 24,324  | 21,973  | 24,629  | 41,842    | 28,912    | 2,043        | 1,629        | 9,194  | 5,505  | 2,652 | 2,353 | 1,497   | 1,494   |
| SD                  | 10,154  | 8,672   | 11,492  | 5,653   | 5,568     | 8,357     | 0,309        | 0,393        | 3,755  | 2,378  | 0,518 | 1,183 | 0,243   | 0,289   |
| medián              | 32,479  | 24,938  | 24,574  | 23,769  | 41,671    | 28,891    | 2,128        | 1,622        | 7,960  | 5,037  | 2,558 | 2,013 | 1,476   | 1,548   |
| 25% percentil       | 29,126  | 18,351  | 13,613  | 20,661  | 38,561    | 20,698    | 1,760        | 1,336        | 7,211  | 4,084  | 2,327 | 1,626 | 1,338   | 1,412   |
| 75% percentil       | 36,376  | 26,286  | 30,133  | 29,338  | 44,999    | 34,390    | 2,286        | 1,794        | 9,163  | 5,569  | 2,913 | 2,819 | 1,664   | 1,622   |
| normalita rozdělení | ano     | ano     | ano     | ano     | ano       | ano       | ano          | ne           | ne     | ne     | ano   | ne    | ano     | ano     |

Zdroj: Vlastní zpracování

Na obrázku 38 jsou znázorněny průměrné hodnoty AA/EPA v hodnocených tkáních u jednotlivých skupin i celkově. Průměrná hodnota AA/EPA ve tkáních byla stanovena přibližně na 14,0. Vysoké hodnoty AA/EPA vykazují především ledviny, srdce a játra. Ve všech ostatních tkáních byly zaznamenány až velmi nízké hodnoty. Z grafu je patrný výskyt vyšších hodnot AA/EPA spíše u skupiny A.



**Obrázek 38 AA/EPA – průměrné hodnoty ve tkáních**

Zdroj: Vlastní zpracování

V případě AA/EPA byly potvrzeny tři statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými skupinami. Vyšší hodnoty AA/EPA vykazují ledviny, nadledviny a sval u jedinců ze skupiny A. Zhodnocení výsledků je shrnuto v tabulce 50.

**Tabulka 50 AA/EPA – statisticky významné rozdíly**

| AA/EPA |       |         |            |       |       |       |
|--------|-------|---------|------------|-------|-------|-------|
| Srdce  | Játra | Ledviny | Nadledviny | Sval  | Tuk   | Mozek |
| A = B  | A = B | A > B   | A > B      | A > B | A = B | A = B |

Zdroj: Vlastní zpracování

#### 4.2.9 Poměr $\omega$ -6 a $\omega$ -3 polynenasycených mastných kyselin

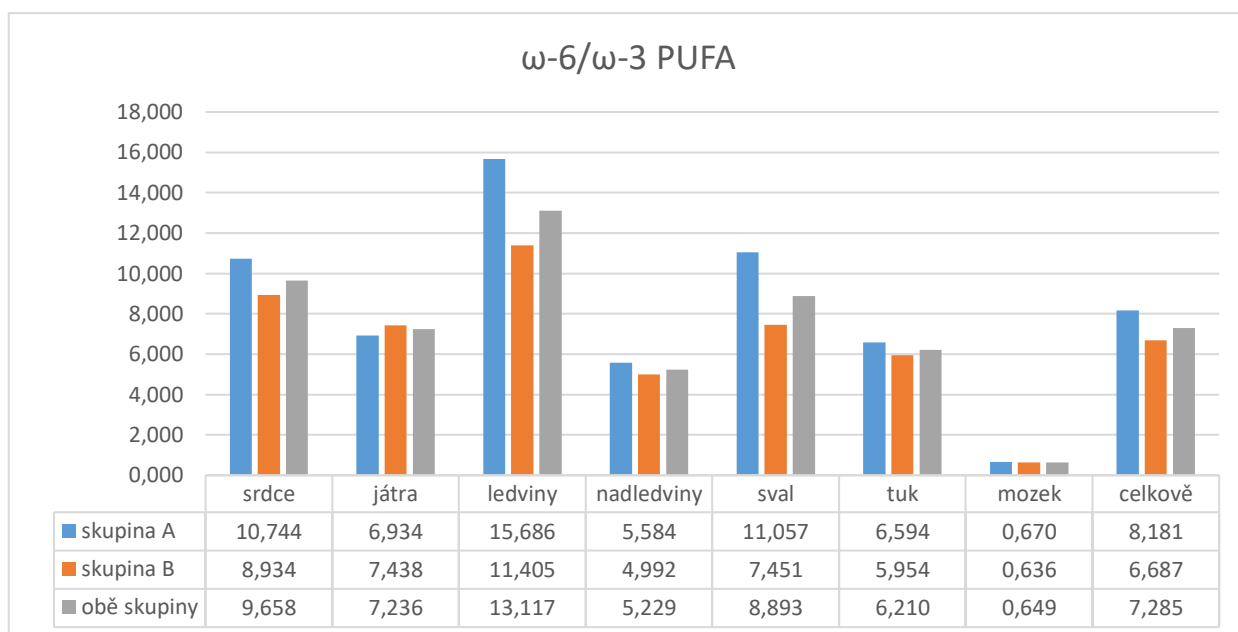
Deskriptivní statistika výsledných hodnot  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 PUFA je zaznamenána v tabulce 51.

**Tabulka 51  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 PUFA – deskriptivní statistika**

| $\omega$ -6/ $\omega$ -3 PUFA | srdce A | srdce B | játra A | játra B | ledviny A | ledviny B | nadledviny A | nadledviny B | sval A | sval B | tuk A | tuk B  | mozek A | mozek B |
|-------------------------------|---------|---------|---------|---------|-----------|-----------|--------------|--------------|--------|--------|-------|--------|---------|---------|
| počet hodnot                  | 8       | 12      | 8       | 12      | 8         | 12        | 8            | 12           | 8      | 12     | 8     | 12     | 8       | 12      |
| min.                          | 6,585   | 5,552   | 5,394   | 5,027   | 11,919    | 6,582     | 3,864        | 2,887        | 7,175  | 4,434  | 5,721 | 3,579  | 0,535   | 0,462   |
| max.                          | 13,566  | 14,884  | 8,485   | 12,309  | 18,659    | 16,393    | 6,733        | 8,495        | 13,805 | 11,717 | 7,781 | 11,764 | 0,783   | 0,718   |
| arit. průměr                  | 10,744  | 8,934   | 6,934   | 7,438   | 15,686    | 11,405    | 5,584        | 4,992        | 11,057 | 7,451  | 6,594 | 5,954  | 0,670   | 0,636   |
| SD                            | 2,284   | 2,537   | 1,291   | 1,916   | 2,114     | 3,099     | 1,052        | 1,579        | 2,361  | 1,994  | 0,633 | 2,324  | 0,084   | 0,069   |
| medián                        | 10,826  | 9,056   | 7,129   | 7,325   | 15,591    | 11,061    | 5,930        | 5,228        | 10,835 | 7,148  | 6,586 | 5,693  | 0,678   | 0,652   |
| 25% percentil                 | 10,142  | 6,862   | 5,597   | 6,486   | 14,649    | 9,323     | 5,111        | 3,851        | 9,524  | 6,494  | 6,344 | 4,379  | 0,631   | 0,603   |
| 75% percentil                 | 12,004  | 9,574   | 7,992   | 8,095   | 17,117    | 13,863    | 6,159        | 5,663        | 13,248 | 7,970  | 6,770 | 6,179  | 0,714   | 0,682   |
| normalita rozdělení           | ano     | ano     | ano     | ne      | ano       | ano       | ano          | ano          | ano    | ano    | ano   | ne     | ano     | ne      |

Zdroj: Vlastní zpracování

Na obrázku 39 jsou znázorněny průměrné hodnoty  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 PUFA v hodnocených tkáních u jednotlivých skupin i celkově. Průměrná hodnota  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 PUFA ve tkáních byla stanovena přibližně na 7,3. Rozložení výsledných hodnot  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 PUFA poměrně koresponduje s rozložením LA/ALA znázorněným výše. Nejnižší hodnoty byly zaznamenány v mozku, zatímco nejvyšší v ledvinách. Ve většině případů jsou pak z grafu zřetelné zvýšené hodnoty  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 PUFA u skupiny A.



**Obrázek 39  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 PUFA – průměrné hodnoty ve tkáních**

Zdroj: Vlastní zpracování

V případě  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 PUFA byly prokázány dva statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými skupinami. Jedná se o zvýšené hodnoty  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 PUFA v ledvinách a ve svaly u skupiny A. Zhodnocení výsledků je shrnuto v tabulce 52.

**Tabulka 52  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 PUFA – statisticky významné rozdíly**

| <b><math>\omega</math>-6/<math>\omega</math>-3 PUFA</b> |              |                 |                   |                 |              |              |
|---|--------------|-----------------|-------------------|-----------------|--------------|--------------|
| <i>Srdce</i>  | <i>Játra</i> | <i>Ledviny</i>  | <i>Nadledviny</i> | <i>Sval</i>     | <i>Tuk</i>   | <i>Mozek</i> |
| <b>A = B</b>  | <b>A = B</b> | <b>A &gt; B</b> | <b>A = B</b>      | <b>A &gt; B</b> | <b>A = B</b> | <b>A = B</b> |

Zdroj: Vlastní zpracování

### 4.3 Souhrn statisticky významných rozdílů

Zjištěné statisticky významné rozdíly hodnot jednotlivých MK i dalších sledovaných parametrů mezi skupinami A a B jsou přehledně uvedeny v tabulce 53. Vyznačeny jsou zde případy, u kterých byla zaznamenána statisticky významná vyšší hodnota.

**Tabulka 53 Souhrn statisticky významných rozdílů**

|          | Srdce | Játra | Ledviny | Nadledviny | Sval | Tuk | Mozek |
|----------|-------|-------|---------|------------|------|-----|-------|
| LAA      |       |       |         |            |      |     |       |
| MA       |       |       |         | A          |      |     |       |
| PA       |       |       |         |            |      |     |       |
| POA      | B     |       |         |            | B    |     |       |
| SA       |       | B     |         |            | A    |     |       |
| OA       | B     |       | B       | B          | B    |     |       |
| LA       |       |       |         |            | A    |     |       |
| GLA      |       |       |         |            |      |     |       |
| ALA      |       |       | B       |            | B    |     |       |
| DGLA     | A     |       | A       |            | A    |     |       |
| AA       |       |       | A       |            | A    |     |       |
| EPA      |       |       |         |            | A    |     |       |
| DHA      |       |       |         |            | A    |     |       |
| tSFA     | A     |       |         |            | A    |     |       |
| tMUFA    | B     |       | B       | B          | B    | B   |       |
| ω-6 PUFA |       |       | A       |            | A    |     |       |
| ω-3 PUFA |       |       |         |            |      |     |       |
| OA/SA    |       |       |         |            | B    |     |       |
| AA/DGLA  |       |       |         |            |      |     |       |
| LA/ALA   |       |       | A       |            | A    | A   |       |
| AA/EPA   |       |       | A       | A          | A    |     |       |
| ω-6/ω-3  |       |       | A       |            | A    |     |       |

Zdroj: Vlastní zpracování

U skupiny A se jednalo o vyšší hladiny MA, SA (sval), LA, DGLA, AA, EPA a DHA. Ze sledovaných parametrů pak byly vyšší hodnoty ve skupině A zaznamenány u tSFA, ω-6 PUFA, LA/ALA, AA/EPA a ω-6/ω-3 PUFA. V případě skupiny B byla zjištěna statisticky významně vyšší hladina POA, SA (játra), OA a ALA. Významně vyšší hodnoty byly prokázány především u tMUFA, dále u OA/SA.

V případě tMUFA byl statisticky významný rozdíl zaznamenaný hned v 5 tkáních ze 7 hodnocených, přičemž hladina OA se významně lišila u 4 tkání. Ve 3 typech tkání se pak významně lišila hladina DGLA a hodnoty LA/ALA a AA/EPA. K statisticky významným rozdílům celkem ve 2 tkáních došlo v případě POA, SA, ALA, AA, tSFA, ω-6 PUFA a ω-6/ω-3 PUFA. Hodnoty MA, LA, EPA, DHA a OA/SA se významně lišily pouze v 1 z hodnocených tkání. U žádné tkáně pak nebyly zaznamenány statisticky významné rozdíly v hodnotách LAA, PA, GLA, ω-3 PUFA a AA/DGLA.

Z pohledu hodnocených tkání dominovala ve výskytu statisticky významných rozdílů tkáň svalová. Rozdíl se zde projevil celkem v 16 případech z 22 porovnávaných. Ve svalů tak docházelo k největším výkyvům hladin MK mezi skupinami. Poměrně často byl rozdíl prokázán také u ledvinové tkáně. Jednalo se celkem o 9 případů. V srdci se pak objevil statisticky významný rozdíl 5x, v nadledvinách 4x, v tuku 2x a v játrech pouze 1x. Naopak srovnatelné hodnoty bez zjištěných rozdílů vykazovala ve všech případech mozková tkáň. Mozek tak představoval nejméně náchylnou tkáň vůči odlišnostem mezi skupinami A a B.

## 5 DISKUZE

Cílem této práce bylo stanovit a porovnat zastoupení vybraných MK v lidských tkáních za fyziologických a patologických podmínek. Zároveň práce navazuje na dvě předešlé již obhájené diplomové práce se stejným cílem [118][119]. Tato práce především rozšiřuje skupinu analyzovaných tkání a přináší další množinu výsledných hodnot. Přispívá tedy k vytvoření ucelenějšího přehledu o zásobách MK v lidském organismu.

Hodnocené biologické vzorky pocházely celkem od 20 zemřelých dárců. Z toho 8 dárců bylo zařazeno do skupiny náhle zemřelých, relativně mladých a zdravých osob (skupina A). Dalších 12 jedinců spadalo do skupiny nemocných vyššího věku (skupina B). Od každého z nich jsme měli k dispozici 7 druhů tkání. Mohli jsme tedy porovnávat zastoupení MK v jednotlivých tkáních mezi skupinami A a B. Zaměřili jsme se přitom především na fluktuaci nenasycených MK. Pro stanovení MK byla zvolena metoda plynové chromatografie. Samotné analýze pak předcházela příslušná příprava vzorků včetně extrakce a derivatizace. Po zpracování získaných dat následovalo vyhodnocení statisticky významných rozdílů mezi skupinami A a B.

Zásoby MK ve tkáních nám mohou sloužit jako ukazatel zdravotního stavu z dlouhodobého hlediska. Jejich zjišťování a sledování jejich změn by proto mohlo představovat vhodný nástroj právě pro hodnocení vlivu dlouhodobě probíhající patologie v organismu. Získané výsledky pak nelze přímo srovnávat s hladinami MK v krvi či v plazmě reflektujícími spíše aktuální potřebu a momentální stav organismu [31][33][36]. Pro hodnocení zásobních hladin MK jsme zvolili těchto sedm druhů tkání: srdce, játra, ledviny, nadledviny, sval, tuk a mozek. Nutno podotknout, že v současnosti stále v podstatě neexistují uspokojivé poznatky o námi sledovaných hladinách MK v lidských tkáních. V samotném stanovení těchto hodnot tedy spočívá hlavní přínos této práce jakož i zmiňovaných předešlých prací [118][119].

Při zkoumané fluktuaci hladin MK jsme vycházeli z teoretických poznatků o roli MK a jejich působků v patofyziologii různých chorob [10]. Na tomto základě byl u patologických stavů předpokládán určitý rozdíl ve využití některých MK projevující se příslušnou změnou zásob ve tkáních oproti zdravým jedincům. Konkrétně se jednalo např. o hladiny AA představující prekurzor látek spojených mimo jiné se zánětem, bolestí, tvorbou trombů, vazokonstrikcí atd. [1]. Zajímaly nás však celkově rozdíly v rozložení  $\omega$ -6 a  $\omega$ -3 PUFA, neboť jejich metabolismus i účinky spolu úzce souvisí. Při biosyntéze uvedených skupin PUFA mezi nimi dochází ke kompetici o příslušné enzymy a tím se jejich množství navzájem reguluje. Kompetitivní princip se přitom uplatňuje také při jejich přeměně na eikosanoidy [13]. Jak je podrobně popsáno v teoretické části právě eikosanoidy a jim podobné působky se významně podílejí mimo jiné na mnoha chorobných procesech. Zejména pak některé působky vzniklé z  $\omega$ -6 PUFA jsou obecně považovány za prozánětlivé mediátory doprovázející různé patologie [55]. Z toho důvodu jsme předpokládali u polymorbidních pacientů zvýšenou metabolickou přeměnu právě  $\omega$ -6 PUFA, a tedy i příslušné snížení jejich zásobních hladin ve tkáních. Kompenzace takto snížených hladin zvýšenou tvorbou příslušné MK nepřipadala v úvahu z důvodu esenciální povahy výchozích PUFA. Naopak v případě SFA nebo MUFA se organismus může různým výkyvům biosynteticky přizpůsobovat [6].

Zásoby MK ve tkáních mohou však být vedle zdravotního stavu a věku jedince ovlivněny řadou dalších významných faktorů. Patří mezi ně rozhodně příjem jednotlivých skupin MK a s tím související stravovací návyky a životospráva obecně [4]. Zejména v případě esenciálních MK a z nich vznikajících PUFA hraje jejich přijímané množství klíčovou roli [20]. Pro účely výzkumu však tyto informace samozřejmě nejsou u jednotlivců vždy kompletně dohledatelné. Hodnoty



MK dále mohou ovlivňovat také některá užívaná léčiva, návykové látky i alkohol. Zásahem účinné látky do metabolismu MK se mohou významným způsobem měnit jejich zásoby v jednotlivých tkáních [75]. Ovlivněním tvorby eikosanoidů a dalších metabolitů MK působí například kortikosteroidy nebo NSAID představující hojně užívaná léčiva při mnoha patologických stavech. Proto by se v rámci celkového hodnocení zásob MK měla pozornost věnovat vedle dalších faktorů také užívané farmakoterapii, a to zejména té dlouhodobé. Určitý vliv na hladiny MK má samozřejmě rovněž interindividuální variabilita jedinců související s jejich genetickou výbavou. Stále větší váha se poslední dobou přikládá například výskytu různých polymorfismů u genů kódujících enzymy důležité pro metabolismus MK [10].

