

**Univerzita Karlova v Praze  
1. lékařská fakulta**

Studijní program: Biomedicína

Studijní obor: Preventivní medicína



**UNIVERZITA KARLOVA  
1. lékařská fakulta**

**PharmDr. Zdeněk Chmelík**

**Možnosti ovlivnění markerů kardiovaskulárního rizika stravou  
obohacenou amarantovou moukou**

Dizertační práce

Školitel: Prof. MUDr. Michal Vrablík, Ph.D.

Praha, 2022

**Velice rád bych tomto místě poděkoval panu prof. MUDr. Michalu Vrablíkovi, Ph.D. za odborné vedení mé práce, konzultace, cenné rady a za čas, který mi v průběhu mého studia věnoval.**

**Dále bych rád poděkoval i panu doc. MVDr. Ivanu Herzigovi, CSc., za dlouholeté přátelství, podporu a směřování mých prvních kroků na poli vědecké práce už od dob mého pregraduálního snažení.**

**V neposlední řadě děkuji svojí rodině, která mne vždy podporovala ve studiu, dodávala mi energii a vytvářela potřebné zázemí.**

**Všem těmto lidem tuto svoji práci věnuji.**

# OBSAH

<b>SEZNAM ZKRATEK.....</b>	<b>8</b>
<b>ÚVOD.....</b>	<b>9</b>
<b>ZHODNOCENÍ SOUČASNÉHO STAVU POZNÁNÍ V PŘEDMĚTNÉ OBLASTI .....</b>	<b>11</b>
<b>1. Kardiovaskulární onemocnění.....</b>	<b>11</b>
1.1. Ateroskleróza .....	11
1.2. Rizikové faktory rozvoje aterosklerózy.....	12
1.2.1. Neovlivnitelné rizikové faktory .....	13
1.2.2. Ovlivnitelné rizikové faktory.....	14
1.2.3. Význam rizikových faktorů .....	15
<b>2. Patofyziologický úvod do poruch lipidového metabolismu .....</b>	<b>17</b>
2.1. Metabolismus lipoproteinů.....	17
2.1.1. Exogenní cesta.....	17
2.1.2. Endogenní cesta.....	18
2.1.3. Reverzní transport cholesterolu .....	18
2.2. Charakteristika dyslipidemie.....	18
2.3. Klasifikace dyslipidemií.....	18
2.3.1. Fredericksonova klasifikace .....	19
2.3.2. Klasifikace dle Evropské společnosti pro aterosklerózu (EAS).....	20
2.3.3. Patofyziologická klasifikace .....	22
<b>3. Léčebné postupy.....</b>	<b>30</b>
3.1. Farmakologické postupy .....	31
3.1.1. Blokátory 3-HMG-CoA reduktázy .....	31
3.1.2. Inhibitory vstřebávání cholesterolu .....	33
3.1.3. Fibráty.....	34
3.1.4. Sekvestranty žlučových kyselin.....	34
3.1.5. Kyselina nikotinová-niacin.....	35

3.1.6. CETP inhibitory.....	35
3.1.7. Inhibitory mikrozomálního triglyceridy transferujícího proteinu (MTP) .....	36
3.1.8. PCSK9 inhibitory .....	36
3.1.9. Inclisiran .....	37
3.2. Nefarmakologické léčebné postupy .....	37
3.2.1. Zvýšení pohybové aktivity, redukce nadváhy .....	37
3.2.2. Zanechání kouření .....	37
3.2.3. Dietní opatření při léčbě dyslipidemie.....	38
<b>4. Amarant.....</b>	<b>44</b>
4.1. Botanická charakteristika a historie.....	44
4.2. Chemické složení .....	44
4.2.1. Skvalen .....	44
4.2.2. Steroly.....	45
4.2.3. Proteiny.....	45
4.2.4. Mastné kyseliny .....	46
4.2.5. Vlákna .....	46
4.3. Biologické účinky produktů z amarantu.....	46
4.3.1. Vliv na celkový a LDL a HDL cholesterol.....	47
4.3.2. Účinné látky.....	51
4.3.3. Antidiabetický a antioxidační efekt .....	53
4.3.4. Antihypertenzní efekt .....	54
<b>SOUHRNNÝ KOMENTÁŘ K PUBLIKACÍM RELEVANTNÍM V PŘÍLOZE.....</b>	<b>56</b>
<b>5. Pracovní hypotéza a cíle práce.....</b>	<b>56</b>
<b>6. Materiál a metody .....</b>	<b>56</b>
6.1. Zvířata .....	57
6.2. Prostředí .....	57
6.3. Krmivo .....	57
6.4. Použité látky.....	58

6.5. Laboratorní metody .....	58
6.6. Statistická analýza .....	59
<b>7. Výsledky .....</b>	<b>59</b>
7.1. Efekt jednotlivých diet na hmotnost experimentálních zvířat .....	59
7.2. Efekt vysokoenergetické diety na hladinu cholesterolu .....	60
7.3. Efekt amarantové mouky na experimentálně indukovanou dyslipidemii .....	61
7.4. Efekt simvastatinu a skvalenu na experimentálně indukovanou dyslipidemii .....	62
<b>8. Diskuze.....</b>	<b>62</b>
8.1. Efekt jednotlivých diet na hmotnost experimentálních zvířat .....	62
8.2. Efekt vysokoenergetické diety na hladinu cholesterolu .....	63
8.3. Efekt amarantové mouky na experimentálně indukovanou dyslipidemii .....	63
8.4. Efekt simvastatinu a skvaalenu na experimentálně indukovanou dyslipidemii.....	63
<b>9. Závěry .....</b>	<b>64</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....</b>	<b>66</b>
<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>78</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>79</b>
<b>SOUHRNNÝ ABSTRAKT K PUBLIKACÍM V PŘÍLOZE RELEVANTNÍM K PŘEDMĚTNÉMU TÉMATU .....</b>	<b>80</b>
Abstrakt (CZ).....	80
Abstract (EN) .....	81
<b>PUBLIKAČNÍ ČINNOST AUTORA SOUVISEJÍCÍ SE ZKOUMANOU PROBLEMATIKOU.....</b>	<b>82</b>
Publikace se vztahem k dizertační práci.....	82
Publikace bez vztahu k dizertační práci .....	82
Prezentace na kongresech a sympoziích .....	83

<b>Prohlášení .....</b>	<b>85</b>
<b>Identifikační záznam .....</b>	<b>86</b>
<b>SEZNAM PŘÍLOH .....</b>	<b>87</b>

## SEZNAM ZKRATEK

Apo A I .....	apolipoprotein A I
Apo C-II.....	apolipoprotein C-II
Apo B-100.....	apolipoprotein B-100
CETP.....	cholesterol-ester transfer protein
CMP.....	cévní mozková příhoda
CRP .....	c-reaktivní protein
HDL .....	lipoprotein o vysoké hustotě
HMG-CoA .....	hydroxy-metyl-glutaryl koenzym A
ICHDK.....	ischemická choroba dolních končetin
ICHS .....	ischemická choroba srdeční
IDL.....	lipoprotein o střední hustotě
LCAT.....	lecitin cholesterol acyl transferáza
LDL.....	lipoprotein o nízké hustotě
Lp(a).....	lipoprotein a
LPL .....	lipoproteinová lipáza
MTP .....	microsomal triglyceride transfer protein
NPC1L1 .....	Nieman PickC1 like1 protein
PCSK9 .....	proprotein konvertáza subtilin kexin typ 9
TC .....	celkový cholesterol
VLDL.....	lipoprotein o velmi nízké hustotě

## ÚVOD

Kardiovaskulární (KV) onemocnění jsou nejčastější příčinou úmrtí v České republice i celosvětově. Na jejich rozvoji a manifestaci se významným způsobem podílí ateroskleróza. Ateroskleróza je multifaktoriální proces, jehož „rychlost“ zásadně ovlivňují rizikové faktory. Některé z nich jsou dané, kupříkladu věk, pohlaví, či rodinná anamnéza. Další, jako jsou poruchy lipidového metabolismu, arteriální hypertenze či diabetes mellitus, však ovlivnit můžeme. Právě intervence ovlivnitelných rizikových faktorů je základním nástrojem při snaze redukovat morbiditu i mortalitu kardiovaskulárních onemocnění.

Aby tento nástroj správně fungoval je zapotřebí identifikovat cíle. V rámci poruch lipidového metabolismu je velmi významným cílem hladina LDL cholesterolu. V současné době máme řadu důkazů z intervenčních i epidemiologických studií, např. AMORIS, INTERHEART, potvrzujících vztah mezi koncentrací LDL cholesterolu a kardiovaskulárním onemocněním (Walldius, et al., 2001) (Yusuf, et al., 2004), což z hladiny LDL cholesterolu učinilo nejzásadnější ovlivnitelný rizikový faktor a cíl terapie.

Na konečný výsledek snah o redukcí KV mortality i morbidity mají významný vliv použité léčebně preventivní metody. Hovoříme-li o LDL cholesterolu, pak máme na mysli intervence jak farmakologické, tak nefarmakologické, které společně vytváří komplexní strategii, jejímž cílem je dosáhnout hodnot LDL cholesterolu odpovídající kategorii kardiovaskulárního rizika stanoveného pro daného jedince např. pomocí algoritmu SCORE či vyplývajícího z konstelace rizikových faktorů. Z farmakologických prostředků jmenujme statiny, aktuálně nejvýznamnější skupinu hypolipidemik, o jejichž účinnosti podaly důkazy metaanalýzy několika velkých intervenčních studií. V oblasti nefarmakologické léčby pak zaujímají významnou roli vhodná dietní opatření. Jejich hlavní výhodou je, že jsou levná, univerzálně použitelná a zároveň nemají žádné vedlejší účinky ve smyslu klasických nežádoucích polékových reakcí. Zároveň jsou i synonymem zdravého životního stylu, který napomáhá pozitivně ovlivnit průběh a rozvoj nejen dyslipidemie, ale i dalších chorob.

V současné době jsou proto odborníky na výživu studovány produkty, které by jak z dietetického hlediska, tak i z hlediska aktivního pozitivního ovlivnění hladin



jednotlivých lipidových frakcí, mohly být nápomocny ve výše zmiňované nefarmakologické léčbě dyslipidemie. Jedním z potenciálně velmi nadějných se zdá být amarant, starověká obilnina hojně pěstována především v kulturách Inků a Mayů (Kalač & Moudrý, 2000), který se původně dostal do popředí zájmu vědců při pátrání po vhodné dietetické náhradě za masokostní moučku. Při dalším zkoumání byl posléze popsán pokles hladiny sérového cholesterolu u uživatelů produktů z amarantu. Amarantová mouka patří mezi klasické produkty z amarantu. Volba na ni padla především pro její snadnou zařaditelnost do diety jak lidí, tak i zvířat a také proto, že nebyla doposud významněji studována z hlediska jejího efektu na lipidový metabolismus.

# ZHODNOCENÍ SOUČASNÉHO STAVU POZNÁNÍ V PŘEDMĚTNÉ OBLASTI

## 1. Kardiovaskulární onemocnění

Mezi onemocnění srdce a oběhové soustavy řadíme celou řadu nosologických jednotek. Patří sem ischemická choroba srdeční (ICHS) a její formy, arteriální hypertenze, cévní mozková příhoda (CMP), ischemická choroba dolních končetin, chronická žilní insuficience, tromboflebitidy a flebotrombózy, kardiomyopatie a vrozené a získané srdeční vady (např. aortální stenóza). S ohledem na téma této práce si dovolíme pojem kardiovaskulární onemocnění používat především v souvislosti kardiovaskulárními onemocněními aterosklerotické etiologie, jejichž patofyziologickým podkladem je ateroskleróza.

Dle údajů UZIS jsou kardiovaskulární onemocnění nejčastější příčinou úmrtí a v roce 2018 na ně v České republice zemřelo 40 % mužů a 47 % žen (ÚZIS ČR, 2018).

### 1.1. Ateroskleróza

Ateroskleróza provází lidstvo od nepaměti. Již na mumiích ze starého Egypta či dokonce na „ledovém“ muži z Tyrolska bylo prokázáno aterosklerotické postižení karotid dokonce s kalcifikacemi (Češka, et al., 2012). I když je ateroskleróza považována za generalizovaný proces, je výskyt aterosklerotických lézí specificky vázán na místa, která jsou pro jejich vznik anatomicky náchylnější. Konkrétně můžeme jmenovat koronární arterie, karotidy, tepny Willisova okruhu, hrudní aortu či tepny dolních končetin (Češka, et al., 2012).