Výsledné hodnoty procentuálního zastoupení MK mohly být rovněž zkresleny několika limitujícími faktory této práce. Výzkumný soubor byl sestaven dle aktuálních omezených možností a jeví tedy v některých ohledech známky nestejnorodosti. Porovnávané skupiny A a B například obsahují různý počet osob s celkově nižším zastoupením žen. Skupina A je poté složena pouze z dárců mužského pohlaví, čímž se snižuje výpovědní hodnota výsledků. Rovněž samotné rozdělení jednotlivých dárců do dvou definovaných skupin nelze vždy považovat za zcela jednoznačné. Do skupiny relativně zdravých byly zařazeny především osoby zemřelé v důsledku sebevraždy či oběti dopravních nehod. Mezi nimi jsou však také dva psychiatričtí pacienti a jeden epileptik. U dvou jedinců pak bylo potvrzeno nadměrné užívání alkoholu případně i drog, což se svým způsobem rovněž mohlo na výsledcích projevit. Sestavení této skupiny z ideálních adeptů však nebylo v daných časových a dalších podmínkách reálné. Na druhou stranu díky různorodosti skupiny jsme mohli sledovat přímo vliv odlišných charakteristik na výsledky u jednotlivých osob.

Ve skupině B jsou zařazeni pacienti většinou hned s několika diagnózami dlouhodobého charakteru. Poměrně často se zde opakuje příčina úmrtí typu srdečního či kardiopulmonálního selhání a téměř u všech dárců ze skupiny B se pak objevuje nějaké KVO. U šesti případů je zaznamenána CHOPN nebo chronická bronchitida, u pěti případů pak nádorové onemocnění a například u dvou případů onemocnění GIT. Skupina zahrnovala tři kuřáky a dva alkoholiky. U všech nemocných dárců byl tedy předpokládán výskyt určité formy zánětlivého či obecně patofyziologického procesu spojeného do jisté míry s tvorbou eikosanoidů a podobných působků [41][57][60][67]. Každý chorobný proces pravděpodobně ovlivňuje množství zásobních MK individuálním způsobem. Pro potřeby tohoto výzkumu se však typ patofyziologie nerozlišoval, což mohlo zapříčinit další výkyvy ve výsledných hodnotách. Upřesnění vlivu zcela konkrétních chorob na hladiny MK v jednotlivých tkáních by jistě rovněž bylo přínosné.

Na konečné výsledky měl samozřejmě vliv také celý průběh sběru, přípravy a analýzy vzorků včetně následného zpracování dat. Už při získávání příslušné tkáně bylo nutné odebrat, pokud možno, její dostatečně reprezentativní část. Z hodnocených tkání bylo zpravidla k dispozici omezené množství především u nadledvin. Dále bylo nezbytné odebrané tkáně důkladně označit a uskladnit je při optimálních podmínkách. Následný transport tkání mezi odděleními nemocnice musel proběhnout co nejrychleji a šetrným způsobem tak, aby se zabránilo rozkladným procesům ve tkáních. Určité chyby mohly vznikat také například při nedostatečné homogenizaci tkáně. Proces homogenizace vyžadoval trpělivost a specifický přístup ke každému druhu tkáně. Dalším kritickým bodem byla extrakce lipidů s následným odebíráním horní organické fáze. Pro tuto část byla zapotřebí dostatečná zručnost a pečlivost, aby se předešlo případným ztrátám lipidů. Nepřesnosti mohly rovněž vznikat při derivatizační reakci MK, a to vlivem nekompletního průběhu reakce, zpětné přeměny vznikajících metylesterů, rušivé přítomnosti vody či vlivem případného vytěkání vzniklých metylesterů. Uvedené vlivy jsme částečně vyloučili přidáním vnitřního standardu [108]. V průběhu přípravy i následné analýzy vzorků byly hodnocené MK

nevyhnutelně vystaveny okolnímu prostředí včetně světla, tepla a iontů kovů. Mohlo tak dojít např. k autooxidaci poměrně nestabilních PUFA či k jiným nežádoucím reakcím, které by pozměnily složení přítomných MK.

Při následující analýze plynovou chromatografií bylo nutné dodržet po celou dobu analýzy všechny stanovené chromatografické podmínky. Pouze objem nástřiku vzorku jsme měnili podle reprodukovatelnosti výsledných chromatogramů odrážející se od celkového množství MK ve tkáni. Pokud nebylo možné odečíst celou plochu některého píku i při nižším nástřikovém objemu, naředili jsme vzorek toluenem v objemovém poměru 1 : 9. Ředění se týkalo nejčastěji vzorků nadledvinové a tukové tkáně. Objem nástřiku ani ředění vzorku přitom nemělo na výsledné hodnocení procentuálního zastoupení MK žádný vliv. Po získání adekvátního chromatogramu jsme věnovali pozornost především správnému přiřazení MK k jednotlivým píkům podle retenčních časů standardu. Výšky píků odrážející hladiny MK ve tkáni byly ve všech vzorcích značně různorodé. Zvláště pak píky MK s velmi nízkým zastoupením bylo poměrně problematické přesně odečítat. Mezi takové MK patřila LAA, GLA, EPA nebo DHA. Další možné pochybení samozřejmě mohlo nastat také při zpracovávání velkého množství získaných dat.

Co se týče přímo získaných výsledků zaměřili jsme se především na zjištěné statisticky významné rozdíly mezi oběma skupinami. Hodnotili jsme přitom jak procentuální zastoupení jednotlivých MK, tak další sledované parametry zahrnující sumy skupin MK a příslušné poměry MK. Výsledky hodnocených poměrů MK nám pak ukazovaly vliv změny hladiny jedné MK na druhou. Téměř všechny případy statisticky významných rozdílů přitom vykazují určitý pravidelný trend, z něhož lze vyvodit poměrně logická stanoviska.

Nejméně statisticky významných rozdílů jevíly SFA. Zaznamenána byla vyšší hladina pouze 1× u MA a SA a 2× u tSFA ve skupině A. Vyšší hladina SA však byla současně prokázána i v jiné tkáni u skupiny B. U LAA a PA pak nebyl zjištěn žádný statisticky významný rozdíl. Z toho důvodu lze předpokládat, že věk či přítomnost patologického procesu nemají na zásoby SFA významnější vliv. Tuto teorii podporují také výše zmiňované diplomové práce [118][119].

Naopak velmi často se významně lišily hladiny MUFA, a to vždy ve smyslu vyšších hodnot u skupiny B. V případě POA byly statisticky významné rozdíly zaznamenány 2×, u OA pak 4×, v případě hodnot OA/SA 1× a u tMUFA dokonce 5×. Při podrobnějším zhodnocení byla ve skupině B patrná rovněž mírně snížená hladina SA. Děje se tak pravděpodobně vlivem zvýšené desaturace SA na OA. Zároveň se zdá, že nižší hladiny SA nejsou biosynteticky kompenzovány elongací PA zřejmě z důvodu současné přeměny PA na POA. Srovnatelné výsledky jsou přitom zjištěné i v citované práci [119]. Tyto poznatky ukazují k celkem zřejmé souvislosti vyšších hladin MUFA s vyšším věkem a přibývajících chorobami. Charakter této souvislosti ale není zcela jasný.

Jak je zmíněno v teoretické části, OA slouží některým organismům jako zdroj LA a dále ALA [1]. V lidském těle však pro tuto přeměnu chybí příslušné biosyntetické enzymy. Některé zdroje [120] uvádějí, že lidský organismus produkuje v případě nedostatku EFA vyšší množství OA a přeměňuje ji na kyselinu meadovou (C20:3;5,8,11). Tato MK spadající do rodiny  $\omega$ -9 nenasycených MK slouží tedy jako indikátor deficitu EFA [120]. Uvedená skutečnost pak dobře koresponduje se zjištěnými nižšími hladinami LA u polymorbidních pacientů ve skupině B, jak je zmíněno níže. Meadová kyselina tedy zřejmě představuje jakousi náhradu spotřebovávané LA a zvýšené hladiny OA by v tomto případě měly logické vysvětlení. Předmětem dalšího výzkumu by však mohlo být objasnění přesné role OA a meadové kyseliny v patofyziologických procesech a potvrzení uvedené souvislosti s vyšší potřebou LA. Nabízí se také otázka, souvisí-li vyšší produkce OA skutečně s výskytem choroby či pouze se stárnutím organismu.

Tato práce se však od začátku soustředila především na sledování hladin PUFA. V rámci této skupiny MK bylo opět zaznamenáno poměrně vysoké množství statisticky významných rozdílů. Nijak významně se nelišily pouze hladiny GLA, celkový součet  $\omega$ -3 PUFA a hodnoty poměru AA/DGLA. U skupiny A byly prokázány významně vyšší hladiny LA (1 $\times$ ), DGLA (3 $\times$ ), AA (2 $\times$ ), EPA (1 $\times$ ) a DHA (1 $\times$ ). Podobně pak byly u skupiny A zjištěny vyšší hodnoty také u sledovaných parametrů. Jednalo se o celkový součet  $\omega$ -6 PUFA (2 $\times$ ), hodnoty LA/ALA (3 $\times$ ), AA/EPA (3 $\times$ ) a  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 PUFA (2 $\times$ ). Ve skupině B vykazovala statisticky významně vyšší hladiny pouze ALA (2 $\times$ ). Velmi podobných výsledků bylo dosaženo také v uváděné práci [118]. Naopak ve druhé zmiňované práci [119] byly zjištěny vyšší hladiny EPA a DHA u skupiny nemocných, čímž se poměrně zásadně odlišuje.

V případě porovnávání zásob PUFA lze vycházet z předpokladu, že zjištěné rozdíly mezi oběma skupinami jsou způsobeny především jejich úbytkem v důsledku metabolické přeměny. Není tedy příliš pravděpodobné, že by byl statisticky významný rozdíl zapříčiněn vyšším příjmem EFA pravidelně u jedinců z jedné z porovnávaných skupin. Snížené zásoby všech hodnocených  $\omega$ -6 PUFA (LA, GLA, DGLA, AA) u nemocných jedinců zřejmě souvisí se zvýšenou přeměnou LA přes GLA a DGLA až na AA [30]. Dále jsou z AA ve zvýšené míře produkovány pravděpodobně příslušné působky (eikosanoidy) spojené s přítomnou patofyziologií. V úvahu však může připadat také další metabolizace AA na méně známé PUFA [13]. Z uvedených výsledků tedy lze vyvodit, že u dlouhodobě nemocných pacientů vyššího věku dochází ke zvýšené spotřebě zásob  $\omega$ -6 PUFA ve srovnání se zdravými jedinci.

Zjištěné vyšší hladiny ALA ve skupině B je možné opět interpretovat spíše jako nižší hladiny ALA ve skupině A. Tuto skutečnost může vysvětlovat teorie, že relativně zdraví lidé disponují větší produkcí ochranných eikosanoidů pocházejících z ALA ve srovnání s polymorbidními pacienty. V úvahu však připadá spíše hromadění ALA ve tkáních nemocných z důvodu kompetitivního blokování enzymů potřebných pro přeměnu ALA na EPA a DHA. Děje se tak zřejmě v důsledku již zmiňovaného aktivního metabolismu LA [26]. Tuto teorii ostatně podporují i nižší hladiny EPA a DHA a snížené hodnoty poměru LA/ALA a  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 PUFA zjištěné u starších jedinců. Spotřebované zásoby EPA a DHA u skupiny B tak nejsou dostatečně kompenzovány vyšší přeměnou ALA, přesto že je k dispozici. Přitom je vysoce pravděpodobné, že právě tyto PUFA a z nich vytvořené mediátory (např. SPM) by představovaly účinnou protiváhu vůči obecně prozánětlivým eikosanoidům z AA [66]. Zde se pak nabízí možnost poměrně racionální suplementace EPA a DHA u dlouhodobě nemocných pacientů s cílem interferovat s příslušnými  $\omega$ -6 PUFA [41]. Z důvodu zjištěných nižších zásob EPA, DHA a sumy  $\omega$ -6 PUFA u polymorbidních pacientů lze předpokládat odpovídající změnu konstituce membrán jednotlivých buněk a z toho plynoucí důsledky. Zmiňované PUFA navíc představují obecně prekurzory pro fyziologicky nezbytné mediátory [27]. Jejich deficit pak zřejmě vede k nižší produkci těchto působků, což může chorobný stav ještě prohloubit.

V rámci sedmi druhů hodnocených tkání jsme pozorovali řadu specifíků. Už při přípravě vzorků bylo patrné, které tkáně jsou na tuky bohatší. Řadily se k nim především nadledviny, mozek či podkožní tuk. Naopak jen malé množství tuků obsahovala často srdeční a svalová tkáň. Nejvyšší počet statisticky významných rozdílů připadal právě na svalovou tkáň (16 $\times$ ). Tato skutečnost poměrně korespondovala také s předcházejícími pracemi [118][119]. Sval tedy představoval tkáň, jejíž zásoby MK byly největší měrou ovlivněny vyšším věkem či probíhající chorobou. Nejlépe tak reflektoval námi zjišťované fluktuace hladin MK. Oproti ostatním hodnoceným tkáním neplní příčně pruhoaná svalovina přímo specifickou úlohu v metabolismu MK a není tedy zřejmě příliš vystavena jiným rušivým faktorům. Poměrně vysoký počet

statisticky významných rozdílů se objevil rovněž v ledvinové tkáni (9×), méně jich pak vykazovala tkáň srdeční (5×) a nadledvinová (4×). U tukové tkáně byly zaznamenány významné rozdíly 2× a u jater pouze 1×. Rozdíly se tedy celkově více projevovaly v méně tučných tkáních. Játra coby vysoce metabolicky aktivní tkáň se velmi často vymykaly jinak pravidelnému pozorovanému trendu v rozdílech hladin MK. Mimo jiné se totiž játra zásadním způsobem podílejí na metabolismu lipidů včetně metabolismu MK [3]. Žádný statisticky významný rozdíl pak nebyl prokázán v mozkové tkáni, narozdíl od výsledků prezentovaných v uváděné práci [119]. Tato skutečnost by mohla odkazovat k přísně konzervativnímu složení MK v mozku, které příliš nepodléhá změnám stavu organismu. Částečný vliv však mohla mít také již zmíněná nesourodost skupiny A zahrnující tři jedince s onemocněním CNS.

V mozkové tkáni se obecně vyskytují typicky výrazně vyšší hladiny EPA, DHA a sumy  $\omega$ -3 PUFA oproti jiným orgánům [21], což výsledky práce rovněž potvrdily. Poměrně vysoké zastoupení ve srovnání s ostatními tkáněmi jevila v mozku u obou skupin rovněž SA. Hladiny LA pak byly v mozkové tkáni všech dárců naopak znatelně snížené jakož i hodnoty poměrů LA/ALA a  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 PUFA. V případě AA byly u obou skupin zaznamenány výrazně nižší hladiny především v tuku.

Při podrobnější analýze výsledků přímo jednotlivých dárců jsme se snažili zachytit např. vliv užívaných léčiv, drog či alkoholu. Zvláště u skupiny A bylo díky přítomnosti různých rušivých faktorů výhodné sledovat vliv právě tohoto faktoru na hladiny MK ve srovnání s ostatními jedinci. Také věkové rozpětí ve skupině A (od 17 do 44 let) umožňovalo pozorovat vliv samotného věku na zásoby MK. V rámci skupiny B pak bylo porovnávání vlivu jednotlivých faktorů méně vypovídající z důvodu výskytu vysoké polymorbidity a polypragmatie. Ve skupině A jsme tak například srovnávali získané hodnoty u dárce nejvyššího věku (44 let) s hodnotami mladších jedinců z téže skupiny. Postřehli jsme zde určitý opakující se trend, ve většině případů opačné povahy než u hodnot mladších dárců ze skupiny A. U zmíněného dárce se objevovaly nižší hladiny především LA či AA a vyšší hladiny POA či OA, což koresponduje s výše uvedenými statisticky významnými rozdíly mezi skupinami A a B. Jelikož však v případě zmiňovaného dárce nebyla v dokumentaci zanesena žádná choroba, domníváme se, že zásoby jednotlivých MK jsou přímo ovlivňovány také věkem. Samozřejmě lze rovněž předpokládat, že zvyšující se věk zároveň souvisí s nárůstem patologických procesů v těle. Další zkoumané vlivy užívaných léčiv, drog či alkoholu se nám pak nepodařilo zcela prokázat.

Uváděné předpoklady a teorie je samozřejmě nutno ověřit ještě dalšími studiemi. V uplynulých letech bylo realizováno rozhodně velké množství výzkumných projektů na toto téma, některé z nich však dospěly k protichůdným závěrům. Významný přínos by proto představovalo objasnění přesného mechanismu zásahu jednotlivých MK do patofyziologických drah různých chorob, včetně ovlivnění genové exprese. Tyto poznatky by dále mohly být uplatněny například ve strategii léčby mnoha pacientů či v rámci úprav stravovacích návyků u široké populace. Vedle výzkumu přímo MK nabízí určitou perspektivu také další a detailnější studium eikosanoidů a jim podobných působků včetně SPM [90]. Komplexní přehled jejich metabolických a signálních drah by opět mohl vést k lepšímu pochopení patofyziologie jednotlivých chorobných stavů. Tato problematika pak rovněž představuje vysoký potenciál pro výzkum nových farmakologických cílů. V současné době je již využíváno poměrně velké množství léčiv souvisejících s eikosanoidy. Vedle široce využívaných farmak zasahujících do jejich produkce či analogů některých působků se objevují také účinné látky ovlivňující např. specifické enzymy či receptory eikosanoidů [69][86]. Limitujícím faktorem pro studium eikosanoidů přímo *in vivo* se pak jeví např. jejich nízká hladina v organismu a velmi krátký biologický poločas.

## 6 ZÁVĚR

Cíl této práce spočíval ve stanovení zásob mastných kyselin v lidských tkáních a porovnání fluktuace jejich hladin mezi náhle zemřelými a dlouhodobě nemocnými jedinci. Tímto navázala práce na dva předchozí výzkumné projekty shodného zaměření a mohla tak dalšími výsledky ověřit jejich závěry. Podařilo se nám zhodnotit procentuální zastoupení 13 mastných kyselin a dalších parametrů v sedmi druzích tkání u 8 zdravých a 12 nemocných dárců. Využili jsme přitom metodu extrakce lipidů a derivatizace mastných kyselin s následnou analýzou plynovou chromatografií.

Po zhodnocení výsledných dat jsme dospěli k několika statisticky významným rozdílům mezi oběma skupinami dárců. Pokusili jsme se tyto rozdíly konfrontovat s teoretickými poznatky i s podobnými výzkumnými projekty. Ve většině případů odpovídaly námi zjištěné výsledky předpokládaným tezím. Jednalo se především o významně nižší zásoby všech  $\omega$ -6 a některých  $\omega$ -3 polynenasycených mastných kyselin u polymorbidních pacientů. Tuto skutečnost jsme dávali do souvislosti s dlouhodobě probíhajícím patologickým procesem, ale také s vyšším věkem dárců. U této skupiny jedinců byly zároveň zaznamenány významně vyšší hladiny mononenasycených mastných kyselin.

Vzhledem k povaze výzkumu však naznačené závěry a hypotézy rozhodně nemohou být považovány za konečné a bude samozřejmě nutné je adekvátním způsobem ověřit. To platí rovněž přímo pro stanovené hladiny mastných kyselin, které zasluhují další a detailnější výzkum včetně plně kvantitativní analýzy. V případě samotných analytických metod využívaných v této problematice se tak do budoucna nabízí další prostor pro vývoj. Získání ucelenějšího přehledu o zásobách mastných kyselin v organismu a o jejich výkyvech pak může sloužit k dokonalejšímu pochopení jednotlivých procesů v lidském těle. Nejen v oblasti medicíny, nýbrž také ve farmacii jsou nové poznatky takovéto povahy nepochybně žádoucí.

## Seznam tabulek

|   |    |
|---|----|
| Tabulka 1 Přehled vybraných MK .....  | 14 |
| Tabulka 2 Hodnoty přiměřeného příjmu (AI – adequate intake) u vybraných PUFA v % energetického denního příjmu nebo v mg/den ..... | 22 |
| Tabulka 3 Příklady onemocnění s dysregulovanými MK v biologických vzorcích .....  | 25 |
| Tabulka 4 Transmembránové receptory vybraných eikosanoidů .....   | 29 |
| Tabulka 5 Vybraní zástupci eikosanoidů a SPM, jejich prekurzory a funkce v organismu .....  | 36 |
| Tabulka 6 Seznam odebíraných tkání .....  | 49 |
| Tabulka 7 Charakteristika skupiny A .....   | 49 |
| Tabulka 8 Charakteristika skupiny B .....   | 50 |
| Tabulka 9 Kyselina laurová – deskriptivní statistika .....  | 57 |
| Tabulka 10 Kyselina laurová – statisticky významné rozdíly .....  | 58 |
| Tabulka 11 Kyselina myristová – deskriptivní statistika .....   | 58 |
| Tabulka 12 Kyselina myristová – statisticky významné rozdíly .....  | 59 |
| Tabulka 13 Kyselina palmitová – deskriptivní statistika .....   | 60 |
| Tabulka 14 Kyselina palmitová – statisticky významné rozdíly .....  | 61 |
| Tabulka 15 Kyselina palmitoolejová – deskriptivní statistika .....  | 61 |
| Tabulka 16 Kyselina palmitoolejová – statisticky významné rozdíly .....   | 62 |
| Tabulka 17 Kyselina stearová – deskriptivní statistika .....  | 62 |
| Tabulka 18 Kyselina stearová – statisticky významné rozdíly .....   | 63 |
| Tabulka 19 Kyselina olejová – deskriptivní statistika .....   | 64 |
| Tabulka 20 Kyselina olejová – statisticky významné rozdíly .....  | 65 |
| Tabulka 21 Kyselina linolová – deskriptivní statistika .....  | 65 |
| Tabulka 22 Kyselina linolová – statisticky významné rozdíly .....   | 66 |
| Tabulka 23 Kyselina $\gamma$ -linolenová – deskriptivní statistika .....  | 66 |
| Tabulka 24 Kyselina $\gamma$ -linolenová – statisticky významné rozdíly .....   | 67 |
| Tabulka 25 Kyselina $\alpha$ -linolenová – deskriptivní statistika .....  | 68 |
| Tabulka 26 Kyselina $\alpha$ -linolenová – statisticky významné rozdíly .....   | 69 |
| Tabulka 27 Kyselina dihomogamma-linolenová – deskriptivní statistika .....  | 69 |
| Tabulka 28 Kyselina dihomogamma-linolenová – statisticky významné rozdíly .....   | 70 |
| Tabulka 29 Kyselina arachidonová – deskriptivní statistika .....  | 70 |
| Tabulka 30 Kyselina arachidonová – statisticky významné rozdíly .....   | 71 |
| Tabulka 31 Kyselina eikosapentaenová – deskriptivní statistika .....  | 72 |
| Tabulka 32 Kyselina eikosapentaenová – statisticky významné rozdíly .....   | 73 |
| Tabulka 33 Kyselina dokosahexaenová – deskriptivní statistika .....   | 73 |
| Tabulka 34 Kyselina dokosahexaenová – statisticky významné rozdíly .....  | 74 |
| Tabulka 35 tSFA – deskriptivní statistika .....   | 74 |
| Tabulka 36 tSFA – statisticky významné rozdíly .....  | 75 |
| Tabulka 37 tMUFA – deskriptivní statistika .....  | 76 |
| Tabulka 38 tMUFA – statisticky významné rozdíly .....   | 77 |
| Tabulka 39 $\omega$ -6 PUFA – deskriptivní statistika .....   | 77 |
| Tabulka 40 $\omega$ -6 PUFA – statisticky významné rozdíly .....  | 78 |
| Tabulka 41 $\omega$ -3 PUFA – deskriptivní statistika .....   | 78 |
| Tabulka 42 $\omega$ -3 PUFA – statisticky významné rozdíly .....  | 79 |
| Tabulka 43 OA/SA – deskriptivní statistika .....  | 80 |
| Tabulka 44 OA/SA – statisticky významné rozdíly .....   | 81 |
| Tabulka 45 AA/DGLA – deskriptivní statistika .....  | 81 |

|  |    |
|--|----|
| Tabulka 46 AA/DGLA – statisticky významné rozdíly.....                       | 82 |
| Tabulka 47 LA/ALA – deskriptivní statistika.....                             | 82 |
| Tabulka 48 LA/ALA– statisticky významné rozdíly.....                         | 83 |
| Tabulka 49 AA/EPA – deskriptivní statistika .....                            | 84 |
| Tabulka 50 AA/EPA – statisticky významné rozdíly .....                       | 85 |
| Tabulka 51 $\omega$ -6/ $\omega$ -3 PUFA – deskriptivní statistika .....     | 85 |
| Tabulka 52 $\omega$ -6/ $\omega$ -3 PUFA – statisticky významné rozdíly..... | 86 |
| Tabulka 53 Souhrn statisticky významných rozdílů .....                       | 87 |

## Seznam obrázků

|            |   |    |
|------------|---|----|
| Obrázek 1  | Obecné schéma chemické struktury MK   | 13 |
| Obrázek 2  | Schéma prodlužování uhlíkového řetězce v průběhu biosyntézy MK  | 17 |
| Obrázek 3  | Schéma přeměny $\omega$ -3 a $\omega$ -6 PUFA   | 19 |
| Obrázek 4  | Schéma $\beta$ -oxidace MK  | 20 |
| Obrázek 5  | Součet hladin EPA a DHA v krvi u populací různých států světa   | 23 |
| Obrázek 6  | Schéma biosyntézy prostanoidů z AA  | 30 |
| Obrázek 7  | Schéma biosyntézy LT z AA   | 32 |
| Obrázek 8  | Přeměny AA působením CYP na jednotlivé EET a DHET   | 32 |
| Obrázek 9  | Schéma biosyntetické dráhy ATL  | 33 |
| Obrázek 10 | Chemická struktura anandamidu   | 34 |
| Obrázek 11 | Chemická struktura latanoprostu   | 38 |
| Obrázek 12 | Srovnání průběhu normální akutní zánětlivé reakce (A) a pozměněné zánětlivé reakce s deficitem rezoluční fáze (B) | 39 |
| Obrázek 13 | Srovnání separace fází u Folchovy metody a při použití MTBE   | 45 |
| Obrázek 14 | Schéma kyselé katalyzované esterifikace MK (A) a transesterifikace lipidů (B)                                     | 46 |
| Obrázek 15 | Schéma plynového chromatografu  | 47 |
| Obrázek 16 | Příklad chromatografického záznamu analýzy reálného vzorku tkáně (sval)   | 54 |
| Obrázek 17 | Chromatografický záznam standardu hodnocených MK  | 54 |
| Obrázek 18 | Kyselina laurová – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních  | 58 |
| Obrázek 19 | Kyselina myristová – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních  | 59 |
| Obrázek 20 | Kyselina palmitová – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních  | 60 |
| Obrázek 21 | Kyselina palmitoolejová – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních   | 62 |
| Obrázek 22 | Kyselina stearová – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních   | 63 |
| Obrázek 23 | Kyselina olejová – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních  | 64 |
| Obrázek 24 | Kyselina linolová – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních   | 66 |
| Obrázek 25 | Kyselina $\gamma$ -linolenová – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních                                       | 67 |
| Obrázek 26 | Kyselina $\alpha$ -linolenová – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních                                       | 68 |
| Obrázek 27 | Kyselina dihomogamma-linolenová – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních                                     | 70 |
| Obrázek 28 | Kyselina arachidonová – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních   | 71 |
| Obrázek 29 | Kyselina eikosapentaenová – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních   | 72 |
| Obrázek 30 | Kyselina dokosahexaenová – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních  | 74 |
| Obrázek 31 | tSFA – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních  | 75 |
| Obrázek 32 | tMUFA – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních   | 76 |
| Obrázek 33 | $\omega$ -6 PUFA – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních  | 78 |
| Obrázek 34 | $\omega$ -3 PUFA – průměrné procentuální zastoupení ve tkáních  | 79 |
| Obrázek 35 | OA/SA – průměrné hodnoty ve tkáních   | 80 |
| Obrázek 36 | AA/DGLA – průměrné hodnoty ve tkáních   | 82 |
| Obrázek 37 | LA/ALA – průměrné hodnoty ve tkáních  | 83 |
| Obrázek 38 | AA/EPA – průměrné hodnoty ve tkáních  | 84 |
| Obrázek 39 | $\omega$ -6/ $\omega$ -3 PUFA – průměrné hodnoty ve tkáních   | 86 |



## Seznam použité literatury

- [1] MURRAY, Robert K. *Harperova ilustrovaná biochemie*. 5. české vyd., 1. v nakl. Galén. Přeložil Bohuslav MATOUŠ. Praha: Galén, 2012. ISBN 978-80-7262-907-7.
- [2] WILHELM, Zdeněk. Mastné kyseliny  $\omega$ -3; od teorie po klinickou praxi. *Medicína pro praxi*. 2013, 10(2), 72-76.
- [3] KOOLMAN, Jan a Klaus-Heinrich RÖHM. *Barevný atlas biochemie*. Praha: Grada, 2012. ISBN 978-80-247-2977-0.
- [4] GROFOVÁ, Zuzana. Mastné kyseliny. *Medicína pro praxi*. 2010, 7(10), 388-390.
- [5] Illustrated Glossary of Organic Chemistry. [cit. 2020-07-09]. Dostupné z: [http://www.chem.ucla.edu/~harding/IGOC/F/fatty\\_acid.html](http://www.chem.ucla.edu/~harding/IGOC/F/fatty_acid.html)
- [6] LEDVINA, Miroslav, Alena STOKLASOVÁ a Jaroslav CERMAN. *Biochemie pro studující medicíny*. 2. vyd. Praha: Karolinum, 2009. ISBN 978-80-246-1414-4.
- [7] PubChem, National Institutes of Health (NIH). [cit. 2020-07-09]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [8] Lipidy, Chemie potravin-cvičení. VŠCHT, Ústav analýzy potravin a výživy. [cit. 2020-07-09]. Dostupné z: [https://web.vscht.cz/~dolezala/CHPC/6%20Lipidy\\_cvi%4%8den%3%ad.pdf](https://web.vscht.cz/~dolezala/CHPC/6%20Lipidy_cvi%4%8den%3%ad.pdf)
- [9] ZHANG, Ying, Min ZHANG, Bochao LYU, Hiroko KISHI a Sei KOBAYASHI. Omega-3 and omega-6 DPA equally inhibit the sphingosylphosphorylcholine-induced  $Ca^{2+}$ -sensitization of vascular smooth muscle contraction via inhibiting Rho-kinase activation and translocation. *Scientific Reports*. 2017, 7(1). DOI: 10.1038/srep36368. ISSN 2045-2322.
- [10] SAINI, Ramesh Kumar a Young-Soo KEUM. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: Dietary sources, metabolism, and significance — A review. *Life Sciences*. 2018, 203, 255-267.
- [11] KITTNAR, Otomar. *Lékařská fyziologie*. Praha: Grada, 2011. ISBN 978-80-247-3068-4.
- [12] BLANCO, Antonio a Gustavo BLANCO. Lipid Metabolism. *Medical Biochemistry*. Elsevier, 2017, s. 325-365. DOI: 10.1016/B978-0-12-803550-4.00015-X. ISBN 9780128035504.
- [13] SCHMITZ, Gerd a Josef ECKER. The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids. *Progress in Lipid Research*. 2008, 47(2), 147-155. DOI: 10.1016/j.plipres.2007.12.004. ISSN 01637827.
- [14] SALWAY, J. G. *Metabolism at a glance*. Fourth edition. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2017. At a glance series (Oxford, England).
- [15] VENKATESAN, Rajaram, Shiv K. SAH-TELI, Luqman O. AWONIYI, et al. Insights into mitochondrial fatty acid synthesis from the structure of heterotetrameric 3-ketoacyl-ACP reductase/3R-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase. *Nature Communications*. 2014, 5(1). DOI: 10.1038/ncomms5805. ISSN 2041-1723.
- [16] GHASEMIFARD, Samaneh, Giovanni M. TURCHINI a Andrew J. SINCLAIR. Omega-3 long chain fatty acid “bioavailability”: A review of evidence and methodological considerations. *Progress in Lipid Research*. 2014, 56, 92-108. DOI: 10.1016/j.plipres.2014.09.001. ISSN 01637827.
- [17] FILLMORE, N., O. ABO ALROB, G. D. LOPASCHUK. Fatty Acid beta-Oxidation. *AOCS Lipid Library*. 2011. DOI: 10.21748/lipidlibrary.39187.

- [18] Krill. *National Geographic*. [cit. 2020-07-09]. Dostupné z: <https://www.nationalgeographic.com/animals/invertebrates/group/krill/>
- [19] KOPP, Wolfgang. How Western Diet And Lifestyle Drive The Pandemic Of Obesity And Civilization Diseases. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*. 2019, 12, 2221-2236. DOI: 10.2147/DMSO.S216791. ISSN 1178-7007.
- [20] SIMOPOULOS, Artemis P. Essential fatty acids in health and chronic disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1999, 70(3), 560s-569s. DOI: 10.1093/ajcn/70.3.560s. ISSN 0002-9165.
- [21] CONNOR, William E. Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2000, 71(1), 171S-175S. DOI: 10.1093/ajcn/71.1.171S. ISSN 0002-9165.
- [22] What is the Omega-3 Index?. *OmegaQuant*. 2018. [cit. 2020-07-09]. Dostupné z: <https://omegaquant.com/what-is-the-omega-3-index/>
- [23] Omega-3 Fatty Acids. *National Institutes of Health Office of Dietary Supplements, Health Information*. [cit. 2020-07-09]. Dostupné z: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Omega3FattyAcids-HealthProfessional/#h2>
- [24] Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *EFSA Journal*. 2010, 8(3). DOI: 10.2903/j.efsa.2010.1461. ISSN 18314732. [cit. 2020-07-09]. Dostupné z: <https://www.efsa.europa.eu/en/interactive-pages/drvs>
- [25] STARK, Ken D., Mary E. VAN ELSWYK, M. Roberta HIGGINS, Charli A. WEATHERFORD a Norman SALEM. Global survey of the omega-3 fatty acids, docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid in the blood stream of healthy adults. *Progress in Lipid Research*. 2016, 63, 132-152. DOI: 10.1016/j.plipres.2016.05.001. ISSN 01637827.
- [26] BAKER, Ella J., Elizabeth A. MILES, Graham C. BURDGE, Parveen YAQOOB a Philip C. CALDER. Metabolism and functional effects of plant-derived omega-3 fatty acids in humans. *Progress in Lipid Research*. 2016, 64, 30-56. DOI: 10.1016/j.plipres.2016.07.002. ISSN 01637827.
- [27] CALDER, Philip C. Polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: New twists in an old tale. *Biochimie*. 2009, 91(6), 791-795. DOI: 10.1016/j.biochi.2009.01.008. ISSN 03009084.
- [28] CALDER, Philip C., Cristina CAMPOY, Ans EILANDER, et al. A systematic review of the effects of increasing arachidonic acid intake on PUFA status, metabolism and health-related outcomes in humans. *British Journal of Nutrition*. 2019, 121(11), 1201-1214. DOI: 10.1017/S0007114519000692. ISSN 0007-1145.
- [29] CHAUHAN, Shaylika. Role of Omega-3 Fatty Acids on Lipid Profile in Diabetic Dyslipidaemia: Single Blind, Randomised Clinical Trial. *JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH*. 2017. DOI: 10.7860/JCDR/2017/20628.9449. ISSN 2249782X.
- [30] INNES, Jacqueline K. a Philip C. CALDER. Omega-6 fatty acids and inflammation. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 2018, 132, 41-48. DOI: 10.1016/j.plefa.2018.03.004. ISSN 09523278.
- [31] CHIU, Huai-Hsuan a Ching-Hua KUO. Gas chromatography-mass spectrometry-based analytical strategies for fatty acid analysis in biological samples. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2020, 28(1), 60-73. DOI: 10.1016/j.jfda.2019.10.003. ISSN 10219498.