Z hlediska etiopatogeneze je dnes ateroskleróza považována za chronické progredující zánětlivé onemocnění cévní stěny. Jakkoli se původně uvažovalo, že její příčinou je prostá akumulace lipidů (tzv. lipidová teorie), která vycházela z pozorování vztahu mezi rozvojem aterosklerózy a vysokou hladinou cholesterolu především ve frakci LDL částic. Posléze se začala dostávat do popředí teorie založená na poškození endotelu, přičemž k tomuto poškození může dojít mechanicky, chemicky či imunologicky. V současné době považujeme aterosklerózu za multifaktoriální proces, na jehož počátku stojí dysfunkce endotelu charakterizovaná nerovnováhou mezi vazoaktivními mechanizmy a hemokoagulačními působky, která vyústí v převahu procesů aterogenních, vazospastických a protrombotických. Tyto děje následně vedou k vyšší propustnosti

cévní stěny pro lipidy (zejména LDL-částice) a makrofágy, dochází k oxidaci LDL částic, což společně s proliferací buněk hladké svaloviny vede ke vzniku a růstu aterosklerotického cévního plátu.

## **1.2. Rizikové faktory rozvoje aterosklerózy**

Příčiny vedoucí k předčasnému rozvoji aterosklerotických lézí byly studovány v mnoha pracích. Již ve studii provedené Hopkinsem a Williamsem publikované v roce 1986 jich bylo popsáno na 246 (Hopkins & Williams, 1986). Rizikové faktory aterosklerózy, tedy proměnné, které jsou v prospektivních studiích statisticky významným rizikovým ukazatelem k později se manifestující chorobě, aniž by musely být její příčinou, lze charakterizovat následujícími atributy: mohou přispívat ke vzniku aterosklerózy, podporují usazování lipidů v cévní stěně, potencují vznik trombózy, urychlují manifestaci cévní nestability a insuficience (Fait, et al., 2011).

Tradičně dělíme rizikové faktory na neovlivnitelné a ovlivnitelné. Mezi neovlivnitelné patří věk, pohlaví, genetická výbava, pozitivní rodinná anamnéza a přítomnost kardiovaskulárního onemocnění. Ovlivnit naopak můžeme dyslipidemii, krevní tlak, kouření, dietní návyky, pohybovou aktivitu a další.

**Tabulka 1 Tabulka shrnující nejdůležitější rizikové faktory aterosklerózy**

Ovlivnitelné	Neovlivnitelné
Dyslipidemie	Věk
Diabetes mellitus	Pohlaví
Arteriální hypertenze	Genetické faktory
Systémové zánětlivé onemocnění	Pozitivní rodinná anamnéza
	Existující kardiovaskulární onemocnění
Kouření	
Aterogenní dieta	
Nedostatek fyzické aktivity	
Abdominální obezita	
Psychosociální faktory (např. stres)	

### **1.2.1. Neovlivnitelné rizikové faktory**

Neovlivnitelné rizikové faktory mohou být u daného jedince přítomny po celý život, což platí kupříkladu pro pozitivní rodinnou anamnézu či pohlaví, nebo se mohou objevit až v průběhu života, což platí např. pro přítomnost kardiovaskulárního onemocnění. S ohledem na fakt, že ateroskleróza je dlouhodobý proces a tedy i riziko její manifestace stoupá s věkem, řadíme i věk mezi neovlivnitelné rizikové faktory.

- **Věk**

S rostoucím věkem a postupným procesem remodelace cévní stěny roste i riziko rozvoje aterosklerózy. Za hranici rizika považujeme u mužů dosažení 45 let a u žen s, ohledem na protektivní vliv estrogenů, 55 let.

- ***Pohlaví***

Ochranný vliv estrogenů související s vyššími hladinami HDL cholesterolu je příčinou, proč považujeme mužské pohlaví za rizikovější z hlediska výskytu ICHS (toto platí až do menopauzy).

- ***Genetické faktory***

Hladiny cholesterolu jsou podmíněny mimo jiné mnoha genetickými faktory. Byla identifikována onemocnění zapříčiněná poruchou jednoho genu (homozygotní familiární hypercholesterolemie) či více genů (polygenní hypercholesterolemie). Hladina, na ostatních lipidových faktorech nezávislého rizikového faktoru, lipoproteinu(a) (Lp(a)) je také z velké části determinována geneticky. Dále bylo zjištěno, že existují i genetické lokusy související s předčasným výskytem kardiovaskulárních onemocnění, aniž by kódovaly některý z tradičních rizikových faktorů.

### ***1.2.2. Ovlivnitelné rizikové faktory***

Z hlediska ovlivnění celkového kardiovaskulárního rizika má největší význam intervence dyslipidemie a arteriální hypertenze (Vrablík, 2015), které společně s kouřením patří mezi nejvýznamnější determinanty kardiovaskulárního rizika. Opomenout nelze ani diabetes mellitus. Toto onemocnění je samo doprovázeno vyšším výskytem kardiovaskulárních příhod a bývá spojeno s přítomností dalších rizikových faktorů, například abdominální obezity.

- ***Dyslipidemie a další lipidové rizikové faktory***

Základním rizikovým faktorem, a i cílem terapie, zůstává hladina LDL, cholesterolu. Existuje řada důkazů z intervenčních i epidemiologických studií potvrzujících vztah mezi koncentrací LDL cholesterolu a kardiovaskulárním onemocněním (např. AMORIS, INTERHEART). Zvýšené riziko ICHS je spojováno i s vysokými koncentracemi apolipoproteinu B (součást všech aterogenních částic) a nízkými koncentracemi apolipoproteinu A-I, přičemž apolipoprotein B obsažený ve všech hlavních aterogenních částicích je pro posouzení kardiovaskulárního rizika přesnějším ukazatelem než samotný LDL cholesterol, což ukázaly i zmíněné studie (Walldius, et al., 2001), (Yusuf, et al., 2004). V oblasti farmakologické léčby pochází nejvíce důkazů ze studií se statiny. V

oblasti nefarmakologické léčby nás o významu snižování LDL cholesterolu přesvědčují výsledky ze studií POSCH a PREDIMED.

Mezi další významné lipidové rizikové faktory je možno zařadit triglyceridy. Zvýšená hladina triglyceridů může být doprovázena nízkou hladinou HDL cholesterolu a výskytem malých denzních, vysoce aterogenních, LDL částic (viz kap. 2.3.), hovoříme o tzv. aterogenní dyslipidemii. Vyšší hladiny triglyceridů jsou dnes hodnoceny zejména jako marker na triglyceridy bohatých (remnantních) částic, které se zásadně podílejí na modifikaci tzv. reziduálního lipidového rizika.

Samostatným, na ostatních lipidových faktorech nezávislým, rizikovým faktorem je hladina Lp(a) (Emerging Risk Factors Collaboration, et al., 2009), což zřejmě souvisí také s jeho efektem na koagulaci. Lp(a) kompetuje s plasminogenem o receptor, čímž dochází ke snížení jeho fibrinolytické aktivity.

#### ▪ *Arteriální hypertenze*

Meta analýza 61 studií, které zahrnovala data téměř 1 000 000 osob prokázala silnou korelaci mezi rizikem kardiovaskulární mortality a vyšší krevního tlaku (Lewington, et al., 2002) (ÚZIS ČR, 2018). Autoři studie uvádí, že dlouhodobé snížení systolického krevního tlaku o 10 mm Hg nebo diastolického o 5 mm Hg by u pacientů ve středním věku mělo snížit riziko úmrtí na cévní mozkovou příhodu o 40 % a na koronární příhodu o 30 %. SPARCL

#### ▪ *Kouření cigaret*

Význam kouření ve vztahu k absolutnímu riziku výskytu fatální kardiovaskulární příhody reflektují i tabulky SCORE. Z hlediska prevence má zásadní význam informace, že již po několika měsících po zanechání kouření se riziko rapidně snižuje. Uvádělo se, že na úroveň nekuřáka se pak dostává přibližně po 10-15 letech, nicméně dle dat prezentovaných v roce 2013 na setkání American Heart Association v Dallasu tak může dostat výrazně dříve a to již po 8 letech abstinence (Ahmed, 2013).

### **1.2.3. Význam rizikových faktorů**

Rizikové faktory jsou statisticky významnými ukazateli pro zvýšené riziko pozdější manifestace kardiovaskulárního onemocnění. Dojde-li k výskytu více rizikových faktorů

u konkrétního jedince, což je v běžné klinické praxi v zásadě pravidlem, jejich efekt se nesčítá, nýbrž násobí. Též se ukazuje, že v kontrole rizikových faktorů je důležitá jak komplexnost, tak i včasnost zahájení odpovídajících léčebných opatření (Yusuf, et al., 2004).

## 2. Patofyziologický úvod do poruch lipidového metabolismu

Metabolické dráhy lipoproteinových částic jsou velmi složité. Poruchy v těchto drahách mohou vést k celé řadě onemocnění. Klasifikace poruch lipidového metabolismu s ohledem na poznání a potřeby praxe prodělala vývoj a v současné době jich máme k dispozici několik.

### 2.1. Metabolismus lipoproteinů

Kvůli špatné rozpustnosti ve vodném prostředí se lipidy a steroidní látky nacházejí v plazmě ve formě hydrofilních lipoproteinových částic sférického tvaru skládající se z jádra tvořeného hydrofobními triglyceridy a estery cholesterolu a z obalu složeného z polárnějších fosfolipidů, neesterifikovaného cholesterolu a jedné či více bílkovin označovaných jako apolipoproteiny. Jednotlivé lipoproteinové částice se liší obsahem lipidů a druhem navázaného apolipoproteinu.

Rozdílu v obsahu lipidů je možno využít k dělení lipoproteinů na chylomikrony, lipoproteiny o velmi nízké hustotě (VLDL), lipoproteiny o nízké hustotě (LDL), lipoproteiny o střední hustotě (IDL) a lipoproteiny o vysoké hustotě (HDL). Další možností je členění lipoproteinů na základě velikosti náboje bílkovin. V tomto případě členíme lipoproteiny na chylomikrony,  $\alpha$ -lipoproteiny (odpovídají HDL), pre- $\beta$ -lipoproteiny (odpovídají VLDL) a  $\beta$ -lipoproteiny (odpovídají IDL).

Lipoproteinové částice podléhají složité metabolické přeměně, na které se významně uplatňují receptory, z nichž klíčovou roli má LDL receptor.

V rámci metabolismu lipoproteinů rozlišujeme endogenní a exogenní metabolickou cestu a reverzní transport cholesterolu.

#### 2.1.1. Exogenní cesta

Tato metabolická cesta přenáší především triglyceridy a cholesterol ze stravy ve formě chylomikronů. Chylomikrony jsou secernovány ze střeva za pomoci Microsomal Triglyceride-Transferprotein (MTP). V plazmě jsou následně štěpeny lipoproteinovou lipázou (LPL), enzymem nacházejícím se na povrchu endoteliálních buněk. Kofaktorem LPL je apolipoprotein C-II (apo C-II). Uvolněné mastné kyseliny mohou vstoupit do extrahepatálních tkání (svaly, tuková tkáň, arterie). Chylomikronové zbytky, tzv.



remnanty, jsou vychytávány v játrech a cholesterol v nich obsažený může být využit k biosyntéze lipoproteinů či může zpětnovazebně snížit biosyntézu, při vzestupu intracelulární koncentrace cholesterolu.

### **2.1.2. Endogenní cesta**

Tato metabolická cesta přenáší formou VLDL částic cholesterol a triglyceridy z jater do periferních tkání. Zde jsou částice VLDL hydrolyzovány lipoproteinovou lipázou. Uvolněné „remnantní“ částice jsou následně z cirkulace opět odstraněny játry, nebo mohou být využity např. k syntéze LDL částic.

Cholesterol obsažený v LDL částicích slouží převážně k budování membrán mimojaterních tkání, které si jej za pomoci LDL receptorů mohou z krve získat. Významnou roli ve vazbě LDL částice na LDL receptor hraje apolipoprotein B-100 (apo B-100).

### **2.1.3. Reverzní transport cholesterolu**

Tato metabolická cesta začíná uvolněním neesterifikovaného cholesterolu z membrán buněk periferních tkání a jeho inkorporací do částic HDL. Toto se děje za pomoci enzymu lecitin-cholesterol-acyl-transferázy (LCAT), která přemění neesterifikovaný cholesterol na esterifikovaný cholesterol a následně transportován do jater.