- [32] LV, Wuwen a Tongshu YANG. Identification of possible biomarkers for breast cancer from free fatty acid profiles determined by GC-MS and multivariate statistical analysis. *Clinical Biochemistry*. 2012, 45(1-2), 127-133. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2011.10.011. ISSN 00099120.
- [33] BUTLER, Lesley M., Jian-Min YUAN, Joyce Yongxu HUANG, Jin SU, Renwei WANG, Woon-Puay KOH a Choon-Nam ONG. Plasma fatty acids and risk of colon and rectal cancers in the Singapore Chinese Health Study. *Npj Precision Oncology*. 2017, 1(1). DOI: 10.1038/s41698-017-0040-z. ISSN 2397-768X.
- [34] LIU, Jinbo, Peter J. MAZZONE, Juan P. CATA, Andrea KURZ, Maria BAUER, Edward J. MASCHA a Daniel I. SESSLER. Serum Free Fatty Acid Biomarkers of Lung Cancer. *Chest*. 2014, 146(3), 670-679. DOI: 10.1378/chest.13-2568. ISSN 00123692.
- [35] WANG, De-Cai, Chang-Hao SUN, Li-Yan LIU, Xiao-Hong SUN, Xin-Wen JIN, Wen-Lei SONG, Xiu-Qin LIU a Xue-Lian WAN. Serum fatty acid profiles using GC-MS and multivariate statistical analysis: potential biomarkers of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*. 2012, 33(6), 1057-1066. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2010.09.013. ISSN 01974580.
- [36] MAYNERIS-PERXACHS, Jordi, Marcela GUERENDIAIN, Ana I. CASTELLOTE, et al. Plasma fatty acid composition, estimated desaturase activities, and their relation with the metabolic syndrome in a population at high risk of cardiovascular disease. *Clinical Nutrition*. 2014, 33(1), 90-97. DOI: 10.1016/j.clnu.2013.03.001. ISSN 02615614.
- [37] HOEN, Wendela P., Jeroen G. LIJMER, Marinus DURAN, Ronald J.A. WANDERS, Nico J.M. VAN BEVEREN a Lieuwe DE HAAN. Red blood cell polyunsaturated fatty acids measured in red blood cells and schizophrenia: A meta-analysis. *Psychiatry Research*. 2013, 207(1-2), 1-12. DOI: 10.1016/j.psychres.2012.09.041. ISSN 01651781.
- [38] Databáze léků. *Státní ústav pro kontrolu léčiv*. [cit. 2020-04-01]. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/search.php>
- [39] SVAČINA, Štěpán. *Klinická dietologie*. Praha: Grada, 2008. ISBN 9788024722566.
- [40] Medicines. *Electronic Medicines Compendium*. [cit. 2020-03-03]. Dostupné z: <https://www.medicines.org.uk/emc/ingredient/1808>
- [41] VRABLÍK, Michal. Omega-3 mastné kyseliny a kardiovaskulární onemocnění. *Interní medicína pro praxi*. 2007, 9(6), 262-264.
- [42] PAHLAVANI, Mandana, Fitia RAZAFIMANJATO, Latha RAMALINGAM, Nishan S. KALUPAHANA, Hanna MOUSSA, Shane SCOGGIN a Naima MOUSTAID-MOUSSA. Eicosapentaenoic acid regulates brown adipose tissue metabolism in high-fat-fed mice and in clonal brown adipocytes. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2017, 39, 101-109. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2016.08.012. ISSN 09552863.
- [43] TAYAMA, J., S. OGAWA, N. NAKAYA, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and psychological intervention for workers with mild to moderate depression: A double-blind randomized controlled trial. *Journal of Affective Disorders*. 2019, 245, 364-370. DOI: 10.1016/j.jad.2018.11.039. ISSN 01650327.
- [44] DONNELLY, Neysan, Adrienne M. GORMAN, Sanjeev GUPTA a Afshin SAMALI. The eIF2 $\alpha$  kinases: their structures and functions. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2013, 70(19), 3493-3511. DOI: 10.1007/s00018-012-1252-6. ISSN 1420-682X.
- [45] PARK, Mi a Jin HONG. Roles of NF- $\kappa$ B in Cancer and Inflammatory Diseases and Their Therapeutic Approaches. *Cells*. 2016, 5(2). DOI: 10.3390/cells5020015. ISSN 2073-4409.

- [46] ALLAM-NDOUL, Bénédicte, Frédéric GUÉNARD, Olivier BARBIER a Marie-Claude VOHL. Effect of n-3 fatty acids on the expression of inflammatory genes in THP-1 macrophages. *Lipids in Health and Disease*. 2016, 15(1). DOI: 10.1186/s12944-016-0241-4. ISSN 1476-511X.
- [47] LEV-TZION, Raffi, Anne Marie GRIFFITHS, Oren LEDDER a Dan TURNER. Omega 3 fatty acids (fish oil) for maintenance of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2014, 2, CD006320. DOI: 10.1002/14651858.CD006320.pub4. ISSN 14651858.
- [48] SWAN, Katharine a Pat J. ALLEN. Omega-3 fatty acid for the treatment and remission of Crohn's disease. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*. 2013, 10(1). DOI: 10.1515/jcim-2012-0010. ISSN 1553-3840.
- [49] CABRÉ, Eduard, Míriam MAÑOSA a Miquel A. GASSULL. Omega-3 fatty acids and inflammatory bowel diseases – a systematic review. *British Journal of Nutrition*. 2012, 107(S2), S240-S252. DOI: 10.1017/S0007114512001626. ISSN 0007-1145.
- [50] FEAGAN, Brian G., William J. SANDBORN, Ulrich MITTMANN, et al. Omega-3 Free Fatty Acids for the Maintenance of Remission in Crohn Disease. *JAMA*. 2008, 299(14). DOI: 10.1001/jama.299.14.1690. ISSN 0098-7484.
- [51] TRIANTAFILLIDIS, John. Current and emerging drugs for the treatment of inflammatory bowel disease. *Drug Design, Development and Therapy*. 2011, 5, 185–210. DOI: 10.2147/DDDT.S11290. ISSN 1177-8881.
- [52] RUGGIERO, C., F. LATTANZIO, F. LAURETANI, B. GASPERINI, C. ANDRES-LACUEVA a A. CHERUBINI.  $\Omega$ -3 Polyunsaturated Fatty Acids and Immune-Mediated Diseases: Inflammatory Bowel Disease and Rheumatoid Arthritis. *Current Pharmaceutical Design*. 2009, 15(36), 4135-4148. DOI: 10.2174/138161209789909746. ISSN 13816128.
- [53] RICHMAN, E. a J. M. RHODES. Review article: evidence-based dietary advice for patients with inflammatory bowel disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2013, 38(10), 1156-1171. DOI: 10.1111/apt.12500. ISSN 02692813.
- [54] EL-SAYED, Eman a Khadiga IBRAHIM. Effect of the types of dietary fats and non-dietary oils on bone metabolism. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2015, 57(4), 653-658. DOI: 10.1080/10408398.2014.914889. ISSN 1040-8398.
- [55] HARIZI, Hedi, Jean-Benoît CORCUFF a Norbert GUALDE. Arachidonic-acid-derived eicosanoids: roles in biology and immunopathology. *Trends in Molecular Medicine*. 2008, 14(10), 461-469. DOI: 10.1016/j.molmed.2008.08.005. ISSN 14714914.
- [56] A. FAROOQUI, Akhlaq a Tahira FAROOQUI, ed. *Molecular Aspects of Neurodegeneration and Neuroprotection*. BENTHAM SCIENCE PUBLISHERS, 2012. DOI: 10.2174/97816080509251110101. ISBN 9781608050925.
- [57] BRÜCHER, Björn L.D.M., Ijaz S. JAMALL a Obul R. BANDAPALLI. Eicosanoids in carcinogenesis. *Open*. 2019, 2. DOI: 10.1051/fopen/2018008. ISSN 2557-0250.
- [58] SPITE, Matthew, Joan CLÀRIA a Charles N. SERHAN. Resolvins, Specialized Proresolving Lipid Mediators, and Their Potential Roles in Metabolic Diseases. *Cell Metabolism*. 2014, 19(1), 21-36. DOI: 10.1016/j.cmet.2013.10.006. ISSN 15504131.
- [59] WANG, Dingzhi a Raymond N. DUBOIS. Eicosanoids and cancer. *Nature Reviews Cancer*. 2010, 10(3), 181-193. DOI: 10.1038/nrc2809. ISSN 1474-175X.
- [60] GILROY, Derek W. a David BISHOP-BAILEY. Lipid mediators in immune regulation and resolution. *British Journal of Pharmacology*. 2019, 176(8), 1009-1023. DOI: 10.1111/bph.14587. ISSN 0007-1188.

- [61] CONTI, Bruno. Prostaglandin E2 that triggers fever is synthesized through an endocannabinoid- dependent pathway. *Temperature*. 2015, 3(1), 25-27. DOI: 10.1080/23328940.2015.1130520. ISSN 2332-8940.
- [62] ROUZER, Carol A. a Lawrence J. MARNETT. Cyclooxygenases: structural and functional insights. *Journal of Lipid Research*. 2009, 50(Supplement), S29-S34. DOI: 10.1194/jlr.R800042-JLR200. ISSN 0022-2275.
- [63] CHRISTIE, William W. *The Lipid Web*. [cit. 2020-03-31]. Dostupné z: <https://www.lipidhome.co.uk/lipids/fa-eic/eicprost/index.htm>
- [64] HOFER, HOFEROVÁ a FALK. Brief Story on Prostaglandins, Inhibitors of their Synthesis, Hematopoiesis, and Acute Radiation Syndrome. *Molecules*. 2019, 24(22). DOI: 10.3390/molecules24224019. ISSN 1420-3049.
- [65] ROVENSKÝ, Jozef. *Revmatologický výkladový slovník*. Praha: Grada, 2006. ISBN 80-247-1614-3. str. 49-50.
- [66] TAPIERO, H, G NGUYEN BA, P COUVREUR a K.D TEW. Polyunsaturated fatty acids (PUFA) and eicosanoids in human health and pathologies. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2002, 56(5), 215-222. DOI: 10.1016/S0753-3322(02)00193-2. ISSN 07533322.
- [67] WALLACE, John L. Eicosanoids in the gastrointestinal tract. *British Journal of Pharmacology*. 2019, 176(8), 1000-1008. DOI: 10.1111/bph.14178. ISSN 0007-1188.
- [68] MITCHELL, Jane A., Nicholas S. KIRKBY. Eicosanoids, prostacyclin and cyclooxygenase in the cardiovascular system. *British Journal of Pharmacology*. 2019, 176(8), 1038-1050. DOI: 10.1111/bph.14167. ISSN 0007-1188.
- [69] ESSER-VON BIEREN, Julia. Eicosanoids in tissue repair. *Immunology and Cell Biology*. 2019, 97(3), 279-288. DOI: 10.1111/imcb.12226. ISSN 08189641.
- [70] ROMANO, Mario. Lipoxin and Aspirin-Triggered Lipoxins. *The Scientific World JOURNAL*. 2010, 10, 1048-1064. DOI: 10.1100/tsw.2010.113. ISSN 1537-744X.
- [71] IMIG, J.D. Epoxyeicosatrienoic Acids and 20-Hydroxyeicosatetraenoic Acid on Endothelial and Vascular Function. *Endothelium*. Elsevier, 2016, s. 105-141. Advances in Pharmacology. DOI: 10.1016/bs.apha.2016.04.003. ISBN 9780128043967.
- [72] YANAI, Ryoji, Lama MULKI, Eiichi HASEGAWA, et al. Cytochrome P450-generated metabolites derived from  $\omega$ -3 fatty acids attenuate neovascularization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2014, 111(26), 9603-9608. DOI: 10.1073/pnas.1401191111. ISSN 0027-8424.
- [73] SUDHAR, V., S. SHAW a J. IMIG. Epoxyeicosatrienoic Acid Analogs and Vascular Function. *Current Medicinal Chemistry*. 2010, 17(12), 1181-1190. DOI: 10.2174/092986710790827843. ISSN 09298673.
- [74] ARIEL, Amiram a Charles N. SERHAN. Resolvins and protectins in the termination program of acute inflammation. *Trends in Immunology*. 2007, 28(4), 176-183. DOI: 10.1016/j.it.2007.02.007. ISSN 14714906.
- [75] GILLIGAN, Molly M., Allison GARTUNG, Megan L. SULCINER, et al. Aspirin-triggered proresolving mediators stimulate resolution in cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2019, 116(13), 6292-6297. DOI: 10.1073/pnas.1804000116. ISSN 0027-8424.

- [76] BAZAN, Nicolas G., Tiffany N. EADY, Larissa KHOUTOROVA, et al. Novel aspirin-triggered neuroprotectin D1 attenuates cerebral ischemic injury after experimental stroke. *Experimental Neurology*. 2012, 236(1), 122-130. DOI: 10.1016/j.expneurol.2012.04.007. ISSN 00144886.
- [77] MONTUSCHI, Paolo, Peter J. BARNES a L. Jackson ROBERTS. Isoprostanes: markers and mediators of oxidative stress. *The FASEB Journal*. 2004, 18(15), 1791-1800. DOI: 10.1096/fj.04-2330rev. ISSN 0892-6638.
- [78] DEAN, Spencer, Ching-Shuen WANG, Kihoon NAM, Christina L MARUYAMA, Bryan G TRUMP a Olga J BAKER. Aspirin Triggered Resolvin D1 reduces inflammation and restores saliva secretion in a Sjögren's syndrome mouse model. *Rheumatology*. 2019, 58(7), 1285-1292. DOI: 10.1093/rheumatology/kez072. ISSN 1462-0324.
- [79] ANTONY, Rajee, Walter J. LUKIW a Nicolas G. BAZAN. Neuroprotectin D1 Induces Dephosphorylation of Bcl-x L in a PP2A-dependent Manner during Oxidative Stress and Promotes Retinal Pigment Epithelial Cell Survival. *Journal of Biological Chemistry*. 2010, 285(24), 18301-18308. DOI: 10.1074/jbc.M109.095232. ISSN 0021-9258.
- [80] CHEN, P., B. FENET, S. MICHAUD, N. TOMCZYK, E. VÉRICEL, M. LAGARDE a M. GUICHARDANT. Full characterization of PDX, a neuroprotectin/protectin D1 isomer, which inhibits blood platelet aggregation. *FEBS Letters*. 2009, 583(21), 3478-3484. DOI: 10.1016/j.febslet.2009.10.004. ISSN 00145793.
- [81] ZEILHOFER, Hanns Ulrich a Kay BRUNE. Analgesic strategies beyond the inhibition of cyclooxygenases. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2006, 27(9), 467-474. DOI: 10.1016/j.tips.2006.07.007. ISSN 01656147.
- [82] SILBERNAGL, Stefan a Florian LANG. *Atlas patofyziologie*. 2. české vyd. Praha: Grada, 2012. ISBN 9788024735559.
- [83] Prostaglandins. *IBM Micromedex, MARTINDALE: The Complete Drug Reference*. [cit. 2020-07-09]. Dostupné z: <https://www.micromedexsolutions.com>
- [84] MLČÁK, Petr. Konzervativní léčba glaukomu. *Praktické lékařství*. 2009, 5(1), 22-25.
- [85] LIU, Min, Kazuko SAEKI, Takehiko MATSUNOBU, et al. 12-hydroxyheptadecatrienoic acid promotes epidermal wound healing by accelerating keratinocyte migration via the BLT2 receptor. *The Journal of Experimental Medicine*. 2014, 211(6), 1063-1078. DOI: 10.1084/jem.20132063. ISSN 1540-9538.
- [86] PARK, Bomina a Timothy W. CORSON. Soluble Epoxide Hydrolase Inhibition for Ocular Diseases: Vision for the Future. *Frontiers in Pharmacology*. 2019, 10. DOI: 10.3389/fphar.2019.00095. ISSN 1663-9812.
- [87] HELLMANN, Jason, Yunan TANG, Madhavi KOSURI, Aruni BHATNAGAR a Matthew SPITE. Resolvin D1 decreases adipose tissue macrophage accumulation and improves insulin sensitivity in obese-diabetic mice. *The FASEB Journal*. 2011, 25(7), 2399-2407. DOI: 10.1096/fj.10-178657. ISSN 0892-6638.
- [88] GONZÁLEZ-PÉRIZ, Ana, Raquel HORRILLO, Natàlia FERRÉ, et al. Obesity-induced insulin resistance and hepatic steatosis are alleviated by  $\omega$ -3 fatty acids: a role for resolvins and protectins. *The FASEB Journal*. 2009, 23(6), 1946-1957. DOI: 10.1096/fj.08-125674. ISSN 0892-6638.
- [89] Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometry (LC-MS-MS). *EAG Laboratories*. [cit. 2020-07-09]. Dostupné z: <https://www.eag.com/techniques/mass-spec/lc-ms-ms/#>