## **2.2. Charakteristika dyslipidemie**

Dyslipidemie jsou metabolická onemocnění hromadného výskytu charakterizovaná nejen kvantitativními, ale i kvalitativními změnami plazmatických lipidů a lipoproteinových částic.

Jsou důsledkem zvýšené syntézy či sníženého katabolismu lipoproteinových částic transportujících tuky v plazmě (Češka, 2019). Hlavním klinickým projevem dyslipidemií je předčasná manifestace aterosklerózy, která se projevuje vznikem ICHS, CMP či ICHDK.

### **2.3. Klasifikace dyslipidemií**

Základním rozdělením dyslipidemií je členění dle etiologie na dyslipidemie **primární** – tedy geneticky podmíněné, které jsou způsobeny genetickou odchylkou podmiňující

poruchu metabolismu lipoproteinů na úrovni jejich syntézy či katabolismu, a dyslipidemie **sekundární** vznikající jako důsledek jiných onemocnění (hypotyreózy, nefrotického syndromu, chronického selhání ledvin, alkoholismu, ...). Je možné rozlišovat také dyslipidemie **smíšené** etiologie, které popisují stav, kdy se genetická porucha v rámci lipidového metabolismu manifestuje teprve v kombinaci s nevhodným životním stylem nebo onemocněním, které vede k destabilizaci lipoproteinového metabolismu (Češka, 2019). Tento typ rozdělení je důležitý především pro volbu léčebné strategie, kdy se u sekundárně vzniklých poruch lipidového metabolismu snažíme léčit především primární onemocnění, zatímco u poruch primárních či smíšených se přímo zaměřujeme na normalizaci hladin jednotlivých lipoproteinových frakcí za pomoci farmakologické i nefarmakologické intervence. Kromě tohoto základního rozdělení se používá i celá řada dalších. Za zmínku stojí ponejvíce následující způsoby dělení, které vycházejí z různých pohledů na danou problematiku a jsou pak více či méně praktické pro používání v každodenní praxi.

### ***2.3.1. Fredericksonova klasifikace***

Tento způsob členění patří mezi starší a dnes se již nepoužívá. Je založen na výsledcích získaných elektroforézou lipoproteinů na papíře a kvantitativní analýzou cholesterolu a triglyceridů. Vyjadřuje tedy pouze aktuální stav lipidového a lipoproteinového metabolismu. Na základě této klasifikace rozlišujeme celkem šest typů poruch značených I, IIa, IIb, III, IV a V z nichž nejčastější jsou IIa, IIb, a IV. Základní charakteristiky jednotlivých typů shrnuje tabulka 2 (Frederickson & Lees, 1965).

**Tabulka 2** Fredericksonova klasifikace dle (Frederickson & Lees, 1965)

Typ	Cholesterol	LDL cholesterol	Triglyceridy	Abnormalita lipoproteinů
<b>I</b>	normální nebo zvýšený	nízký	zvýšeny	nadbytek chylomikronů
<b>IIa</b>	zvýšený	zvýšený na víc než 5 mmol/l	normální	nadbytek LDL
<b>IIb</b>	zvýšený	zvýšený	zvýšeny	nadbytek LDL a VLDL
<b>III</b>	zvýšený	nízký nebo normální	výrazně zvýšeny	nadbytek zbytků chylomikronů a IDL
<b>IV</b>	normální	normální	zvýšeny	Nadbytek VLDL
<b>V</b>	zvýšený	normální	výrazně zvýšeny	Nadbytek chylomikronů a VLDL

### **2.3.2. Klasifikace dle Evropské společnosti pro aterosklerózu (EAS)**

Klasifikace dle EAS je v klinické praxi asi nejrozšířenější. Její největší výhodou je její jednoduchost a za předpokladu, že k této klasifikaci doplníme i posouzení HDL cholesterolu je pro běžnou praxi dostačující (Češka, et al., 2004).

Klasifikace dle EAS rozlišuje následující typy dyslipidemií.

- ***Izolovaná hypercholesterolemie***

Je charakterizována zvýšenou koncentrací celkového, resp. LDL, cholesterolu při normální koncentraci triglyceridů.

- ***Smíšená dyslipidemie***

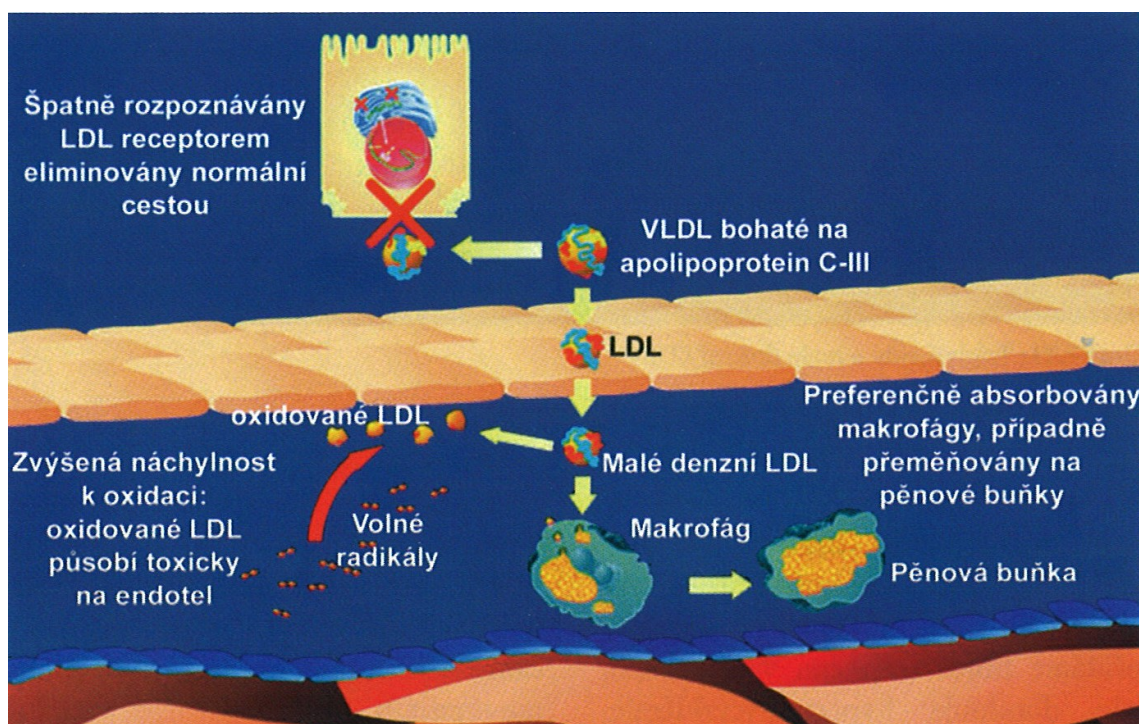
Pro tuto dyslipidemii je typické současné zvýšení celkového cholesterolu i triglyceridů.

- ***Izolovaná hypertriglyceridemie***

U izolované hypertriglyceridémii dochází k dominantní a převažující elevaci triglyceridů. Často bývá též snížena i hodnota HDL cholesterolu.

Dále je dnes nutné samostatně zmínit **aterogenní dyslipidemii**, někdy též ne zcela přesně nazývané „diabetická nebo inzulinorezistentní dyslipidemie“, pro kterou je charakteristický nález v podobě zvýšené hladiny triglyceridů a snížené hladiny HDL cholesterolu, zatímco hladina LDL cholesterolu je obvykle pouze mírně zvýšená či dokonce normální. LDL cholesterol je však u tohoto typu dyslipidemie výrazně více nesen malými denzními LDL částicemi, které jsou vysoce aterogenní (Češka, et al., 2004). Malé denzní LDL částice totiž snadněji pronikají endotelem, kde jsou vychytávány makrofágy, jež se následně mění na pěnové buňky tvořící základ aterosklerotických lézí. Dále mají malé denzní LDL částice nižší afinitu k LDL receptorům (změna konfigurace apolipoproteinu B v malé částici) a v neposlední řadě jsou i snadno oxidovatelné (Češka, et al., 2012).

Obrázek 1 Aterogenicita malých denzních LDL částic (Češka, et al., 2012)



Zdroj: Češka, R. a další, 2012. Cholesterol a ateroskléróza, léčba dyslipidemií. Praha: Triton.

### 2.3.3. Patofyziologická klasifikace

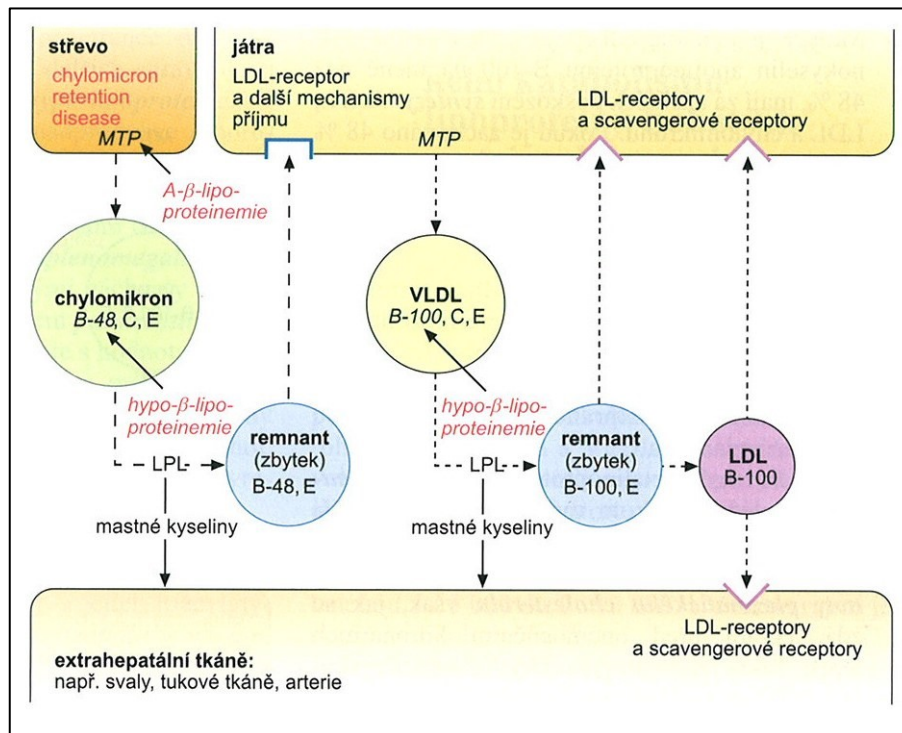
Patofyziologická klasifikace není pro používání v běžné praxi natolik rozšířená jako klasifikace dle EAS. Její přínos spočívá v tom, že se zaměřuje na popis metabolických pochodů, které mohou být v rámci dyslipidemií postiženy a umožňuje nám tak lépe pochopit konsekvence, které jednotlivé typy poruch lipidového metabolismu mohou mít. Dyslipidemie je možno z tohoto pohledu členit do šesti skupin na základě toho, která část lipidového metabolismu je postižena. (Windler & Gathof, 2003).

#### ▪ *Poruchy tvorby lipoproteinů bohatých na triglyceridy*

V rámci této skupiny nalézáme dvě onemocnění. První je familiární abetalipoproteinemie též nazývaná „Chylomicron retention disease“ (obr. 3), způsobená mutacemi v genu MTP, při které je porušena sekrece chylomikronů v tenkém střevě. Onemocnění se projevuje malabsorpcí se steatoreou, nízkými koncentracemi vitaminů rozpustných v tucích (hlavně A, E); popisována je také vakuolizace střevní stěny. Druhým onemocněním je **hypo- $\beta$ -lipoproteinemie** vznikající v důsledku nulové alely a

mutace apolipoproteinů B (obr. 2). U tohoto onemocnění se popisuje výskyt hypovitaminózy a poruch prospívání (heterozygotní forma onemocnění je ovšem zpravidla bez klinických symptomů a zdá se, že nízké hodnoty plazmatického cholesterolu chrání takto postižené jedince před výskytem KV onemocnění).