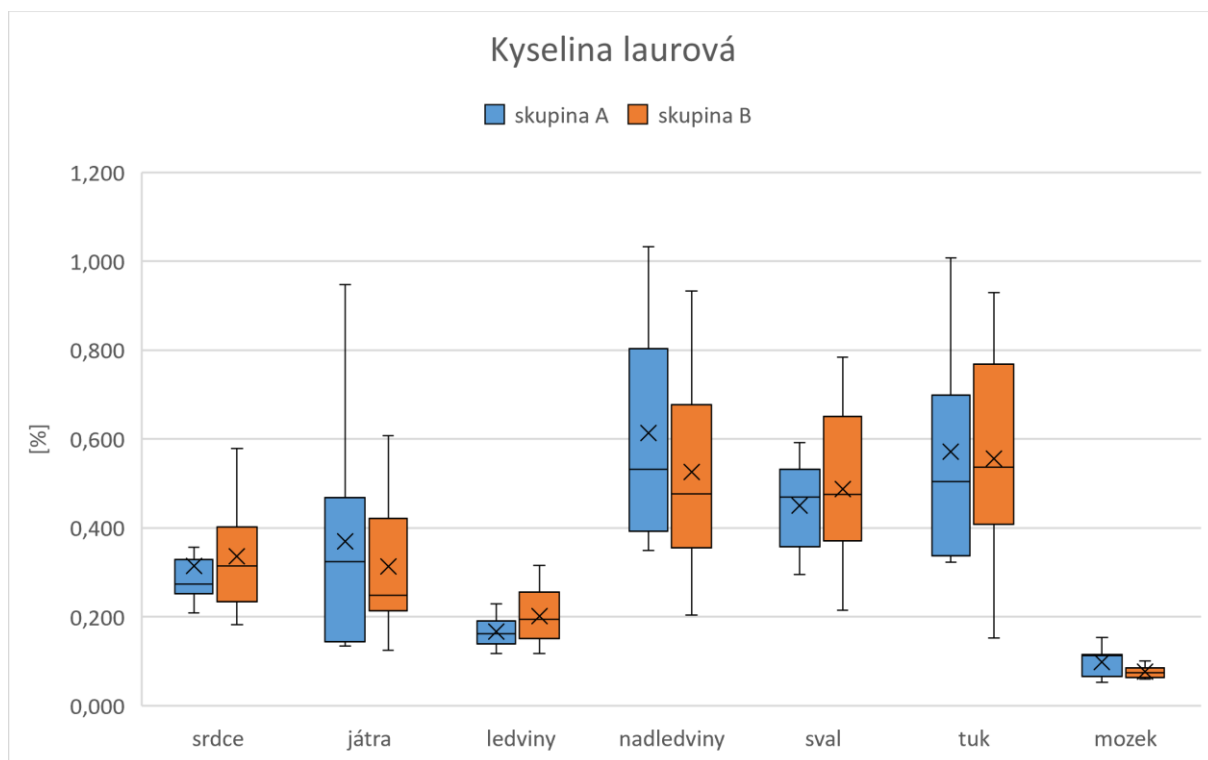
- [90] CLÀRIA, Joan, Binh T. NGUYEN, Arin L. MADENCI, C. Keith OZAKI a Charles N. SERHAN. Diversity of lipid mediators in human adipose tissue depots. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2013, 304(12), C1141-C1149. DOI: 10.1152/ajpcell.00351.2012. ISSN 0363-6143.
- [91] TACCONELLI, Stefania a Paola PATRIGNANI. Inside epoxyeicosatrienoic acids and cardiovascular disease. *Frontiers in Pharmacology*. 2014, 5. DOI: 10.3389/fphar.2014.00239. ISSN 1663-9812.
- [92] WANG, Shoutang a Marco COLONNA. Microglia in Alzheimer's disease: A target for immunotherapy. *Journal of Leukocyte Biology*. 2019, JLB.MR0818-319R. DOI: 10.1002/JLB.MR0818-319R. ISSN 0741-5400.
- [93] BIRINGER, Roger G. The Role of Eicosanoids in Alzheimer's Disease. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2019, 16(14). DOI: 10.3390/ijerph16142560. ISSN 1660-4601.
- [94] OLIVIER, Jean-Luc. Arachidonic acid in Alzheimer's disease. *Journal of Neurology and Neuromedicine*. 2016, 1(9), 1-6. DOI: 10.29245/2572.942X/2016/9.1086. ISSN 2572942X.
- [95] GANESH, Thota. Prostanoid Receptor EP2 as a Therapeutic Target. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2013, 57(11), 4454-4465. DOI: 10.1021/jm401431x. ISSN 0022-2623.
- [96] PIAZUELO, Elena a Angel LANAS. NSAIDS and gastrointestinal cancer. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*. 2015, 120, 91-96. DOI: 10.1016/j.prostaglandins.2015.06.001. ISSN 10988823.
- [97] MASTALERZ, Lucyna a Jagoda KUMIK. Antileukotriene drugs in the treatment of asthma. *Polish Archives of Internal Medicine*. 2010, 120(3), 103-108. DOI: 10.20452/pamw.899. ISSN 1897-9483.
- [98] WEI, Jessica a Karsten GRONERT. Eicosanoid and Specialized Proresolving Mediator Regulation of Lymphoid Cells. *Trends in Biochemical Sciences*. 2019, 44(3), 214-225. DOI: 10.1016/j.tibs.2018.10.007. ISSN 09680004.
- [99] CORAS, Roxana, Arthur KAVANAUGH, Tristan BOYD, et al. Pro- and anti-inflammatory eicosanoids in psoriatic arthritis. *Metabolomics*. 2019, 15(4). DOI: 10.1007/s11306-019-1527-0. ISSN 1573-3882.
- [100] KOMPRDA, Tomáš, Alena ANSORGOVÁ, Veronika ROZÍKOVÁ a Barbora NĚMCOVÁ. Chromatografické stanovení polynenasycených mastných kyselin ve vybraných živočišných tkáních. *Chemické listy*. 2015, 109, 140-146.
- [101] FISK, Helena L., Annette L. WEST, Caroline E. CHILDS, Graham C. BURDGE a Philip C. CALDER. The Use of Gas Chromatography to Analyze Compositional Changes of Fatty Acids in Rat Liver Tissue during Pregnancy. *Journal of Visualized Experiments*. 2014, (85). DOI: 10.3791/51445. ISSN 1940-087X.
- [102] Folch, J., M. Lees, and G. H. Sloane Stanley. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 1957. 226, 497-509.
- [103] CHRISTIE, William W. *Gas Chromatography and Lipids: A Practical Guide*. First edition. Bridgwater, UK: The Oily Press, 1989. ISBN 0-9514171-0-X.
- [104] BLIGH, E. G. a W. J. DYER. A RAPID METHOD OF TOTAL LIPID EXTRACTION AND PURIFICATION. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. 1959, 37(8), 911-917. DOI: 10.1139/o59-099. ISSN 0576-5544.

- [105] MATYASH, Vitali, Gerhard LIEBISCH, Teymuras V. KURZCHALIA, Andrej SHEVCHENKO a Dominik SCHWUDKE. Lipid extraction by methyl- tert -butyl ether for high-throughput lipidomics. *Journal of Lipid Research*. 2008, 49(5), 1137-1146. DOI: 10.1194/jlr.D700041-JLR200. ISSN 0022-2275.
- [106] SEPPÄNEN-LAAKSO, T., I. LAAKSO a R. HILTUNEN. Analysis of fatty acids by gas chromatography, and its relevance to research on health and nutrition. *Analytica Chimica Acta*. 2002, 465(1-2), 39-62. DOI: 10.1016/S0003-2670(02)00397-5. ISSN 00032670.
- [107] FURSE, Samuel, Maarten R. EGMOND a J. Antoinette KILLIAN. Isolation of lipids from biological samples. *Molecular Membrane Biology*. 2015, 32(3), 55-64. DOI: 10.3109/09687688.2015.1050468. ISSN 0968-7688.
- [108] LIU, Ke-Shun. Preparation of fatty acid methyl esters for gas-chromatographic analysis of lipids in biological materials. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 1994, 71(11), 1179-1187. DOI: 10.1007/BF02540534. ISSN 0003021X.
- [109] PROŠKOVÁ, Alexandra, Jiří KUČERA a Zdenka KOPICOVÁ. Porovnání kyselých a bazických katalyzovaných transesterifikací kafilerního tuku methanolem. *Chemické listy*. 2009, 103, 1034-1036.
- [110] CHRISTIE, W.W. Preparation of Ester Derivatives of Fatty Acids for Chromatographic Analysis. in *Advances in Lipid Methodology—Two* (W. W. Christie, ed.). 1993, pp. 69–111. The Oily Press, Dundee, UK.
- [111] HÁJEK, Martin, Jiří KWIECIEN a František SKOPAL. Biodiesel: The influence of dealcoholization on reaction mixture composition after neutralization of catalyst by carbon dioxide. *Fuel*. 2012, 96, 85-89. DOI: 10.1016/j.fuel.2012.01.037. ISSN 00162361.
- [112] Detektory v plynové chromatografii. *Mendelova univerzita v Brně*. [cit. 2020-07-29]. Dostupné z: [https://is.mendelu.cz/eknihovna/opory/zobraz\\_cast.pl?cast=52965](https://is.mendelu.cz/eknihovna/opory/zobraz_cast.pl?cast=52965);
- [113] OPLETAL, Lubomír, Pavel DRAŠAR. *Fytochemické metody 1 : izolace obsahových látek(laboratorní technika) : určeno posluchačům farmaceutické fakulty UK*. Praha: Karolinum. 1994. 142 s. ISBN 80-7066-912-8. Dostupné z: [https://www.vfu.cz/files/2340\\_49\\_vystup\\_pracovni\\_listy.pdf](https://www.vfu.cz/files/2340_49_vystup_pracovni_listy.pdf)
- [114] PLYNOVÁ CHROMATOGRFIE, Základy analýzy potravin. *VŠCHT v Praze*. [cit. 2020-07-29]. Dostupné z: [https://web.vscht.cz/~koplkr/%c4%8c%c3%a1stA6\\_3.pdf](https://web.vscht.cz/~koplkr/%c4%8c%c3%a1stA6_3.pdf)
- [115] CHEN, Shili, Miriam HOENE, Jia LI, et al. Simultaneous extraction of metabolome and lipidome with methyl tert-butyl ether from a single small tissue sample for ultra-high performance liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2013, 1298, 9-16. DOI: 10.1016/j.chroma.2013.05.019. ISSN 00219673.
- [116] LEPAGE, G., C. C. ROY. Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. *Journal of Lipid Research*. 1986, 27(1), 114-120.
- [117] ALVES, Susana P., Ana R. J. CABRITA, António J. M. FONSECA a Rui J. B. BESSA. Improved method for fatty acid analysis in herbage based on direct transesterification followed by solid-phase extraction. *Journal of Chromatography A*. 2008, 1209(1-2), 212-219. DOI: 10.1016/j.chroma.2008.08.114. ISSN 00219673.
- [118] TURŇOVÁ, Ivana. *Stanovenie mastných kyselín v ľudských tkanivách*. Hradec Králové, 2017. Diplomová práce. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra biofyziky a fyzikální chemie. Vedoucí práce Kuchařová, Monika.



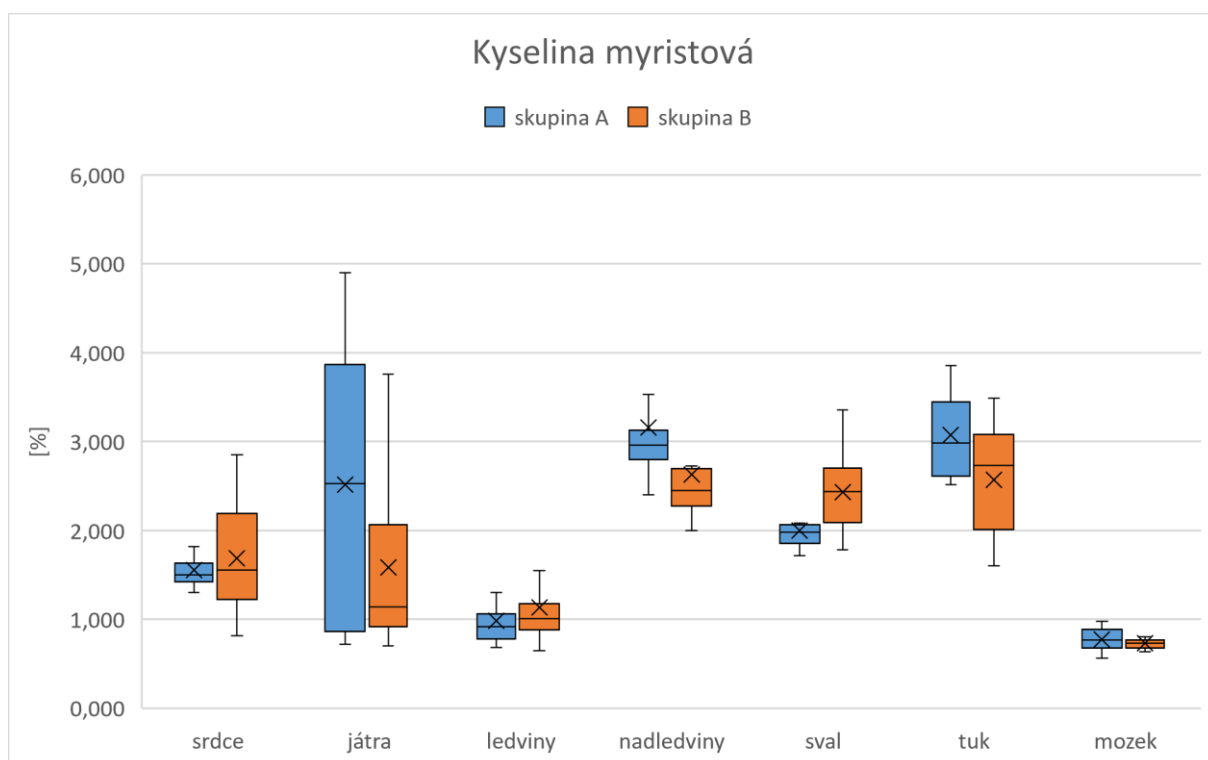
- [119] NOVOTNÁ, Monika. *Stanovení hladin mastných kyselin v tkáních zdravých, náhle zemřelých a polymorbidních pacientů*. Hradec Králové, 2019. Diplomová práce. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra biofyziky a fyzikální chemie. Vedoucí práce Kuchařová, Monika.
- [120] ICHI, Ikuyo, Nozomu KONO, Yuka ARITA, et al. Identification of genes and pathways involved in the synthesis of Mead acid (20: 3n-9), an indicator of essential fatty acid deficiency. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2014, 1841(1), 204-213. DOI: 10.1016/j.bbalip.2013.10.013. ISSN 13881981.

## Příloha



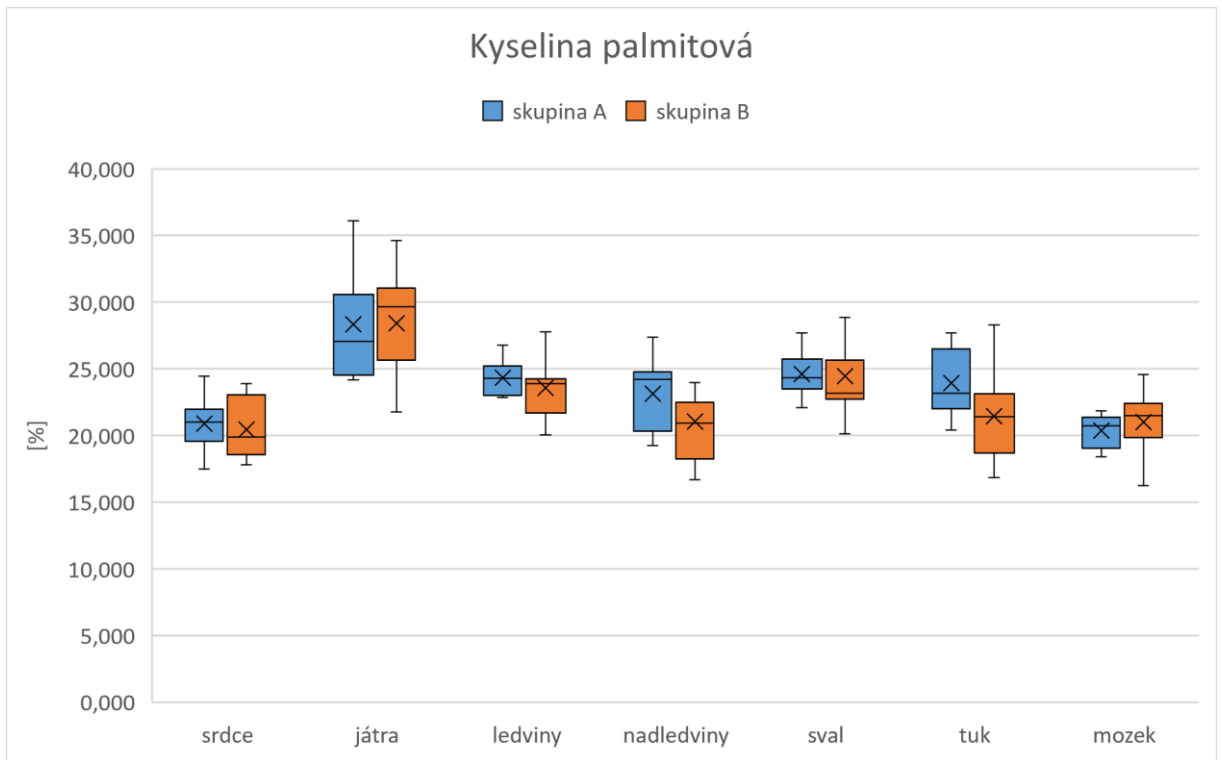
**Obrázek 1 Kyselina laurová – porovnání hladin mezi skupinami A a B**

Zdroj: Vlastní zpracování



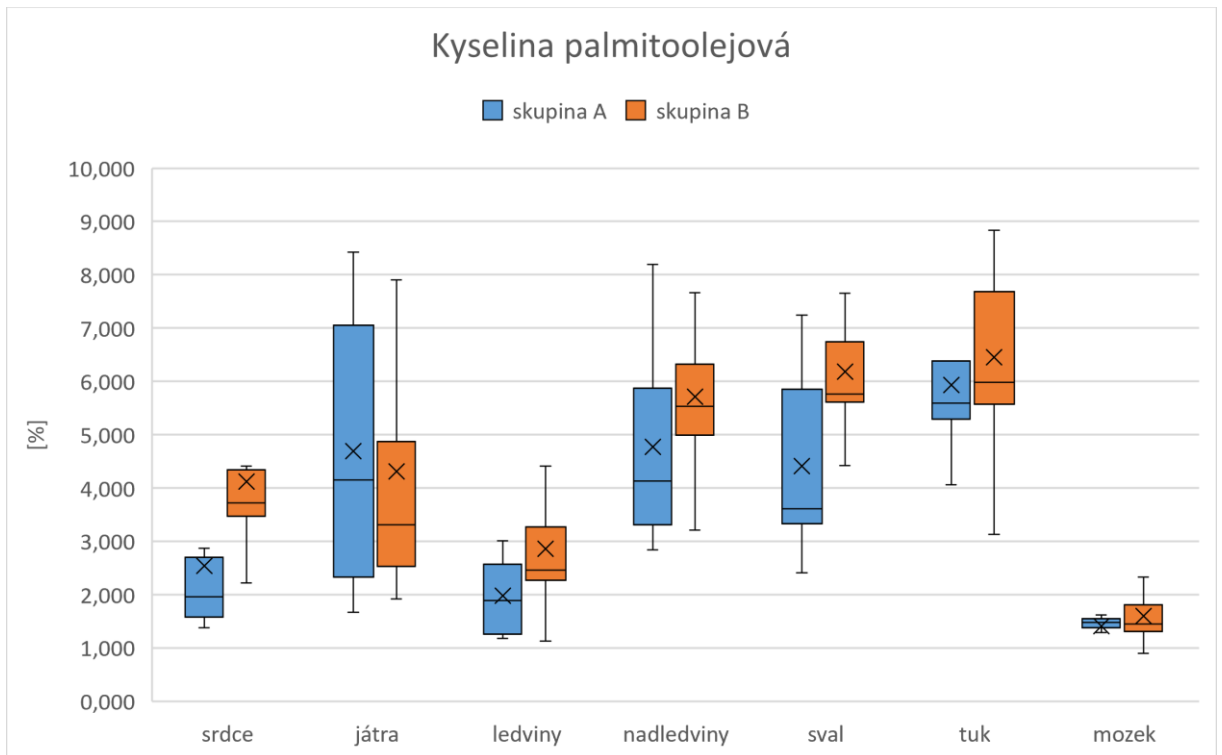
**Obrázek 2 Kyselina myristová – porovnání hladin mezi skupinami A a B**