**Obrázek 2 Poruchy tvorby triglyceridových lipoproteinů (Windler & Gathof, 2003)**



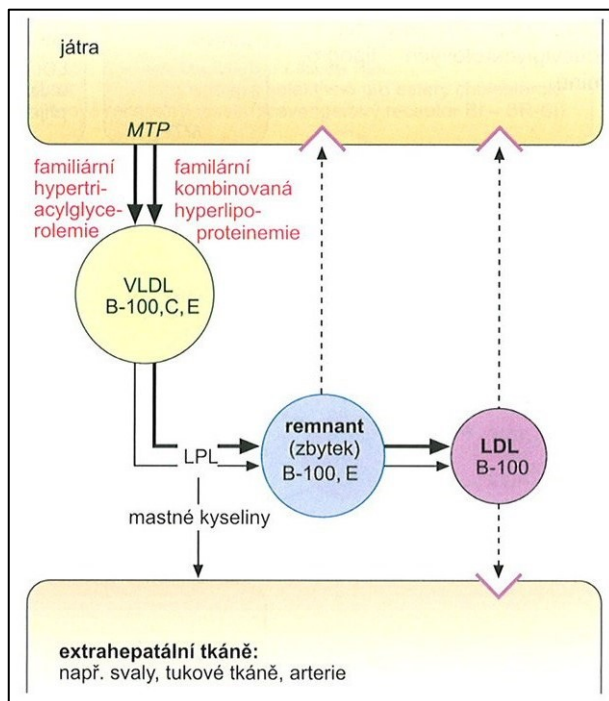
Zdroj: Windler, E., Gathof, B. S., 2003. Poruchy metabolismu tuků a purinů. V: Patologická fyziologie. Praha: Grada Publishing

- **Nadprodukce VLDL**

Nadprodukce VLDL se může vztahovat k triglyceridům nebo apolipoproteinu B-100. Důsledkem je pak zmnožení VLDL a LDL částic. V případě nadprodukce apolipoproteinu B-100 při normální syntéze triglyceridů vzniká **familiární kombinovaná hyperlipidemie** (obr. 4), která je jednou z nejčastějších příčin srdečních infarktů ve středním věku. U této poruchy se vyskytují i *xantelzmata* a *arcus cornae lipidoides*, nikoliv však šlachové xantomy. V případě nadprodukce triglyceridů při normální syntéze apolipoproteinu B-100 vzniká **sporadická** a **familiární hypertriglyceridemie** (obr. 3). Familiární forma se projevuje zvýšenými hodnotami

triglyceridů, hepatosplenomegálií, eruptivními xantomy a opakovanými záchvaty bolesti břicha, které jsou často projevem akutní pankreatitidy. Smíšená hyperlipoproteinemie s hodnotami triglyceridů přes 10 mmol/l se může projevit i na základě **exogenních vlivů**, jako je například zvýšený přívod sacharidů spojený s nadváhou, abusus alkoholu či špatně kompenzovaný diabetes mellitus (inzulin již v nízkých dávkách tlumí syntézu VLDL a lipolýzu v tukové tkáni).

**Obrázek 3 Nadprodukce VLDL (Windler & Gathof, 2003)**

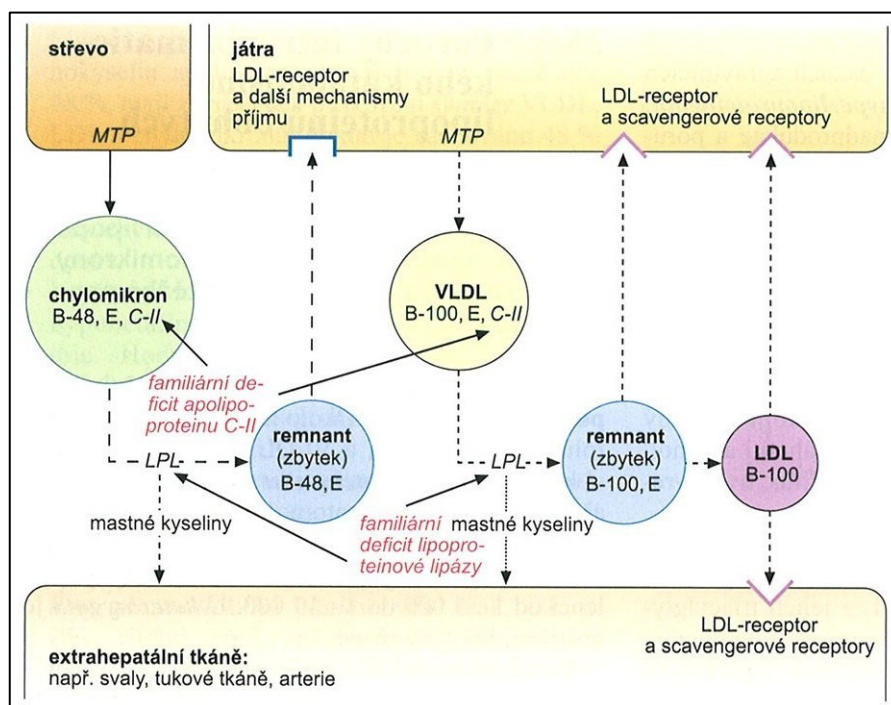


Zdroj: Windler, E., Gathof, B. S., 2003. Poruchy metabolismu tuků a purinů. V: Patologická fyziologie. Praha: Grada Publishing

- **Poruchy katabolismu lipoproteinů bohatých na triglyceridy**

Defekty hydrolýzy triglyceridů lipoproteinovou lipázou akumulují chylomikrony, resp. remnantní částice; jejich následkem mohou být bolestivé abdominální ataky či akutní pankreatitidy, a to často již v dětství. Příčina spočívá buď v poruše apolipoproteinu C-II, který je aktivátorem nezbytným pro správnou funkci lipoproteinové lipázy, mluví se pak o **familiárním deficitu apolipoproteinu C-II**, nebo je postižena samotná lipoproteinová lipáza, tehdy hovoříme o **familiárním deficitu lipoproteinové lipázy** (obr. 4).

**Obrázek 4 Poruchy katabolismu lipoproteinů bohatých na triglyceridy (Windler & Gathof, 2003)**



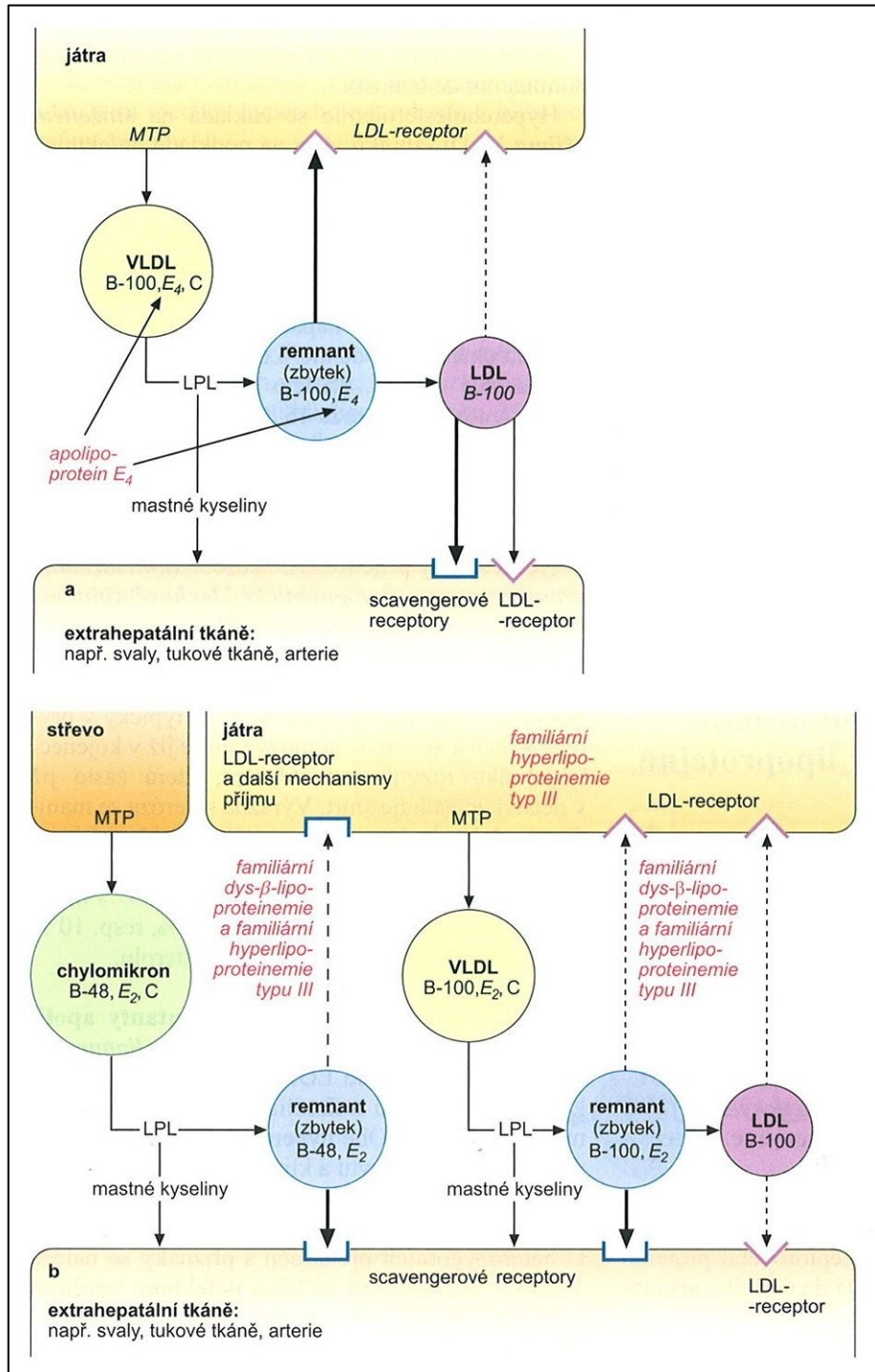
Zdroj: Windler, E., Gathof, B. S., 2003. Poruchy metabolismu tuků a purinů. V: Patologická fyziologie. Praha: Grada Publishing

▪ **Poruchy vychytávání na triglyceridy bohatých lipoproteinů hepatocyty**

Všechny varianty apolipoproteinu E ovlivňují jaterní clearance remnantních lipoproteinů, tj. snižují či zvyšují plazmatický cholesterol a ovlivňují tak riziko aterosklerózy. Apolipoprotein E se vyskytuje ve třech alelických variantách. Varianta E<sub>3</sub> je chápána jako neutrální. Varianta E<sub>4</sub> se odlišuje pouze cysteinem a zrychluje přijímání zbytků bohatých na cholesterol do jater; současně také suprimuje LDL-receptor a tím přispívá ke zvýšení hladin cholesterolu v séru. Varianta E<sub>2</sub> má nižší vazebnou afinitu k receptorům, a proto u homozygotů apoE<sub>2</sub>/2 může dojít k hromadění remnantních lipoproteinů za vzniku **familiární dysbetalipoproteinemie** neboli **hyperlipoproteinemie typu III**. K její manifestaci většinou dochází při exogenní zátěži (obr. 5). Patognomicky je zaznamenáván výskyt tuberózních a tuberoeruptivních xantomů nad lokty, resp. koleny, či žlutavých tukových depozit v kožních záhybech rukou a prstů. Riziko manifestace KV onemocnění je srovnatelné s heterozygotní familiární hypercholesterolemií (viz dále), přičemž pro familiární dysbetalipoproteinemii je typické postižení tepen dolních končetin.