Zdroj: Vlastní zpracování



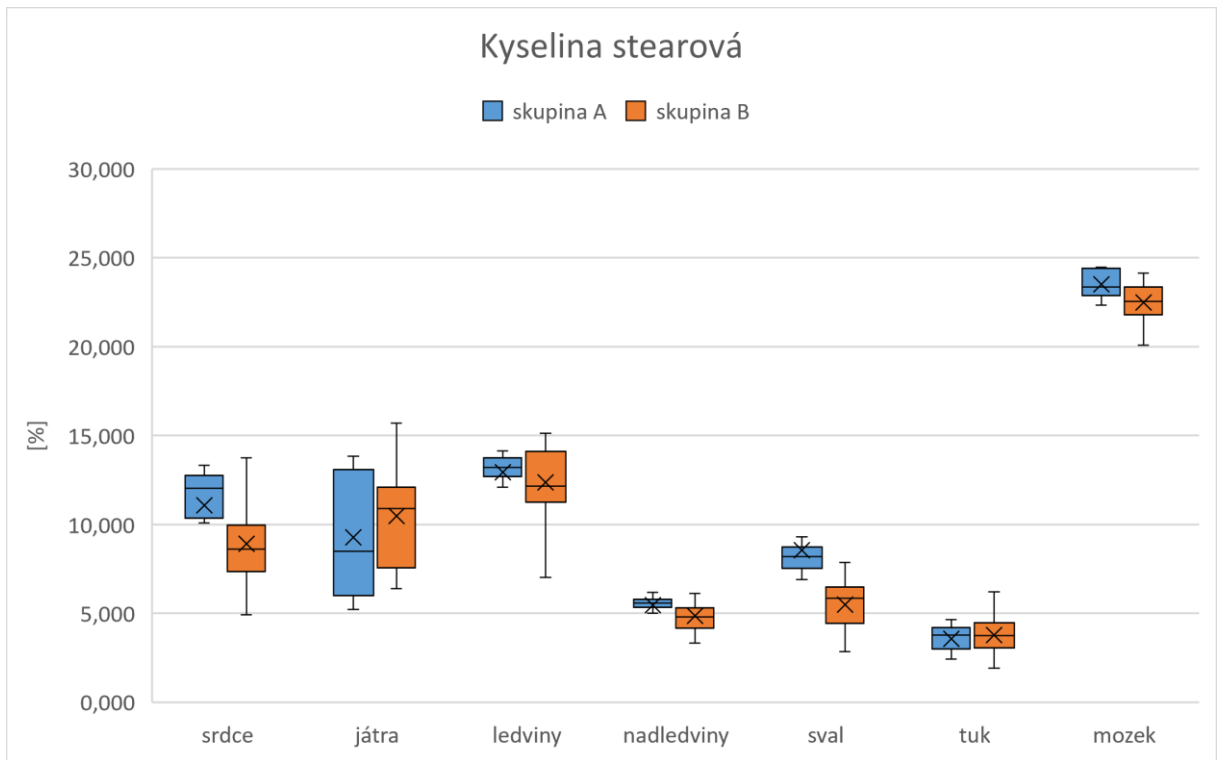
**Obrázek 3 Kyselina palmitová – porovnání hladin mezi skupinami A a B**

Zdroj: Vlastní zpracování



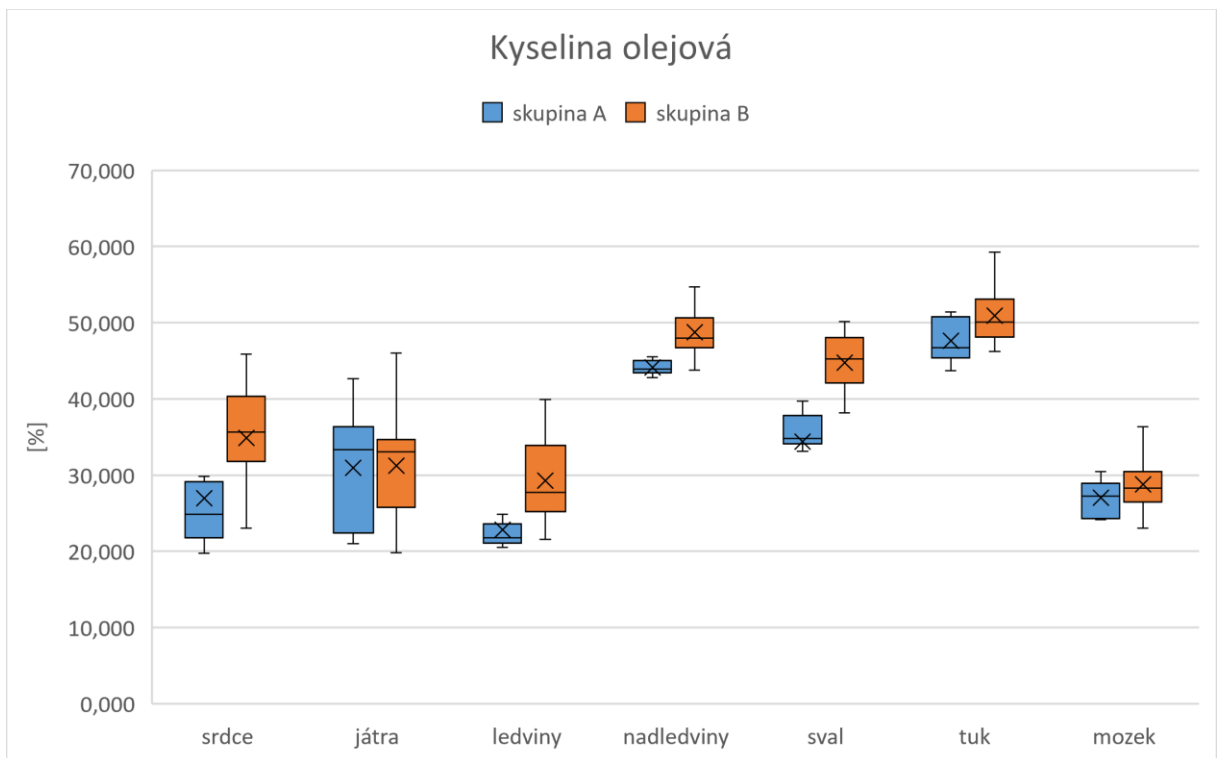
**Obrázek 4 Kyselina palmitoolejová – porovnání hladin mezi skupinami A a B**

Zdroj: Vlastní zpracování



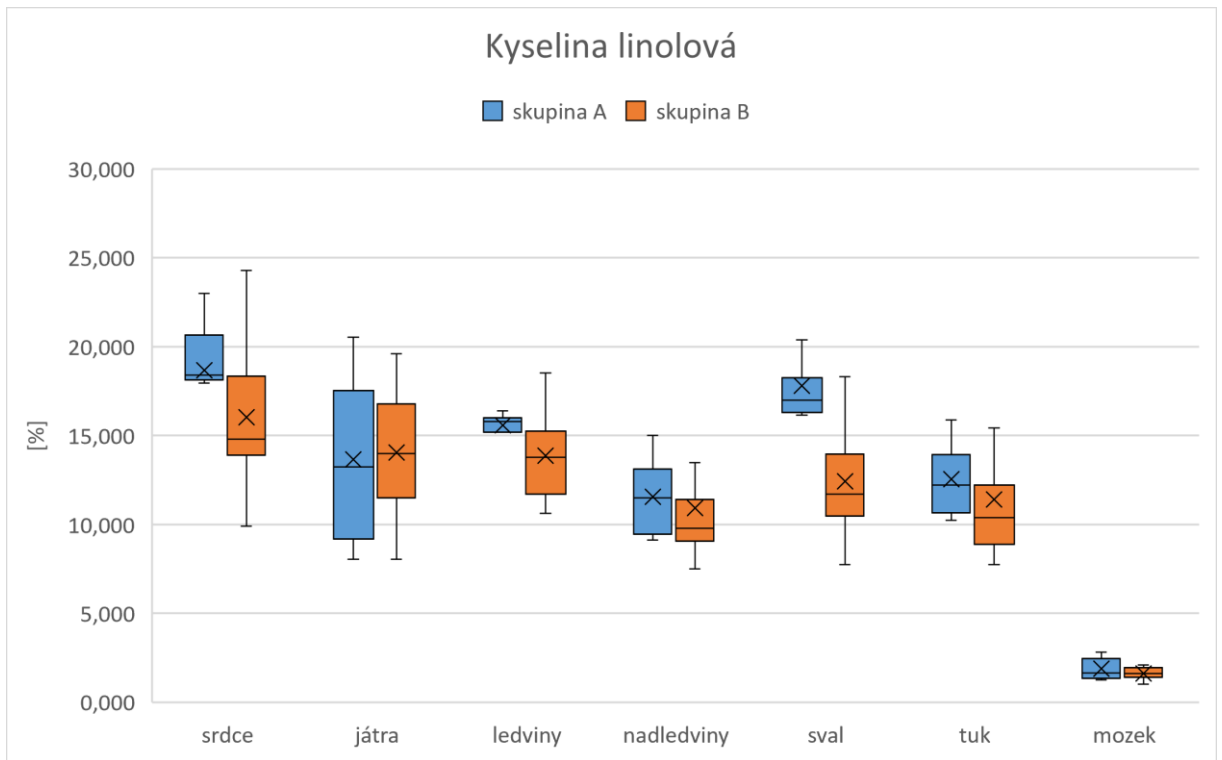
**Obrázek 5 Kyselina stearová – porovnání hladin mezi skupinami A a B**

Zdroj: Vlastní zpracování



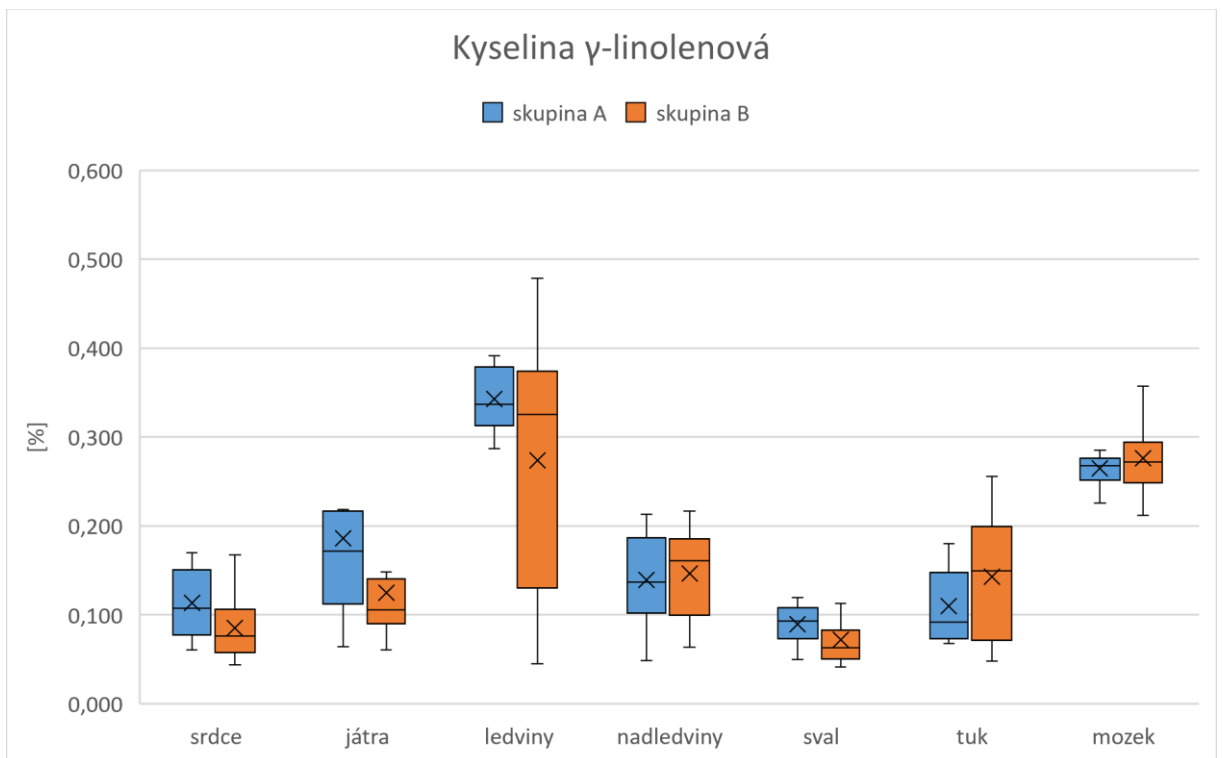
**Obrázek 6 Kyselina olejová – porovnání hladin mezi skupinami A a B**

Zdroj: Vlastní zpracování



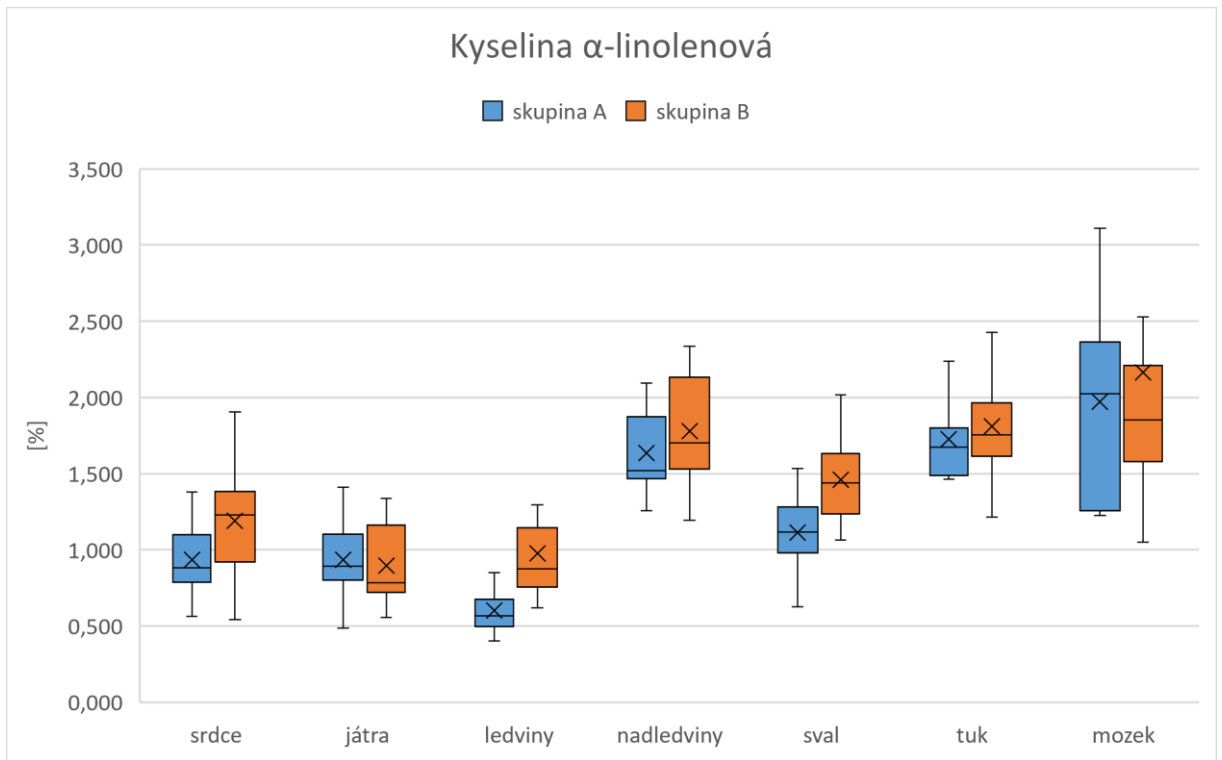
**Obrázek 7 Kyselina linolová – porovnání hladin mezi skupinami A a B**

Zdroj: Vlastní zpracování



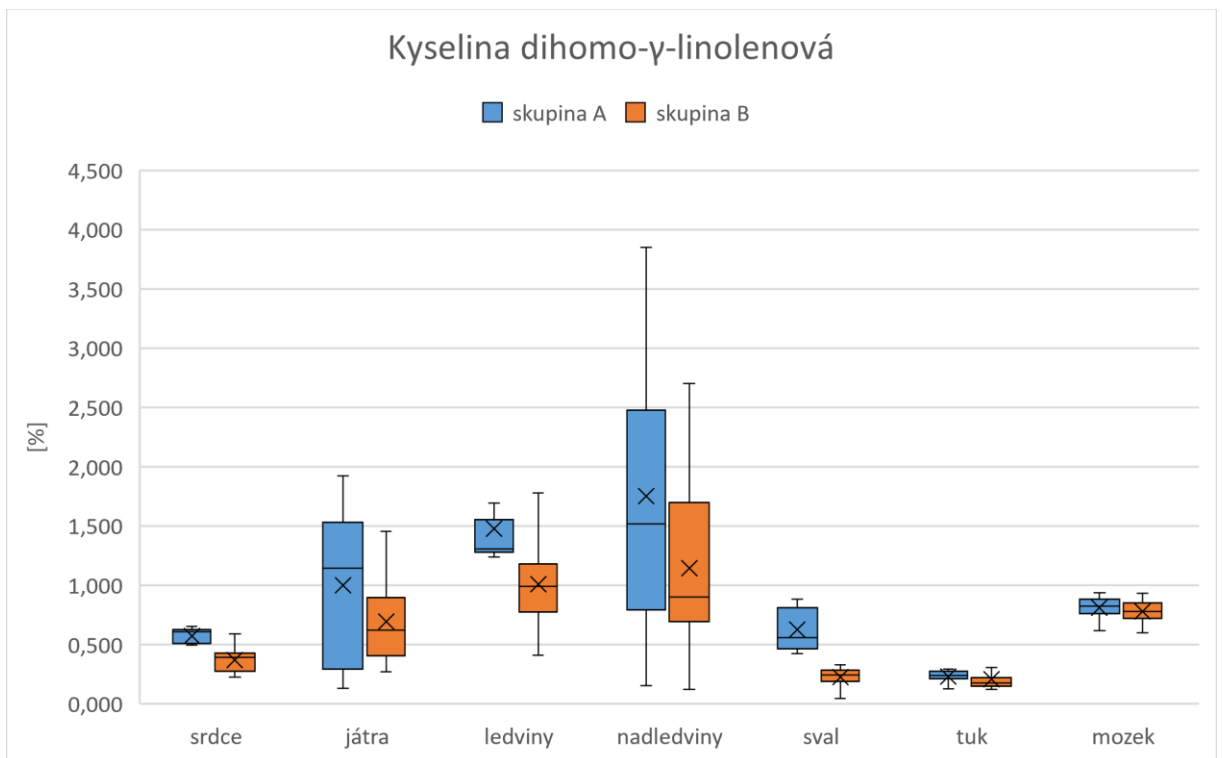
**Obrázek 8 Kyselina  $\gamma$ -linolenová – porovnání hladin mezi skupinami A a B**

Zdroj: Vlastní zpracování



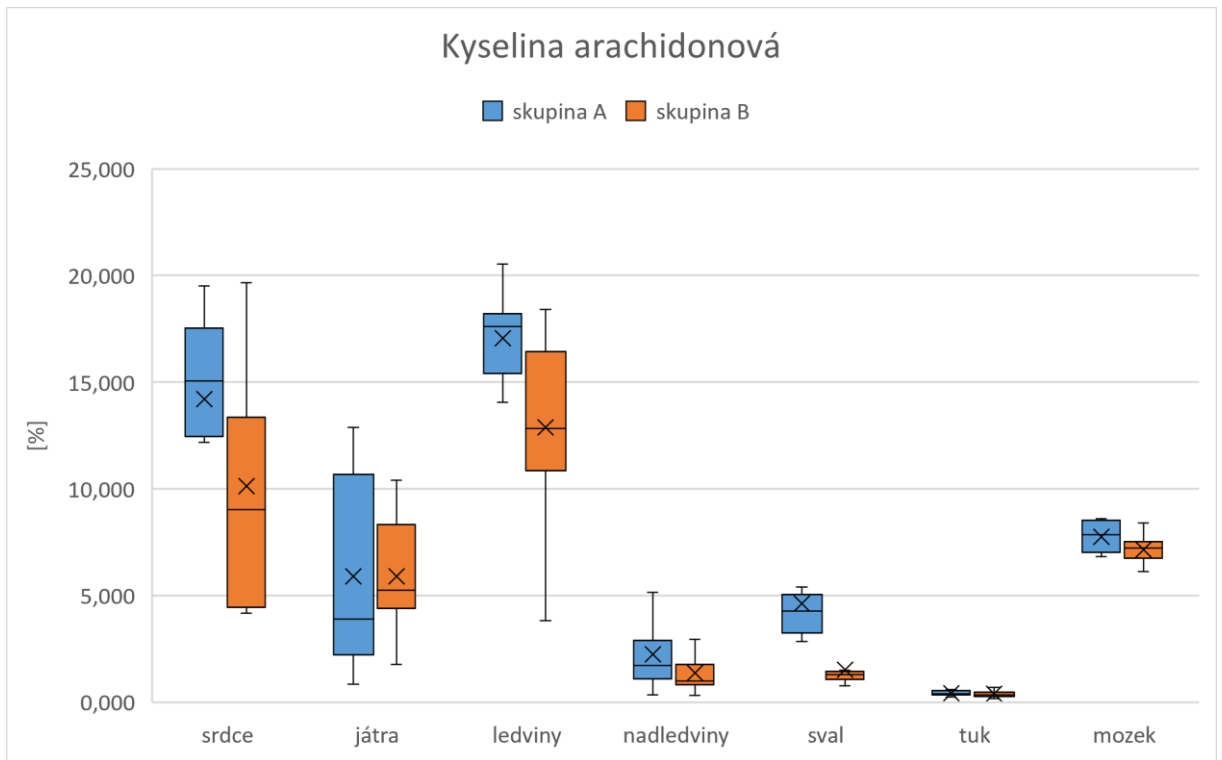
**Obrázek 9 Kyselina  $\alpha$ -linolenová – porovnání hladin mezi skupinami A a B**

Zdroj: Vlastní zpracování



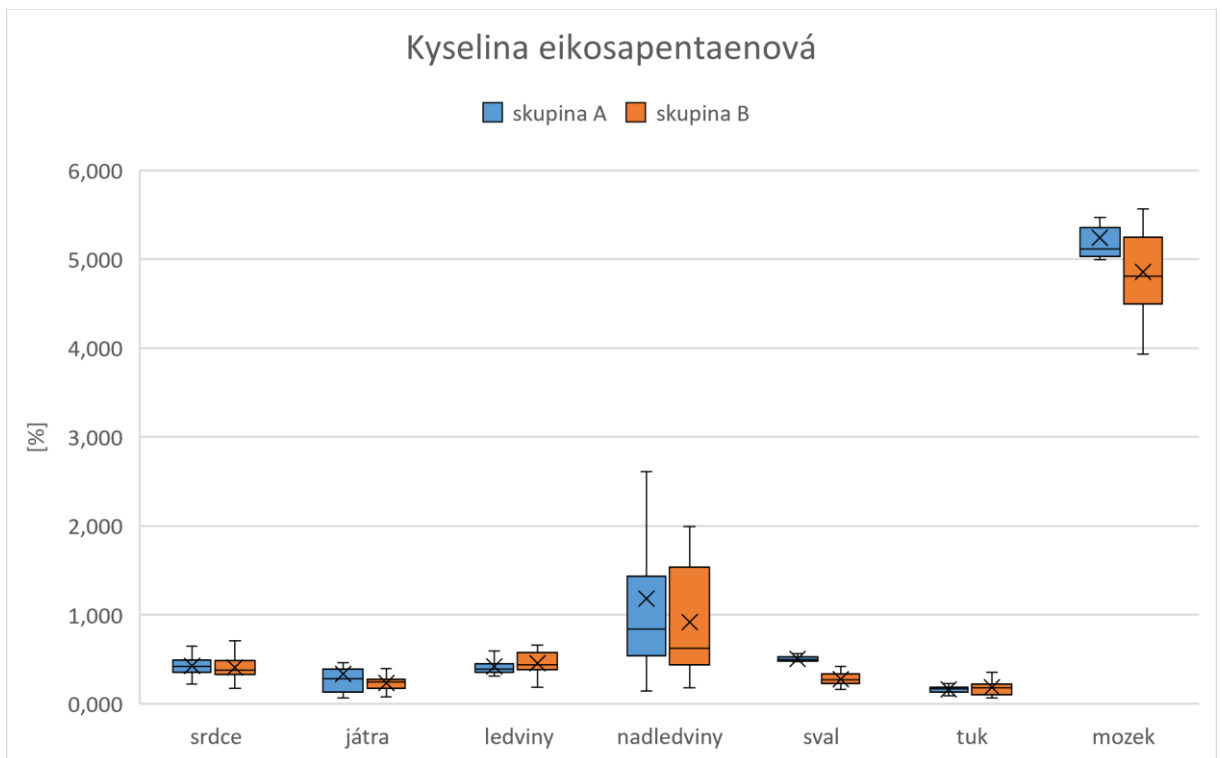
**Obrázek 10 Kyselina dihomogamma-linolenová – porovnání hladin mezi skupinami A a B**

Zdroj: Vlastní zpracování



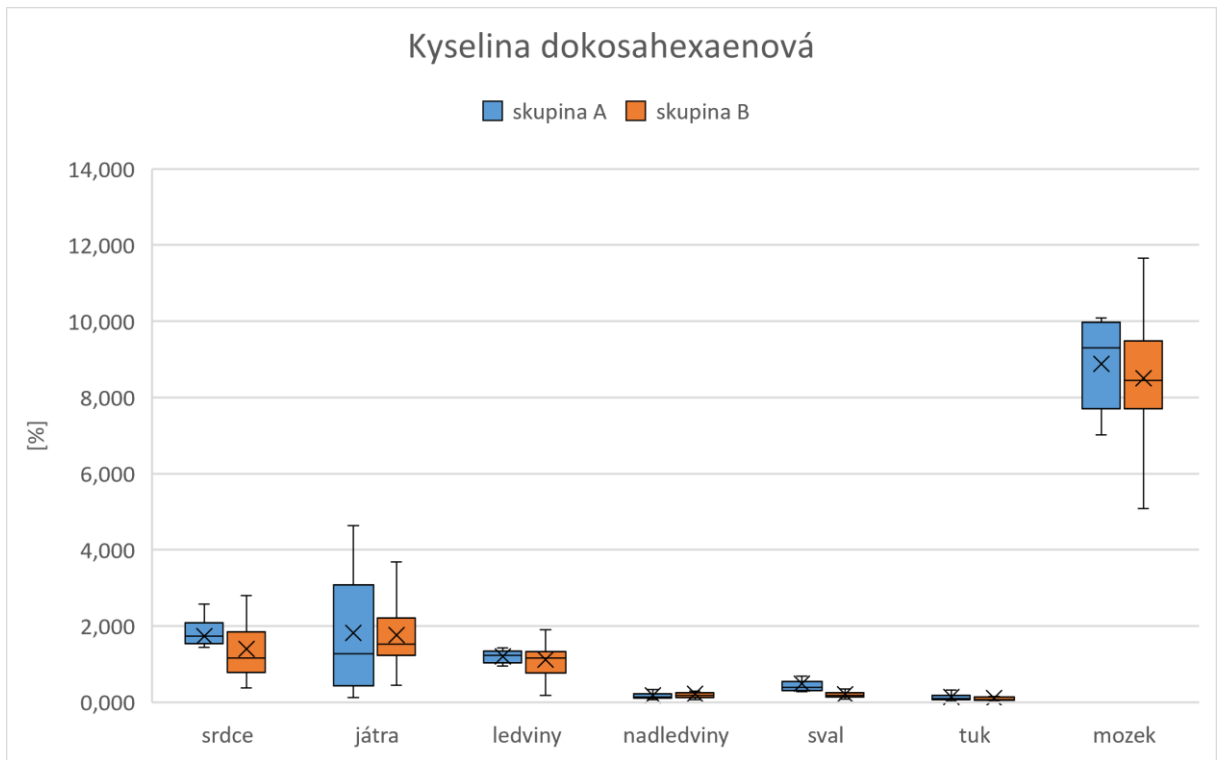
**Obrázek 11 Kyselina arachidonová– porovnání hladin mezi skupinami A a B**

Zdroj: Vlastní zpracování



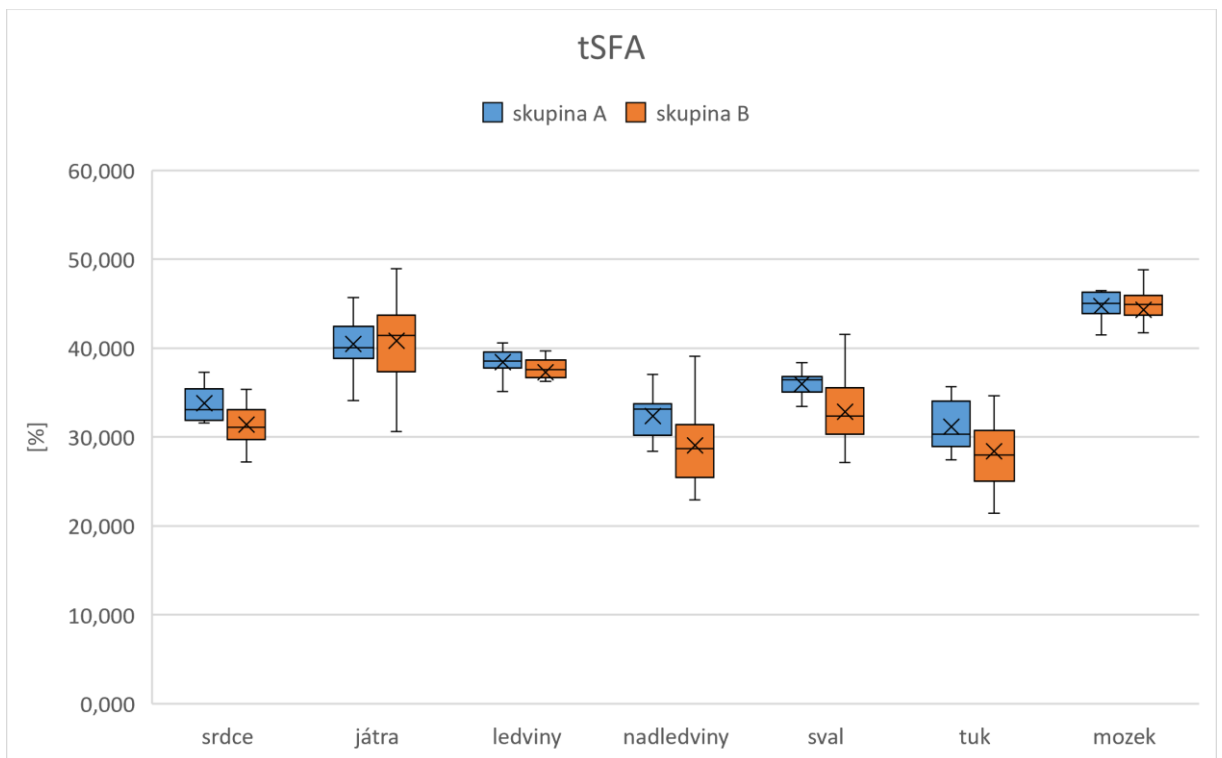
**Obrázek 12 Kyselina eikosapentaenová– porovnání hladin mezi skupinami A a B**