**Obrázek 5 Poruchy hepatálního vychtávání lipoproteinů bohatých na triglyceridy (Windler & Gathof, 2003)**

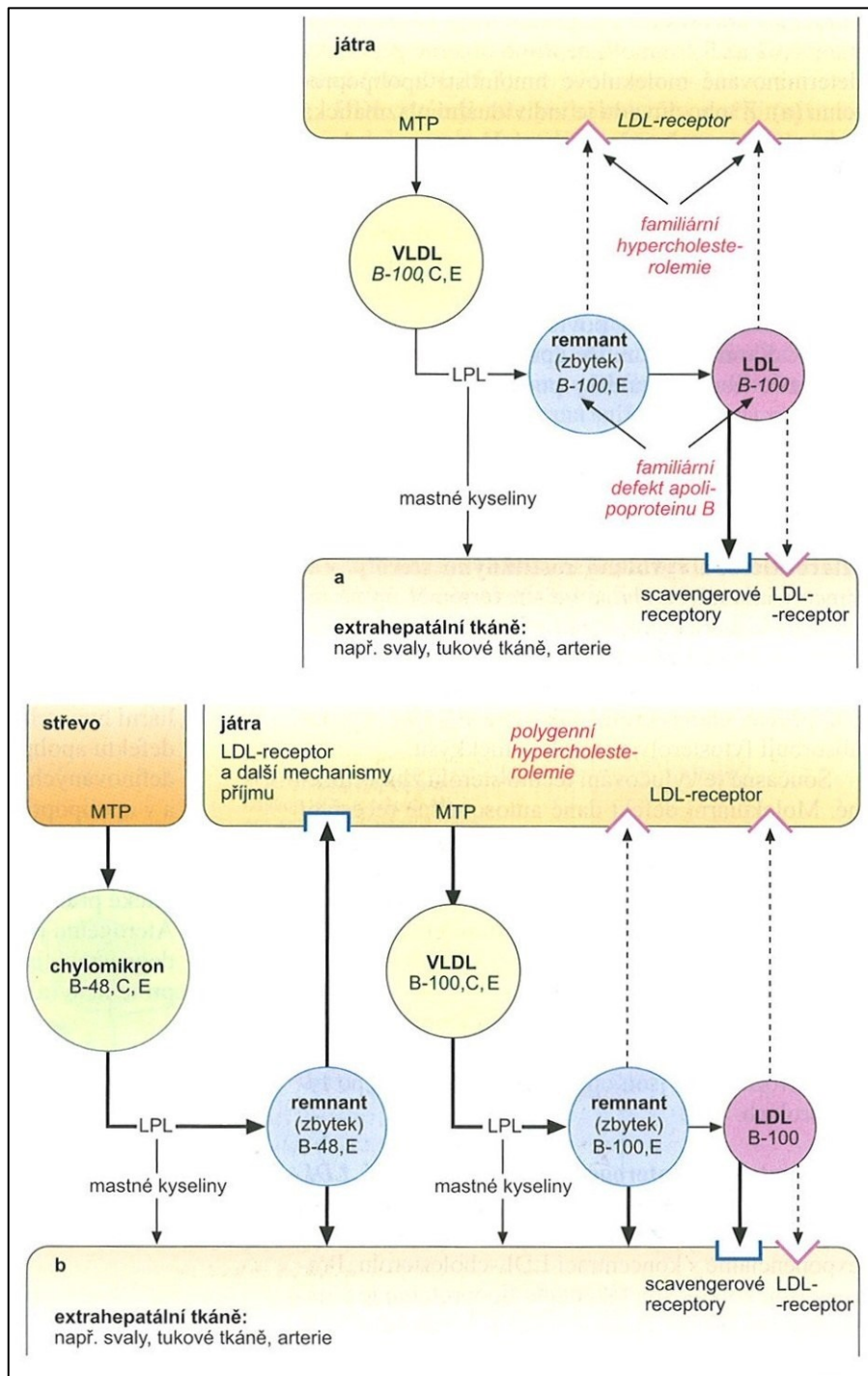


Zdroj: Windler, E., Gathof, B. S., 2003. Poruchy metabolismu tuků a purinů. V: Patologická fyziologie. Praha: Grada Publishing

- ***Porušený katabolismus LDL***

Hladina LDL může být ovlivněna zvýšenou syntézou VLDL-částic či sníženým buněčným příjmem. V případě defektu LDL receptoru vzniká **familiární hypercholesterolemie** (obr. 6), která ve své homozygotní formě (velmi vzácné, vyskytuje se s četností 1:300 000) u neléčených nemocných vede k úmrtí již v dětském věku; ve své heterozygotní formě (vyskytuje se s četností 1:200-250) výrazně zvyšuje riziko kardiovaskulárních onemocnění. Stran klinických projevů je možno jmenovat xantelazmata, arcus lipoides corneae či šlachové xantomy. Četností výskytu i klinickým obrazem je podobný tzv. **familiární defekt apolipoproteinu B**, navozený mutací apolipoproteinu B (obr. 6) (Soška, 2001). Další poruchou vyskytující se v naší populaci je **polygenní hypercholesterolemie**, jejíž příčinou je řada méně závažných genetických odchylek, které vzájemně predisponují pro zvýšenou hladinu LDL. Její další rozvoj však zpravidla podporují exogenní faktory (dietní zátěž, ...). I tento typ dyslipidemie se může projevit celou řadou kardiovaskulárních onemocnění v důsledku progresu aterosklerotického procesu.

Obrázek 6 Porušený katabolismus LDL (Windler & Gathof, 2003)

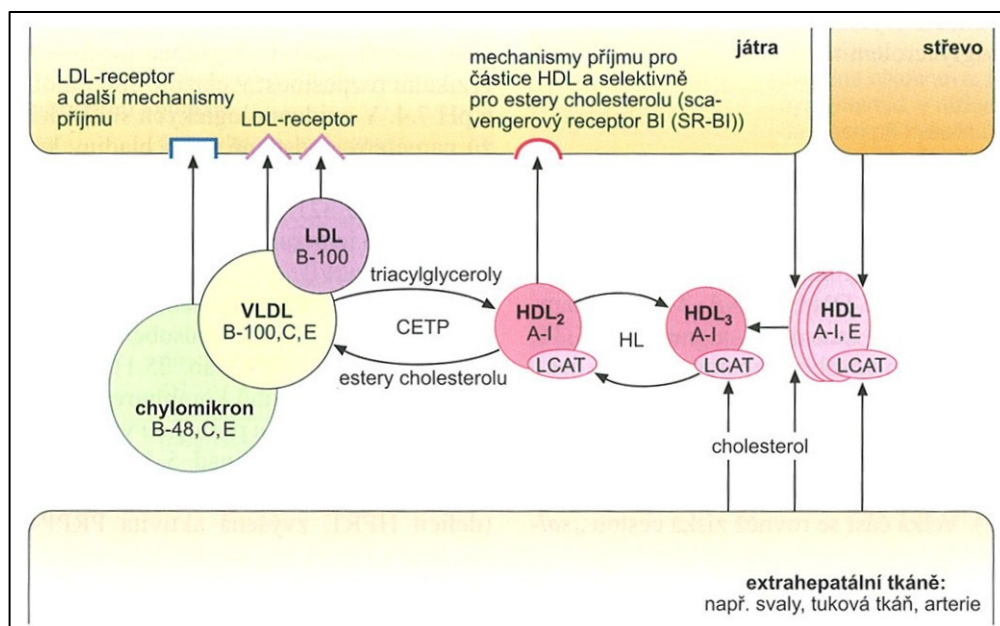


Zdroj: Windler, E., Gathof, B. S., 2003. Poruchy metabolismu tuků a purinů. V: Patologická fyziologie. Praha: Grada Publishing

- **HDL a zpětný transport cholesterolu**

HDL transportuje přebytečný cholesterol a fosfolipidy z periferie do jater. Přesný mechanismus celého procesu ukazuje obr. 7. Obecně je možné říct, že zvýšené hladiny HDL obvykle chrání před aterosklerózou, zatímco snížené hladiny HDL zvyšují aterogenní potenciál např. LDL. Je však nutné poznamenat, že existují určité defekty, které toto nemusí nutně odrážet. Jako příklad je možno uvést snížení hladiny jak HDL, tak i LDL v důsledku nedostatku lipoproteinové lipázy; míra rizika rozvoje aterosklerózy v tomto případě není nijak významně zvýšena. Jednou z nejdůležitějších příčin snížené hladiny HDL je hypertriglyceridemie, kdy enzym CETP způsobí, že HDL ztrácejí estery cholesterolu, přijímají více triglyceridů (obr. 6) a jsou rychleji katabolizovány (Karásek, 2018).

**Obrázek 7 Zpětný transport cholesterolu do jater zprostředkovaný HDL (Windler & Gathof, 2003)**



Zdroj: Windler, E., Gathof, B. S., 2003. Poruchy metabolismu tuků a purinů. V: Patologická fyziologie. Praha: Grada Publishing

### 3. Léčebné postupy

Dříve než přejdeme k problematice týkající se léčebných postupů – farmakologických či nefarmakologických, je vhodné uvést hlavní důvod, proč tyto postupy aplikujeme. Cílem léčebných intervencí je ovlivnění aterosklerotického procesu a v důsledku toho i incidence kardiovaskulárních onemocnění. Kontrola dyslipidemie představuje vlastně „pouhý“ nástroj k dosažení tohoto cíle (Češka, 2019).

Terapie poruch lipidového metabolismu musí být komplexní. Obvykle zahajujeme léčbu snahou o nefarmakologické ovlivnění patologicky změněných hladin jednotlivých lipoproteinových frakcí. Jde především o opatření týkající se dietních zvyklostí, snaha o snížení hmotnosti, zákaz kouření či úpravu pohybové aktivity. V případě, že tato opatření nejsou dostačující, přistupujeme k farmakologické intervenci.

V rámci farmakologické i nefarmakologické intervence se ve valné většině případů (samozřejmě i v závislosti na typu dyslipidemie) zaměřujeme na snížení hladiny LDL cholesterolu, který je považován za primární léčebný cíl. Korektnost tohoto přístupu podpořila řada studií zabývajících se vztahem mezi hladinou LDL cholesterolu a incidencí kardiovaskulárních onemocnění. Sekundárními léčebnými cíli jsou hladiny apo-B an non-HDL cholesterol (Mach, et al., 2020).

Z hlediska farmakologického ovlivňování lipidového metabolismu nacházíme nejvíce důkazů pro toto tvrzení ve studiích provedených s blokátory 3-HMG-CoA reductázy (Češka, 2011) - statiny. Kupříkladu v rámci metaanalýzy 170 000 pacientů zařazených do „statinových“ studií, bylo zjištěno, že pokles LDL cholesterolu o 1 mmol/l přináší snížení kardiovaskulárního rizika až o 20 % (Baigent , et al., 2010).

S ohledem na komplexnost lipidového metabolismu se však na základě nejnovějších poznatků snažíme ovlivnit i další parametry, které souvisejí s tzv. „reziduálním kardiovaskulárním rizikem“, pro jehož posouzení je možné využít parametr nazývaný **aterogenní index plazmy**, který je stanoven jako logaritmus poměru triglyceridů a HDL cholesterolu. Toto zbytkové riziko je vyjádřeno jako kardiovaskulární riziko, které zůstává po standardní léčbě blokátory 3-HMG-CoA reductázy (Češka, et al., 2010) zahrnující především dosažení cílové hladiny LDL cholesterolu a souvisí s výskytem kombinované dyslipidemie, pro kterou je charakteristická zvýšená hladina triglyceridů,

snížená hladina HDL cholesterolu a přítomnost malých denzních LDL částic s vysokým aterogéním potenciálem (nález typický pro osoby trpící diabetem mellitem 2. typu či inzulinovou rezistencí/metabolickým syndromem). Snaha o zvýšení HDL cholesterolu byla sledována i v subanalýze studie TNT, která ukázala, že jedinci se zvýšenou koncentrací HDL cholesterolu jsou na tom z hlediska výskytu kardiovaskulárních příhod lépe (Barter, et al., 2007). Dle „Third Report of the NCEP Expert Panel“ (Grundy, 2002) vede snížení HDL cholesterolu o 1 % ke zvýšení kardiovaskulární rizika o 2-3 %. Toto se týká aktuální hladiny HDL cholesterolu u daného jedince. Žádná studie však zatím nedokumentovala, že zvyšování HDL přináší probandům jakýkoliv benefit (Armitage, et al., 2019).

Nejnovější poznatky dále ukazují, že kromě finálních hodnot koncentrací jednotlivých lipoproteinových frakcí hraje důležitou roli i jejich velikost a denzita (viz výše zmíněné malé denzní LDL částice). Toto potvrzuje výše uvedenou nutnost komplexního přístupu k léčbě dyslipidemií a současné využívání intervencí jak nefarmakologických, tak i farmakologických.

### **3.1. Farmakologické postupy**

Farmakoterapeutické postupy u pacientů s poruchami lipidového metabolismu zůstávají prakticky neměnné. Mezi nejvýznamnější zástupce patří v současné době blokátory 3-HMG-CoA reductázy-statiny, které jsou i nadále lékem volby u pacientů se zvýšenou koncentrací LDL cholesterolu (Vrablík, et al., 2019). Mezi další léky používané léky patří inhibitory vstřebávání cholesterolu, sekvestranty žlučových kyselin, fibráty, a dále pak zástupci z oblasti „biologické“ léčby ze skupiny PCSK9 (proprotein konvertáza subtilizin/kexin typu 9) inhibitorů.

#### **3.1.1. Blokátory 3-HMG-CoA reductázy**

Blokátory 3-HMG-CoA reductázy, nazývané též statiny, patří mezi jedny z neúčinnějších preparátů používaných při léčbě dyslipidemie, především pak těch typů, které jsou charakterizovány zvýšenou hladinou celkového a LDL cholesterolu, jako je izolovaná hypercholesterolemie včetně heterozygotní formy familiární hypercholesterolemie (Češka, 2019). O jejich účinnosti podala důkazy metaanalýza několika velkých statinových studií zahrnujících skupinu cca 170 000 osob, která byla

publikována v roce 2010 a která potvrdila, že léčba statiny je obecně bezpečná, že agresivnější léčba je účinnější než méně agresivní (standardní) (Baigent , et al., 2010).

Mechanismus účinku této skupiny léků spočívá v blokádě enzymu 3-HMG-CoA reduktázy, který má klíčovou roli v nitrobuněčné syntéze cholesterolu. Důsledkem této blokády je deficit cholesterolu v buňce následovaný zvýšenou expresí LDL receptorů na buněčných membránách především hepatocytů. Uvedené procesy mají za následek zvýšené vychytávání LDL částic z krve.

I přesto že léčba statiny patří k nejlépe tolerovaným, je v souvislosti s touto skupinou hojně diskutována i její bezpečnost. Kliniky znepokojily informace o zvýšené incidenci diabetu 2. typu u pacientů léčených statiny, které byly poprvé popsány v souvislosti rosuvastatinem užitým ve studiích JUPITER (Ridker, et al., 2008). Předpokládaný mechanismus tohoto nežádoucího účinku může spočívat ve zvýšení exprese LDL receptorů na povrchu beta buněk následovaný kumulací cholesterolu uvnitř těchto buněk, což přispívá k jejich apoptóze a následně k poklesu schopnosti pankreatu produkovat inzulin (Sampson, et al., 2011). Tento diabetogenní účinek mají všechny statiny (class effect), přičemž potentnější statiny jsou nejspíše více rizikové. V této souvislosti je nezbytné upozornit, že přirozeně vyšší riziko mají pacienti s dalšími rizikovými faktory pro vznik diabetu (pozitivní rodinná anamnéza apod.) a též ti, kteří užívají vysoké dávky obzvláště rosuvastatinu. Toto potvrdila i dodatečná analýza citované studie JUPITER, kde osoby s rizikovými faktory pro diabetes 2. typu měly o 28 % vyšší riziko jeho vzniku než ti na placebo. Navíc u účastníků bez rizikových faktorů nebylo zvýšení rizika zaznamenáno vůbec (Ridker, et al., 2012). Zvážíme-li tedy prospěch, který z léčby statiny riziková a vysoce riziková pacienta mají, je evidentní, že profit výrazně převyšuje riziko vzniku diabetu a není proto důvod přehodnocovat v praxi indikace statinů.

Staronovým vedlejším účinkem této skupiny léčiv je svalové poškození, které může být doprovázeno nálezem zvýšené hladiny kreatinkinázy a ve výjimečných případech se může vyskytnout i rhabdomyolýza. Toto nebezpečí bylo dokumentováno v tzv. „cerivastatinové aféře“ spojené s výskytem rhabdomyolýzy (Furberg & Pitt, 2001). Rhabdomyolýza je extrémně vzácná a výsledky metaanalýz ukázaly, že výskyt myotoxicity je nejčastější u simvastatinu v dávce 80 mg. Naopak neúčinnější statiny, atorvastatin a rosuvastatin jsou v tomto ohledu považovány za významně bezpečnější (Baigent , et al., 2010). Na tomto příkladu je možno demonstrovat, že ačkoliv je svalové

poškození (stejně jako diabetogenní působení) považováno za tzv. "class effect", tak i zde mezi jednotlivými statiny existují významné rozdíly. Toto má velký význam z praktického hlediska, neboť nám v případě výskytu problému u jednoho statinu umožňuje vyzkoušet jiný. S ohledem na jasně prokázaný velký prospěch z léčby statiny je vhodné prohlásit pacienta za statin netolerujícího až poté, co jsou vyzkoušeny nejméně tři molekuly.

Ve zprávě FDA z roku 2012 byla vyjmuta povinnost pravidelně testovat jaterní funkce u pacientů léčených statiny s ohledem na výsledky metaanalýz, neboť tyto ukázaly, že všechny v současnosti užívané statiny mají velmi nízké riziko hepatotoxicity. Česká společnost pro aterosklerózu ve svém stanovisku doporučuje testovat ALT před zahájením léčby a pak pouze při klinických známkách jaterního poškození (Vrablík, et al., 2019). Základní charakteristiky vybraných statinů shrnuje tabulka č. 3 (SUKL, 2013).

**Tabulka 3 Základní farmakologická charakteristika jednotlivých statinů (SUKL, 2013)**

Statin	Původ	Lipofilita	Prodrug	Metabolizace	T <sub>1/2</sub> (h)	Dávkování (mg)
simvastatin	semi-syntetický	+	ano	CYP3A4	2–3	5–80
lovastatin	přírodní	+	ano	CYP3A4	2–3	10–80
pravastatin	přírodní	–	ne	sulfurace	1	5–40
fluvastatin	syntetický, racemát	+	ne	CYP2C9	0,5	20–80
atorvastatin	syntetický, enantiomer	+	ne	CYP3A4	13–16 (30)	10–80
rosuvastatin	syntetický	–	ne	CYP2C6, 2C19 (menšina)	20	5–40

Zdroj: SUKL, 2013. Léčba dyslipidemií. Farmakoterapeutické informace, Issue 9, p. 2

### **3.1.2. Inhibitory vstřebávání cholesterolu**

Mechanismus účinku spočívá v blokádě absorpce cholesterolu a rostlinných sterolů v kartáčovém lemu buněk intestinální mukózy přímou blokádou Nieman PickC1 like1 proteinu (NPC1L1). Jediným zástupcem této třídy je ezetimib, který se standardně podává v uniformní dávce 10 mg. Vzhledem k tomu, že jeho schopnost snižovat hladinu LDL cholesterolu je nižší než u blokátorů 3-HMG-CoA reduktázy, spočívá jeho využití především v kombinaci s touto skupinou léků. Dosáhneme tak efektu nazývaného „duální inhibice“, kdy je ovlivněna jak jaterní syntéza cholesterolu, tak i jeho vstřebávání buňkami střevní sliznice. Výsledky prozatím ukazují, že pokles hladiny LDL cholesterolu



je o asi 20 % větší ve srovnání s monoterapií některým z blokátorů 3-HMG-CoA reduktázy (Češka, 2019). Studie IMPROVE-IT, která v randomizovaném uspořádání srovnávala monoterapii simvastatinem a kombinaci simvastatinu s ezetimibem prokázala jasný prospěch z této kombináční léčby u pacientů po akutním koronárním syndromu a nízkým (dle doporučení) LDL cholesterolem. Studie taktéž potvrdila, že kombináční léčba simvastatinu a ezetimibu je pacienty dobře tolerovaná a že snižování LDL cholesterolu k hodnotám 1,3 mmol/l je bezpečné (Cannon, et al., 2015).

### **3.1.3. Fibráty**

Mechanismu účinku fibrátů spočívá v ovlivnění nitrojaderných receptorů PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor) alfa. Tyto receptory regulují činnost řady genů, které mají vliv na metabolismus lipidů a lipoproteinů. Důsledkem této aktivace je kupříkladu snížení hladiny triglyceridů, zvýšení hladiny HDL cholesterolu a pokles hladiny malých denzních LDL částic. S ohledem na tuto charakteristiku je podání fibrátů vhodné u pacientů trpících izolovanou, resp. kombinovanou dyslipidemií. Za nejvýznamnějším vedlejší účinek této skupiny léčiv je považována svalová bolest (myopatie), která je někdy doprovázena nálezem zvýšené hladiny kreatinkinázy. Hlavním zástupcem této skupiny je fenofibrát. Ze studií zabývajících se účinností fenofibrátu je možno jmenovat projekt ACCORD (Tonkin & Chen, 2010). Sub-analýzou výsledků této studie se zjistilo, že nejvíce z léčby fibráty profitují pacienti nízkým HDL cholesterolem a hypertriglyceridemií. U této skupiny přidání fenofibrátu k simvastatinu vedlo ke snížení rizika kardiovaskulárních příhod o 31 % (Ginsberg, 2011).

### **3.1.4. Sekvestranty žlučových kyselin**

Sekvestranty žlučových kyselin patří mezi léky, které jsou pro léčbu dyslipidemie používány již mnoho let, jakkoli jejich užití v běžné klinické praxi je spíše sporadické. Mechanismus jejich účinku spočívá v přerušení enterohepatálního cyklu žlučových kyselin, které jsou pak na místo zpětné absorpce vyloučeny stolicí a musí tak být znovu syntetizovány, především pak z cholesterolu. S ohledem na skutečnost, že se sekvestranty žlučových kyselin ze střeva neabsorbují, mohou být vhodnou volbou pro ženy ve fertilním věku. Největší nevýhodou této skupiny hypolipidemik je jejich špatná tolerance a poměrně vysoká incidence nežádoucích reakcí ze strany zažívacího ústrojí, především pak obstipace. Modernější verze dříve používaných pryskyřic mohou být podávány v

desetinových množství, což zásadně zvyšuje jejich snášenlivost. (Vrablík & Češka, 2014). Další nemalou výhodou může být i fakt, že u nejmodernějšího přípravku z této skupiny, kolesevelamu, byl pozorován také pokles hladiny glykovaného hemoglobinu o 0,5 %, což je již srovnatelné s efektem některých používaných antidiabetik (Bays, et al., 2008). Při podávání sekvestrantů žlučových kyselin je vhodné zvážit i možnost jejich interakce s dalšími současně podávanými léky. Jako hlavního zástupce starších molekul je možno jmenovat cholestyramin, z novějších pak zmíněný kolesevelam.

### **3.1.5. Kyselina nikotinová-niacin**

Kyselina nikotinová měla ve skupině hypolipidemik zajímavé místo. Ačkoliv pokles celkového a LDL byl po podání niacinu spíše mírnějšího charakteru, zvýšení hladiny HDL cholesterolu bylo významné a zároveň byl niacin i prakticky jediným hypolipidemikem schopným snížit hladinu lipoproteinu (a) (Češka, 2019). Účinnost kyseliny nikotinové byla zkoumána ve studiích, ve kterých byl sledován její vliv na redukci kardiovaskulárních onemocnění a celkové mortality. V této souvislosti je možno jmenovat dlouhodobé sledování pacientů v rámci tzv. „Coronary Drug Project“ (Canner, et al., 1986), kde byl pozorován pokles mortality o 11 %, tak i schopnost dosáhnout regrese aterosklerózy-studie FATS-Familiar Atherosclerosis Treatment Study (Zambon, et al., 1999). Problém s výskytem flushu, vyřešilo přidání selektivního antagonisty prostaglandinového receptoru DP1 laropiprantu (Maccubbin, et al., 2008), nicméně poslední dvě studie AIM a HPS-THRIVE (The AIM-HIGH Investigators, 2011), (The HPS2-THRIVE Collaborative Group, 2014) neprokázaly žádný přídatný efekt niacinu, když byl podáván se statinem, což vedlo k ukončení používání tohoto léku.

### **3.1.6. CETP inhibitory**

Mechanismu účinku těchto látek spočívá v blokádě cholesteryl-ester transferázového proteinu, což vede k omezení přenosu cholesterolu a triglyceridů mezi HDL částicemi a na triglyceridy bohatými lipoproteiny, v důsledku čehož dochází ke zvýšení hladiny HDL cholesterolu. Na základě provedených studií se zvyšování HDL -C pomocí inhibice CETP se nejeví jako vhodný způsob ovlivnění kardiovaskulárního rizika (Bultas & Karetová, 2018).

### **3.1.7. Inhibitory mikrozomálního triglyceridy transferujícího proteinu (MTP)**

Mechanismus účinku spočívá ve zamezení lipidace apolipoproteinu B a formace chylomikronů a VLDL částic inhibicí MTP. V současné době je jediným zástupce této skupiny lomitapid schválen k léčbě familiární hypercholesterolemie u homozygotů. Hlavním vedlejším účinkem této látky je progresse steatózy jater do steatohepatitidy až fibrózy (Sacks, et al., 2014).

### **3.1.8. PCSK9 inhibitory**

Jde o monoklonální protilátky proti proprotein konvertáze subtilizin/kexin typu 9 (PCSK9), která se podílí na regulaci exprese receptoru pro LDL. Tato serinová proteáza s maximální expresí v buňkách jaterní a střevní tkáně zasahuje do regulace exprese receptoru pro LDL cholesterol tak, že brání normálnímu průběhu recyklace LDL receptoru a jeho opětovnému vystavení na plazmatické membráně. PCSK9 inhibitory tento proces blokují a důsledkem toho je zvýšená nabídka LDL receptorů na povrchu buněk s následným výrazným snížením hladiny LDL cholesterolu.