Zdroj: Vlastní zpracování



**Obrázek 13 Kyselina dokosahehexaenová – porovnání hladin mezi skupinami A a B**

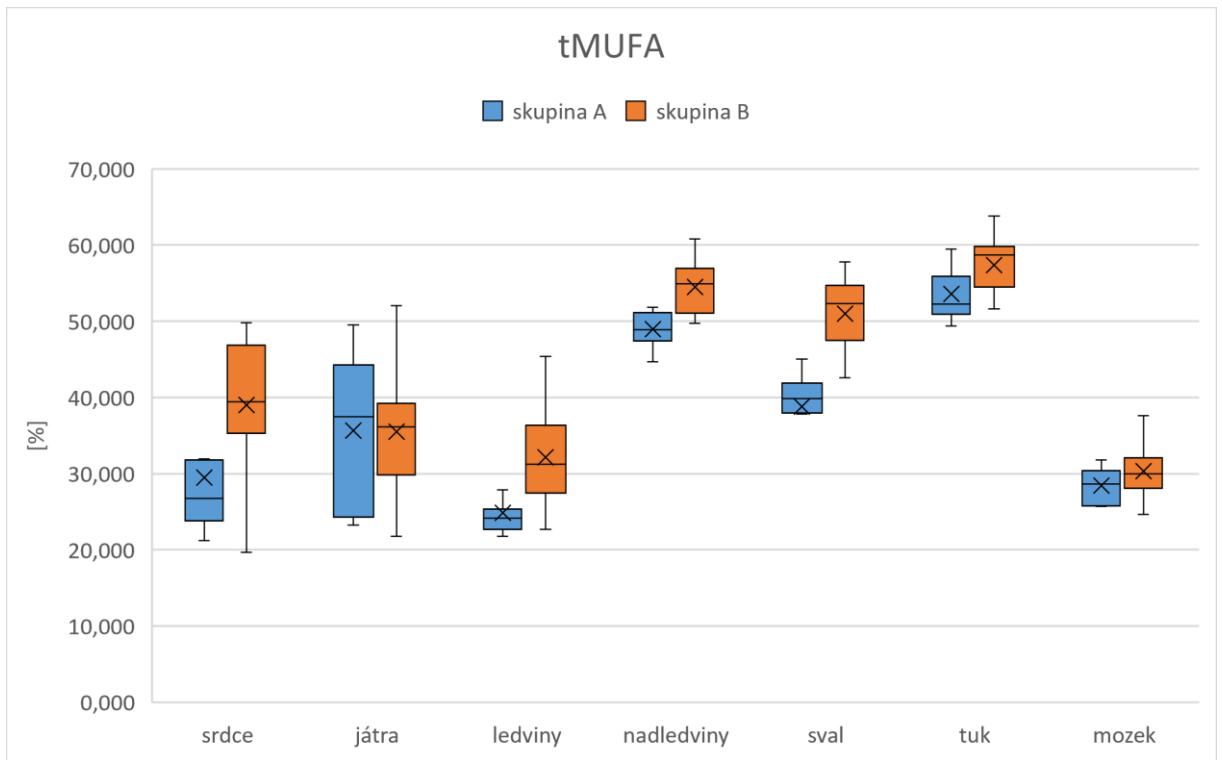
Zdroj: Vlastní zpracování



**Obrázek 14 tSFA – porovnání hladin mezi skupinami A a B**

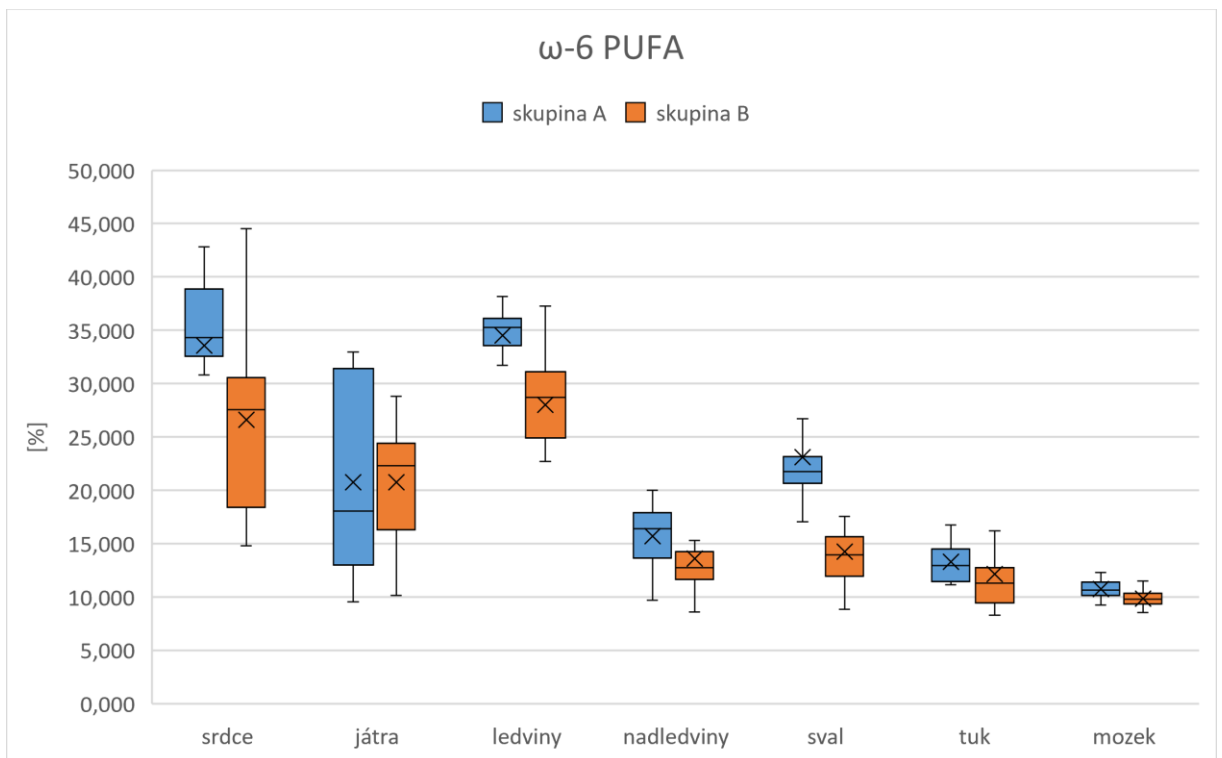
Zdroj: Vlastní zpracování





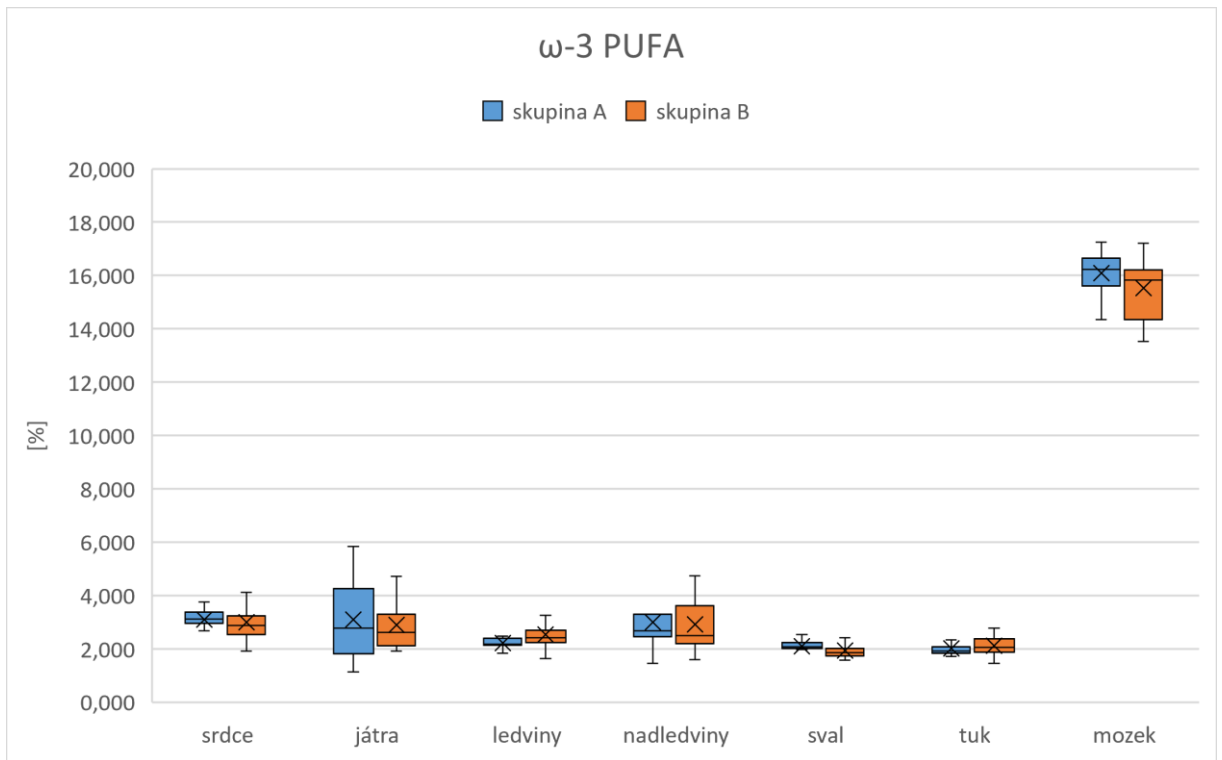
**Obrázek 15 tMUFA – porovnání hladin mezi skupinami A a B**

Zdroj: Vlastní zpracování



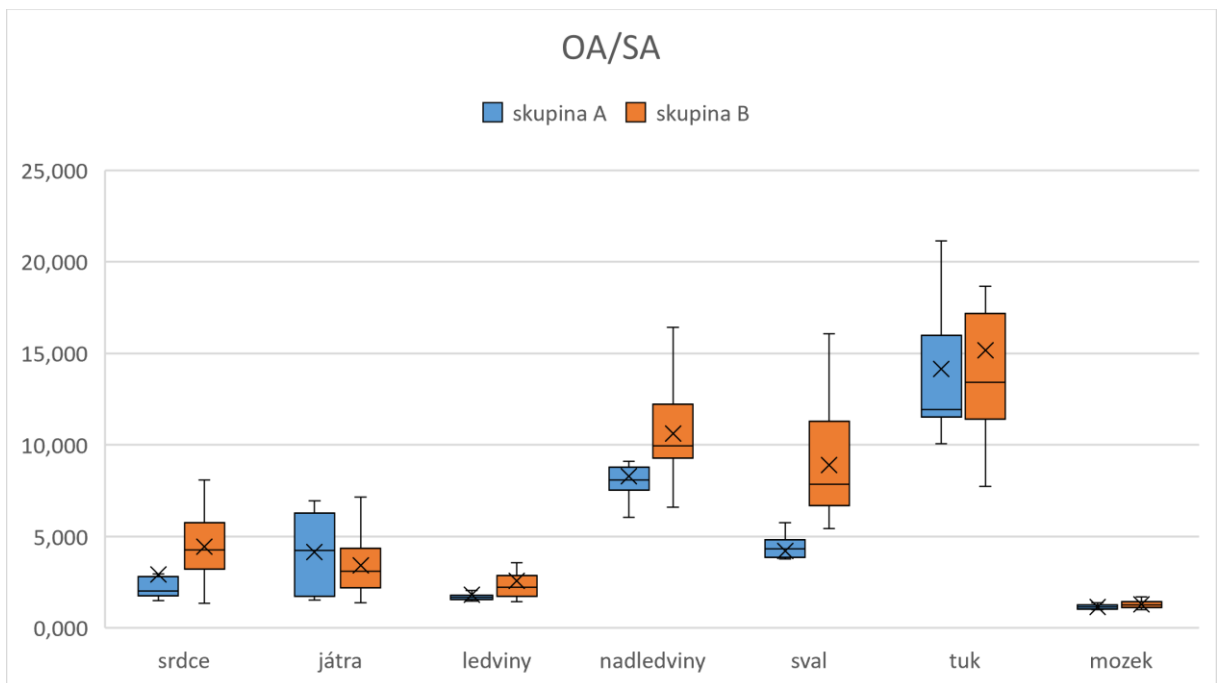
**Obrázek 16 ω-6 PUFA – porovnání hladin mezi skupinami A a B**

Zdroj: Vlastní zpracování



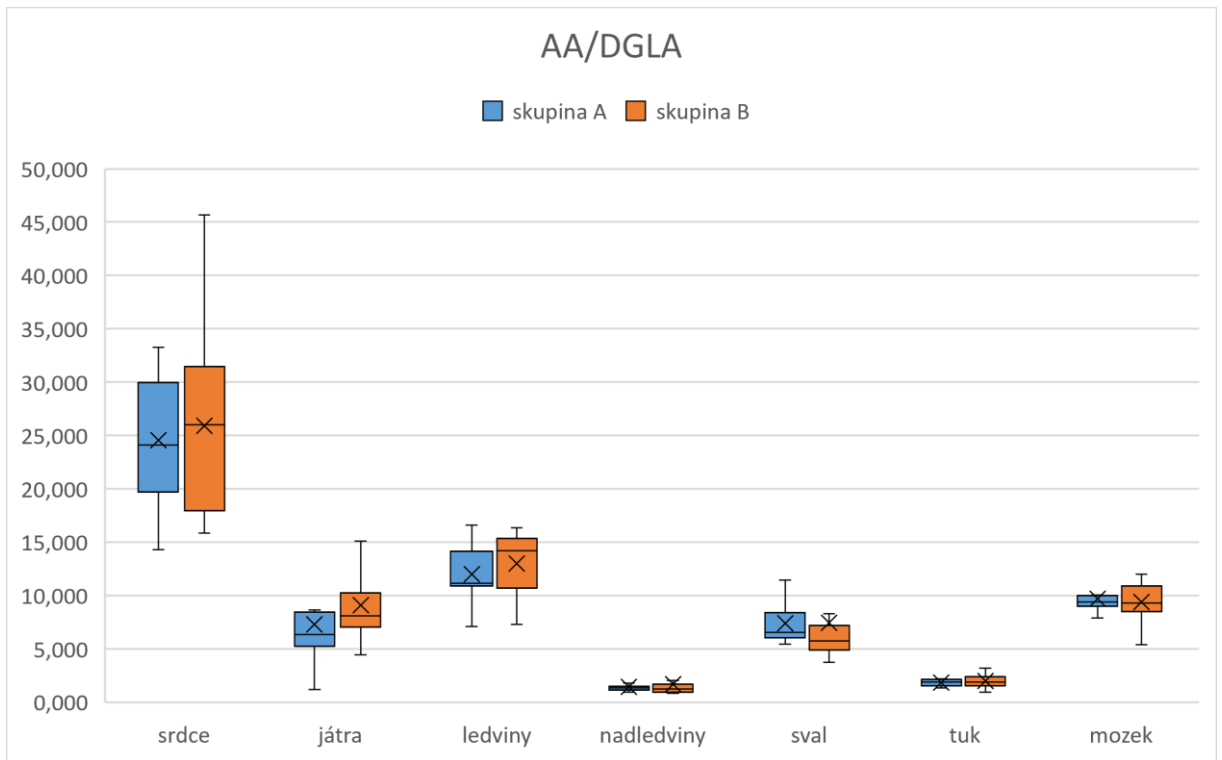
**Obrázek 17  $\omega$ -3 PUFA – porovnání hladin mezi skupinami A a B**

Zdroj: Vlastní zpracování



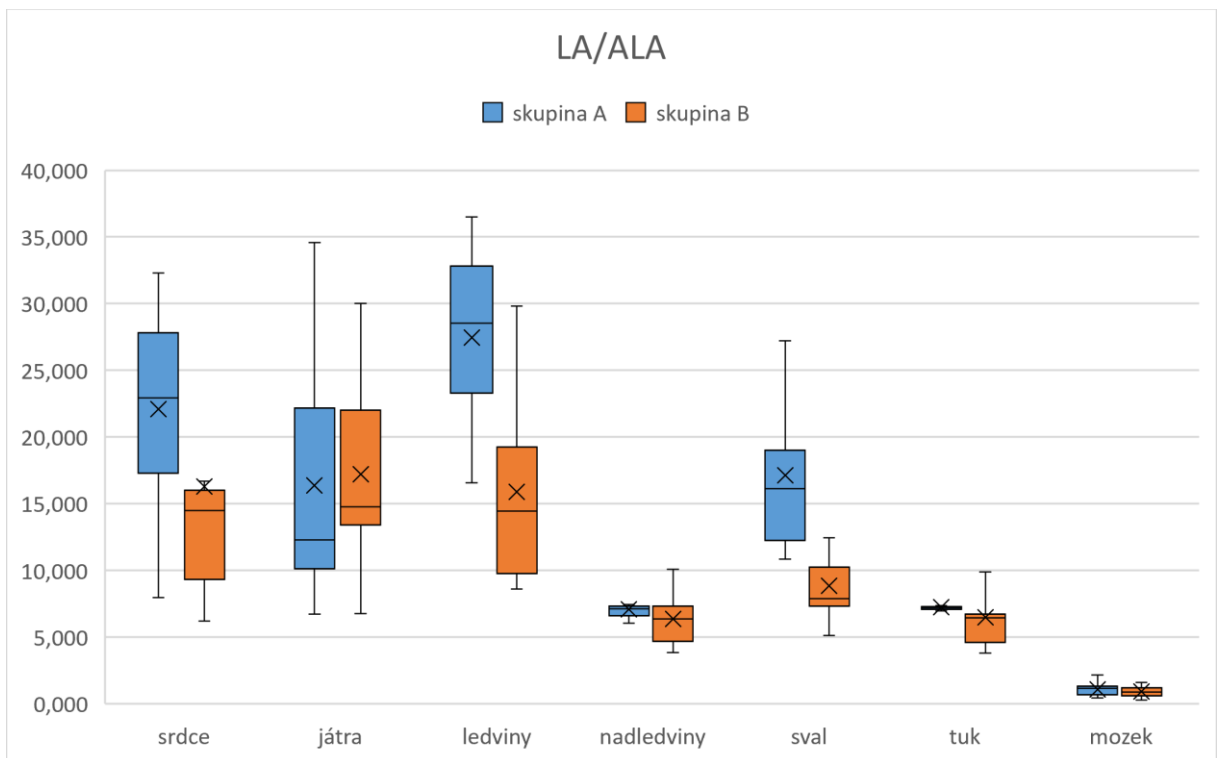
**Obrázek 18 OA/SA – porovnání hodnot mezi skupinami A a B**

Zdroj: Vlastní zpracování



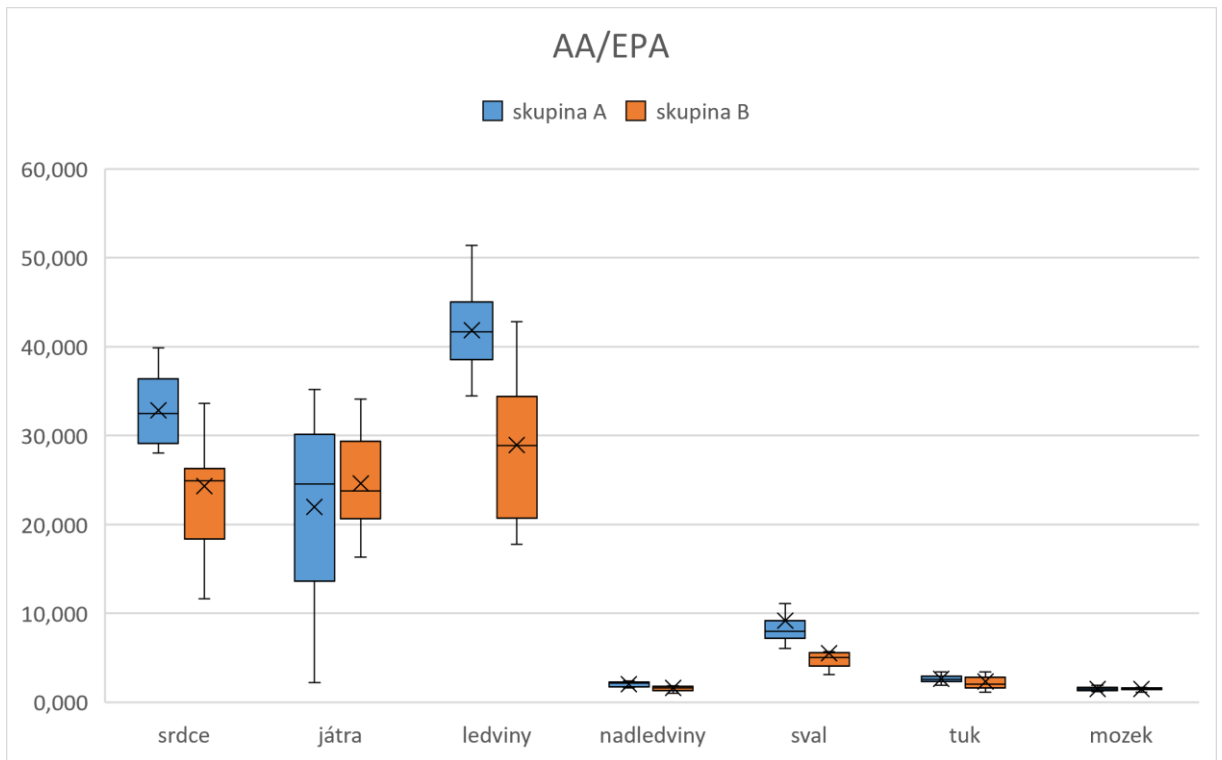
**Obrázek 19 AA/DGLA – porovnání hodnot mezi skupinami A a B**

Zdroj: Vlastní zpracování



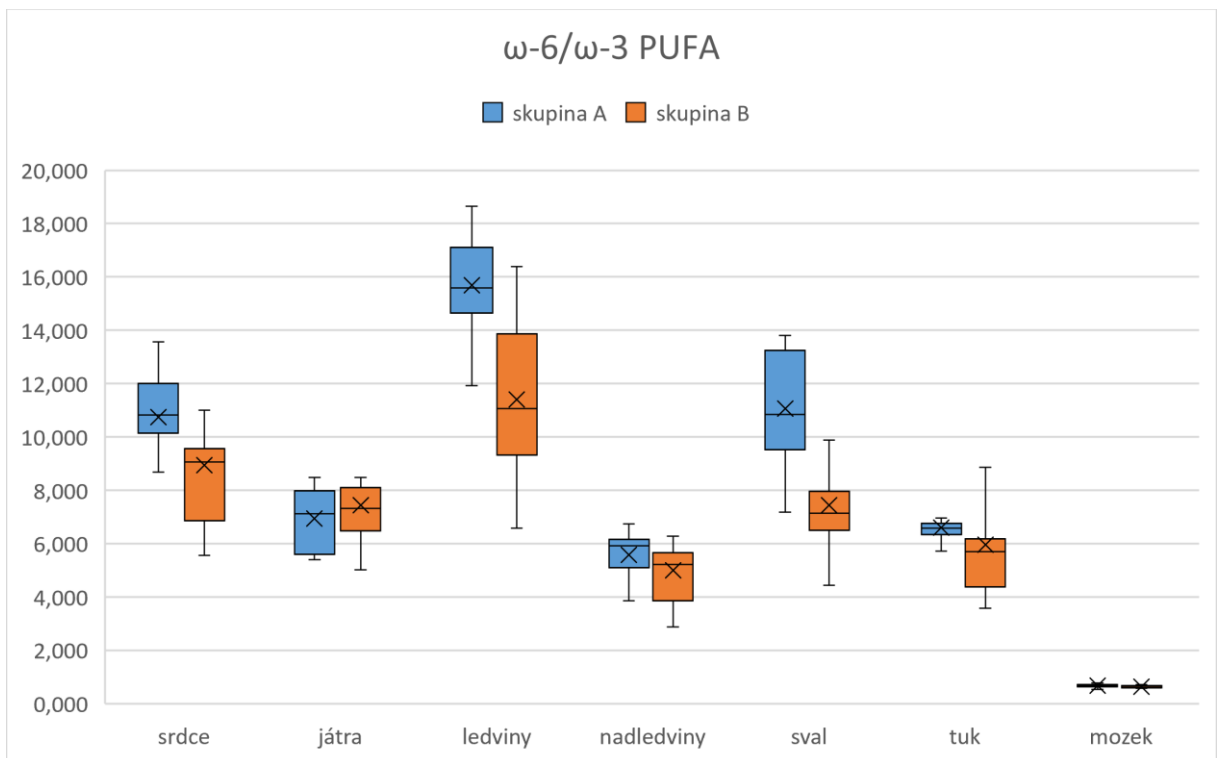
**Obrázek 20 LA/ALA – porovnání hodnot mezi skupinami A a B**

Zdroj: Vlastní zpracování



**Obrázek 21 AA/EPA – porovnání hodnot mezi skupinami A a B**

Zdroj: Vlastní zpracování



**Obrázek 22 ω-6/ω-3 PUFA – porovnání hodnot mezi skupinami A a B**

Zdroj: Vlastní zpracování