Hlavními zástupci této skupiny léků jsou evolucumab a alirocumab. Evolucumab byl testován v rámci výzkumném programu PROFICIO, který zahrnoval studii Fourier hodnotící výskyt příhod. Cílem programu ODYSSEY, který taktéž zahrnoval studii hodnotící výskyt příhod s názvem Odyssey Outcomes, bylo ověřit účinnost a bezpečnost alirocumabu.

Výsledky ukázaly pozoruhodnou konzistenci efektu PCSK9 napříč populacemi. Tomuto efektu vždy dominovalo výrazné snížení LDL cholesterolu, přičemž i ostatní parametry lipidového metabolismu byly ovlivněny příznivě. Dalším významným pozitivním nálezem je velmi dobrý bezpečnostní profil a tím i dobrá tolerance ze strany pacientů (Vrablík, 2016). Též způsob aplikace formou subkutánního podání 2 x za měsíc se jeví z pohledu compliance spíše jako výhoda než nevýhoda (Vrablík & Češka, 2014). Hlavní obavou zůstává možnost vzniku protilátek proti PCSK9 při jejich dlouhodobém používání, s následným poklesem účinnosti terapie.

### **3.1.9. Inclisiran**

Mechanismus účinku inclisiranu spočívá v blokádě translace PCSK9, tedy brání jeho syntéze. Pacientům se aplikuje jednou za šest měsíců. Účinnost a bezpečnost této látky byla zkoumána v programu zvaném ORION. V prezentovaných studiích ORION 10 a ORION 11 byl zaznamenáno 58 % snížení LDL cholesterolu (ORION 10) respektive snížení primárního kardiovaskulárního ukazatele skládajícího se z kardiovaskulární úmrtní, infarktu myokardu a srdeční zástavy o (ORION 11) (Špinar & Špinarová, 2020).

## **3.2. Nefarmakologické léčebné postupy**

Nefarmakologické postupy jsou neoddelitelnou součástí komplexního přístupu k problematice léčby dyslipidemie s cílem dále snížit kardiovaskulární riziko a zlepšit kvalitu lipoproteinů. Zahrnují především opatření týkající se **zvýšení pohybové aktivity, zanechání kouření** či **úpravu dietních návyků**. Nedodržování těchto pravidel může mít velký význam pro riziko vzniku rozvoje předčasné aterosklerózy, a to především tehdy, dochází-li k jejich vzájemné kombinaci (obézní kuřák s nedostatkem pohybu).

### **3.2.1. Zvýšení pohybové aktivity, redukce nadváhy**

Pozitivní vliv pohybové aktivity a redukce nadváhy na lipidové spektrum byl zkoumán v celé řadě prací. Z hlediska přímého vlivu na celkový a LDL cholesterol má redukce hmotnosti jen malý vliv. U velmi obézních jde o pokles 0,2 mmol/l na každých 10 kg. Ještě menší je pak efekt pravidelné fyzické aktivity na pokles LDL cholesterolu (Dattilo & Kris-Etherton, 1992), (Shaw, et al., 2006). Na druhou stranu má jak redukce hmotnosti, tak i fyzická aktivita pozitivní vliv na hladinu HDL cholesterolu. Byl pozorován nárůst 0,01 mmol/l na každý shozený kilogram a 0,08-0,15 mmol/l na 1500 až 2200 kcal spálených týdně (Kraus, et al., 2002). Obdobně byl v řadě studií pozorován pokles triglyceridů zapříčiněný právě redukcí hmotnosti (Zomer, et al., 2016).

### **3.2.2. Zanechání kouření**

Z dat získaných na základě meta-analýzy 54 studií bylo zjištěno, že u kuřáků pravidelně nalézáme významně vyšší koncentrace celkového cholesterolu, LDL cholesterolu, VLDL cholesterolu i triglyceridů za současného poklesu koncentrace HDL cholesterolu a apolipoproteinu A-I (Craig, et al., 1989). Společně s těmito nálezy

nacházíme i další, jako je například výskyt malých denzních LDL částic či poškození endotelu v důsledku nikotinu a mnoho dalších negativních efektů na cévní stěnu. Platí, že kouření je ze všech kardiovaskulárních rizikových faktorů jedním z nejvýznamnějších (Tan, et al., 2008).

### **3.2.3. Dietní opatření při léčbě dyslipidemie**

Dietní opatření jsou levná, univerzálně použitelná a zároveň nemají žádné vedlejší účinky ve smyslu klasických nežádoucích polékových reakcí. Jsou i synonymem zdravého životního stylu, který napomáhá pozitivně ovlivnit průběh a rozvoj nejen dyslipidemie, ale i dalších chorob. Zdá se však, že největší benefit mají, jsou-li dodržována dlouhodobě.

Ovlivnění hladiny LDL cholesterolu, jako hlavního rizikového faktoru rozvoje aterosklerózy, je aplikací dietních opatření obtížnější než například ovlivnění hladiny triglyceridů. Z hlediska schopnosti ovlivnit lipidové spektrum je možné jednotlivé složky diety rozdělit do dvou skupin. Do první skupiny řadíme ty látky, které mohou lipidový metabolismus ovlivňovat negativně, do druhé skupiny pak ty, jejichž působení na lipidový metabolismus je možné popsat jako ochranné. Z toho plyne i přístup k tvorbě diety vhodné pro prevenci aterosklerózy, který zahrnuje jak opatření **restriktivní**, tedy týkající zákazů či omezení určitých potravin, tak opatření **permisivní**, tedy týkající se doporučení ke zvýšení konzumace určitých potravin. Oba uvedené přístupy přehledně shrnuje následující tabulka.

**Tabulka 4 Základní postupy v dietní léčbě dyslipidemie (Mach, et al., 2020)**

1. Redukční dieta
2. Omezení tuků v dietě
3. Snížení obsahu cholesterolu v dietě
4. Snížení obsahu živočišných tuků, nasycených mastných kyselin
5. Zvýšení podílu nenasycených mastných kyselin (rostlinné tuky, rybí dieta)
6. Zvýšení přívodu vlákniny v dietě
7. Zvýšení podílu kvalitních proteinů v dietě
8. Zvýšení konzumace některých vitamínů s předpokládaným antioxidačním působením
9. Přidání rostlinných sterolů v dávce 2 g/den

▪ *Vliv diety na celkový a LDL cholesterol*

V dietě obsažené nasycené mastné kyseliny patří mezi látky s nejsilnějším efektem na LDL cholesterol. Uvádí se, že každé nové procento energie hrazené z nasycených mastných kyselin vede k nárůstu LDL cholesterolu o 0,02 - 0,04 mmol/l (Mensink, et al., 2003). Obdobně silný efekt mají i trans nenasycené mastné kyseliny, které ve své hydrogenované formě pokrývají asi 2-5 % celkového energetického příjmu v západních zemích (Mozaffarian, et al., 2009). Na druhou stranu, je-li 1 % dietní energie pocházející z nasycených mastných kyselin nahrazeno za 1 % dietní energie pocházející z mononenasycených mastných kyselin, LDL cholesterol poklesne o 0,041 mmol/l. Obdobně je možno kvantifikovat i efekt n-6 polynenasycených mastných kyselin a sacharidů. Zde se uvádí pokles o 0,051 mmol/l, respektive 0,032 mmol/l (Mensink, et al., 2003). Ačkoliv n-3 polynenasycené mastné kyseliny nemají přímý hypolipidemický efekt, je pravidelná konzumace ryb spojena s redukcí KV rizika. Ve farmakologických dávkách (2-4 g denně) mohou n-3 polynenasycené mastné kyseliny vést buď nulovému či k mírnému vzestupu LDL cholesterolu provázenému poklesem triglyceridů (Mensink, et al., 2003). Dietní vláknina, především pak rozpustná, obsažená v luštěninách, ovoci, zelenině a celozrnných cereáliích má přímý hypocholesterolemický efekt a představuje tak optimální volbu, jak

hradit nasycené tuky s maximálním efektem na LDL cholesterol bez doprovodného nevhodného efektu, které mají sacharidy na ostatní lipoproteiny (Brown, et al., 1999).

- ***Vliv diety na triglyceridy***

Mononenasycené mastné kyseliny zlepšují ve srovnání s nasycenými mastnými kyselinami inzulínovou senzitivitu a paralelně tak dochází k redukci hladiny triglyceridů, a to obzvláště postprandiálně (Mattar & Obeid, 2009). Pozitivní efekt na triglyceridy mají taktéž n-3 polynenasycené mastné kyseliny. Glukózový a lipidový metabolismus jsou úzce propojené, proto narušení glycidového metabolismu dietou bohatou na sacharidy vede k vzestupu triglyceridů. Obzvláště nebezpečná je v tomto ohledu na sacharidy bohatá dieta s vysokým glykemickým indexem a nízkým obsahem vlákniny. Má-li tedy na sacharidy bohatá dieta nízký glykemický index a vysoký obsah vlákniny je toto negativní působení výrazně menší (Liu, et al., 2001). Toto ovšem neplatí zcela v situaci, je-li v dietě obsažena fruktóza, tedy cukr s nízkým glykemickým indexem, který hladinu triglyceridů zvyšuje. Tento efekt je závislý na dávce a klinicky se projeví, představuje-li příjem fruktózy více jak 10 % energie denně. Při pravidelném krytí 15-20 % denní energie fruktózou dochází ke vzestupu triglyceridů o 30-40 %. Významným zdrojem fruktózy v dietě je hojně používaný disacharid sacharóza (Stanhope, et al., 2009) a taktéž hojně v potravinářství využívaný na fruktózu bohatý kukuřičný sirup (Stanhope, et al., 2015). Významně negativně ovlivňuje hladinu triglyceridů i konzumace alkoholu. Zatímco v normální populaci se tento efekt projeví při denním příjmu 10-30 g, u populace s vysokou hladinou triglyceridů v anamnéze prakticky ihned.

- ***Vliv diety na HDL cholesterol***

Příjem nasycených mastných kyselin v potravě zvyšuje HDL cholesterol. Společně s ním však zvyšuje i LDL cholesterol. Oproti nasyceným mastným kyselinám zároveň snižují HDL cholesterol. Mononenasycené mastné kyseliny konzumované jako náhrada za nasycené mastné kyseliny nemají žádný nebo jen velmi malý efekt na HDL cholesterol. Zatímco n-3 nasycené mastné kyseliny mají jen malý efekt na hladinu HDL cholesteolu, n-6 nasycené masné kyseliny způsobují jeho mírný pokles (Mensink, et al., 2003), (Mooradian, et al., 2006). Nahradíme-li tuk sacharidy, dojde k poklesu HDL cholesterolu o 0,1 mmol/l na každých 10 % substituované energie. Tento negativní dopad je možno zásadně redukovat, má-li na sacharidy bohatá dieta nízký glykemický index a vysoký

obsah vlákniny (Mensink, et al., 2003), (Kelly, et al., 2004). Mírná konzumace alkoholu definovaná příjmem 20-30 g/den u mužů a 10-20 g/den u žen je spojována s mírným vzestupem HDL cholesterolu ve srovnání s abstinenty (Mooradian, et al., 2006).

- ***Suplementy a funkční potraviny***

Při hodnocení funkčních potravin je nutno brát v úvahu nejen jejich potenciální pozitivní efekt na redukci kardiovaskulárního rizika, ale též jejich snášenlivost a absenci významných vedlejších nežádoucích účinků.

**Fytosteroly** jsou organické chemické látky rostlinného původu ze skupiny steroidů. Nachází se především v rostlinném oleji, v menším množství dále v zelenině, čerstvém ovoci, obilninách a luštěninách. Jejich přidávání do různých potravin je dnes relativně populární. Bohužel aktuálně nejsou k dispozici data z randomizovaných klinických studií hodnotících působení této skupiny látek (Mach, et al., 2020). Mezi nejvýznamnější fytosteroly patří sitosterol, campesterol a stigmasterol. Denní konzumace přibližně 2 g fytosterolů může snížit hladinu celkového a LDL cholesterolu o 8-10 %, a to s žádným či malým efektem na HDL cholesterol či triglyceridy (Gyllinge, et al., 2014). Aktuálně však nejsou k dispozici data, zda toto snížení celkového a LDL cholesterolu resultuje v preventivní působení na kardiovaskulární onemocnění. V souvislosti s fytosteroly je též diskutována jejich bezpečnost. Vysoká hladina fytosterolů v plazmě je potenciálně aterogenní, což lze demonstrovat na vzácně se vyskytující poruše co-transportéru ABCG5/G8 (sitosterolemie), který zajišťuje přenos již absorbovaných molekul fytosterolů zpět do střevního lumen. Jeho porucha totiž následně vede k dramatickému vzestupu koncentrace těchto látek v plazmě a k předčasnému rozvoji aterosklerózy (Berge, et al., 2000), (Lee, et al., 2001), (Salen, et al., 2004).

**N-3 nenasycené mastné kyseliny** přijímané formou rybího oleje bohatého především na n-3 nenasycené mastné kyseliny s dlouhým řetězcem v množství 2-3 g denně mohou redukovat hladinu triglyceridů. N-3 polynenasycené mastné kyseliny jsou taktéž schopné redukovat postprandiální lipemii. Na druhou stranu v dávce okolo 3 g/denně byl u n-3 nenasycených mastných kyselin popsán nepříznivý efekt na LDL cholesterol. Šlo cca o 5% vzestup u pacientů se závažnou hypertriglyceridemií (Liu, et al., 2001). Taktéž v randomizované studii zahrnující 4837 pacientů po infarktu myokardu nebylo znamenáno pozitivní působení n-3 nenasycených mastných kyselin ani na hladinu



triglyceridů, ani na počet závažných kardiovaskulárních příhod (Kromhout, et al., 2010). Recentně publikovaná práce diskutovala kontrastující výsledky studií REDUCE-IT a STRENGTH, kdy ve studii REDUCE-IT byl zaznamenán pokles rizika atherotrombotické kardiovaskulární příhody o 25 % zatímco ve studii STRENGTH nebyl zaznamenán žádný benefit na tento ukazatel. Autoři nabízejí hypotézu, že příčinou rozdílných výsledků mohou být jak použité aktivní látky (eikosapentanová kyselina vs. eikosapentanová acid + dokosaheksenová kyselina) tak i použité komparátory (minerální vs kukuřičný olej).

**Červená fermentovaná rýže** je tradiční ingredience používaná v Číně, která obsahuje monacolin K, což je inhibitor 3-HMG-CoA reduktázy a jako takový tedy snižuje hladinu LDL cholesterolu (Li, et al., 2014). Ve studii provedené na souboru 5000 pacientů a trvající 4,5 roku bylo dokumentováno relativní snížení kardiovaskulárních příhod o 45 % (Lu, et al., 2008).

**Dietní vláknina** rozpustná ve vodě pocházející z ovesných otrub,  $\beta$ -glucanu či psyllia, je schopná v dávce 5-15 g/denně snížit LDL cholesterol. Dieta obohacená o tuto vlákninu je zároveň dobře tolerovaná (Rideout, et al., 2008) (Gyllinge, et al., 2014).

#### ▪ *Studie v oblasti dietní intervence*

Jedním z významných předpokladů k tvorbě validních doporučení k úpravám diety je existence důkazů ze studií. Aktuálně chybí především intervenční studie, které by trvaly dostatečně dlouho a tím reflektovaly přirozený vývoj dyslipidemie a kardiovaskulárních onemocnění. Z významných studií jmenujme studie DASH, PORTFOLIO a PREDIMED.

DASH studie zahrnovala populaci 436 subjektů. Intervence byla formou 8 týdnů trvající diety obsahující buď zvýšené množství ovoce a zeleniny (kontrolní dieta), nebo zvýšené množství ovoce a zeleniny, nízkotučné mléčné výrobky, redukované množství nasycených tuků a snížený příjem tuků a cholesterolu (DASH dieta). Výsledky ukázaly, že DASH dieta ve srovnání s kontrolní dietou vedla k poklesu celkového, LDL i HDL cholesterolu bez signifikantního efektu na triglyceridy. Pokles byl větší u mužů než u žen a jeho výše nezávisela s výjimkou HDL cholesterolu na výchozích hodnotách (Obarzanek, et al., 2001).

PORTFOLIO dieta ve své modifikované formě (nízkotučná, 8 g/1000 kcal rozpustné vlákniny, 17 g/1000 kcal sojového proteinu, a 22 g/1000 kcal mandlí) vedla po šest týdnů trvající intervenci u pacientů po bypassu a s diabetem 2. typu k relativní redukci LDL cholesterolu o 19 % (Keith, et al., 2014).

PREDIMED studie, která sledovala 7500 vysoce rizikových (ale bez přítomnosti kardiovaskulárního onemocnění) osob ve věku od 55 do 80 let, po dobu pěti let, ukázala, že obohacení diety o olivový olej nebo o ořechy snížilo výskyt makrovaskulárních komplikací aterosklerózy o 30 % (Estruch, et al., 2013).

Zajímavou problematikou je též antioxidační efekt diety. V Heart Protection Study byl sledován vliv suplementace antioxidanty (vitamín E, C a  $\beta$ -karoten) v porovnání s placebem na mortalitu a incidence vaskulárních onemocnění u 20 536 pacientů s ICHS (Heart Protection Study Collaborative Group, 2002). Ačkoliv se podávání těchto látek ukázalo bezpečným, tak vliv na redukci mortality či incidence vaskulárních chorob pozorován nebyl. Žádné další studie sledující dodávání vitaminů s představou snížení oxidability a oxidačního stresu neprokázaly vliv této suplementace na průběh aterosklerózy (Kris-Etherton, et al., 2004). Proto se dnes doporučují pouze přírodní droje.

## 4. Amarant

### 4.1. Botanická charakteristika a historie

Amarant patří mezi pseudoobilniny. Botanickým zařazením jde o rod *Amaranthus*, čeleď *Amaranthaceae*, řád *Caryophyllales*, podtřída *Caryophyllidae*, třída *Magnoliopsida*, oddělení *Magnoliophyta*, podříše *Cormobionta*, říše *Plantae*. Jde o jednoletou širokolistou rostlinu. Lodyha kulturních forem dosahuje délky 0,9-1,8 metru. Největší využití má semeno amarantu, z kterého se získává mouka či olej. Pro potravinářské využití jsou nejvíce pěstovány kulturní formy druhu *Amaranthus hypochondriacus*, *Amaranthus caudatus* a *Amaranthus cruentus*.

Největší popularity dosáhl amarant a jeho produkty ve starověkých civilizacích Aztéků, Inků a Mayů, kde byl pro své vlastnosti ceněn natolik, že jej nazývali „svatým zrnem“ (Kalač & Moudrý, 2000). Po vyvrácení těchto civilizací španělskými kolonizátory však využívání této plodiny silně pokleslo. Nově se o amarant začali vědci zajímat v souvislosti s hledáním vhodné dietetické složky krmných směsí. Amarant, přesněji řečeno jeho produkty, byl úspěšně otestován jako náhrada masokostní moučky, která přestala být považována za ne zcela bezpečnou především v souvislosti se snahami o omezení šíření bovinní spongiformní encefalopatie a zajištění vyšší důvěry spotřebitelů v kvalitu potravin (Herzig, et al., 2007). V průběhu tohoto zkoumání byl vyšetřován i potenciál produktů z amarantu pozitivně ovlivňovat patologicky změněné hladiny některých lipidových frakcí, především pak celkový a LDL cholesterol (Grajeta, 1999), (Andrea, et al., 2002)

### 4.2. Chemické složení

Z hlediska chemického složení amarantu je pro potřeby naší práce vhodné zmínit především ty složky, které jsou jednotlivými autory považovány za potenciálně odpovědné za hypolipidemické působení amarantu. Jde především o skvalen, steroly, proteiny, mastné kyseliny a vlákninu.

#### 4.2.1. Skvalen

Amarant je řazen mezi velmi významné zdroje skvalenu v rostlinné říši (Leon-Camacho, et al., 2001). Jeho olej obsahuje 6 až 8 % této látky, přičemž semeno amarantu

obsahuje asi 7 % tohoto oleje (Breene, 1991) (Sun, et al., 1995) (He, et al., 2002). Skvalen hraje důležitou roli v řadě biologických pochodů jako je například biosyntéza steroidů či koenzymu Q 10 a je taktéž důležitou součástí buněčných membrán. Antioxidační vlastnosti skvalenu byly prokázány na modelu lipidové peroxidace lipozomu (Conforti, et al., 2005). Převažuje názor, že skvalen může fungovat jako scavenger hydroxylových radikálů, přičemž ve studii provedené in vitro na modelu kostní dřevě měl být dokonce účinnější než redukovaná forma glutathionu (Das, et al., 2003). Zajímavostí je, že jedinci dlouhodobě hospitalizovaní z důvodu polytraumatu (tedy ve stresu) a na parenterální výživě mají hladinu skvalenu sniženou (Zadák, et al., 2001). Skvalenu je dále přisuzována schopnost snižovat riziko některých typů rakoviny jako je například bronchogenní karcinom (Newmark, 1997). Dle některých literárních zdrojů může být právě skvalen zodpovědný za schopnost amarantu snižovat hladinu cholesterolu v krevním séru (Andrea, et al., 2002), (Shinn, et al., 2004), (Martirosyan, et al., 2007).

#### **4.2.2. Steroly**

Steroly jsou další skupinou látek, která se může podílet na celkovém hypolipidemickém působení amarantu. Za mechanismus tohoto účinku je považována kompetice fytosterolů s cholesterolem o místo v nově se formujících micelách, což má za následek jeho snížené vstřebávání z potravy (Zadák, et al., 2001). Analýza 4 běžně dostupných odrůd amarantu (*Amaranthus* K343, RRC1011, K433, K432) odhalila přítomnost všech tří hlavních fytosterolů ( $\beta$ -sitosterol, kampesterol, stigmasterol) s celkovým obsahem sterolů několikanásobně vyšším než v jiných studovaných rostlinách. Mezi odrůdami amarantu byly zjištěny podstatné rozdíly v obsahu celkových fytosterolů a obsahu  $\beta$ -sitosterolu (Marccone, et al., 2003)

#### **4.2.3. Proteiny**

Při pátrání po látce zodpovědné za hypolipidemické působení amarantu bylo zjištěno, že amarant zbavený své tukové složky je stále schopen pozitivně ovlivňovat lipidové spektrum. Na základě tohoto pozorování bylo dovozeno, že i jiné složky, například proteinová frakce, mohou být zodpovědné za toto působení (Mendonca, et al., 2009) (Berger, et al., 2003b) (Andrea, et al., 2002). Proteiny z *Amaranthus cruentus* byly dále testovány Soaresem (Soares, et al., 2015). Proteinový izolát byl připraven enzymatickou hydrolýzou simulující in vivo trávení. U určitých peptidů z tohoto izolátu bylo následně

pozorována schopnost inhibovat aktivitu HMG-CoA reductázy. Autoři práce naznačili, že aktivita těchto peptidů byla natolik vysoká, že je jí možno přisoudit hypocholesterolemizující působení amarantu. Právě vyšší podíl proteinové složky oproti jiným obilninám a její aminokyselinové složení je považováno za jednu z největších předností amarantu. Proteiny jsou velmi kvalitní (Zadák, et al., 2001). Hodnocení chemického skóre esenciálních aminokyselin a indexu esenciálních aminokyselin ukázalo vysokou nutriční hodnotu proteinů z amarantu (Písaříková, et al., 2005).

V tomto kontextu dalších možných pozitivních efektů je možno zmínit zajímavý nález v projektu studujícím účinky lunasin-like peptidu pocházejícího z amarantu. Tento peptid má schopnost rychlejší internalizace do buněčného jádra než lunazin ze sóji a je tak schopen inhibovat transformaci NIH-3T3 buněk indukovanou chemickými karcinogeny (Maldonado-Cervantes, et al., 2010).

#### **4.2.4. Mastné kyseliny**

Celkový podíl tukové složky v semenech amarantu může značně kolísat. Obecně má však lipidová složka v semenech amarantu vyšší zastoupení, než je obvyklé u obilnin (Budín, et al., 1996). Lipidová složka semen amarantu obsahuje nenasycené i nasycené mastné kyseliny. Převládajícími mastnými kyselinami jsou kyselina linolová, olejová, palmitová (Venskutonis & Kraujalis, 2013).

#### **4.2.5. Vlákna**

Vlákna ovlivňuje správnou funkci zažívacího traktu a vzhledem k tomu, že svým působením dokáže narušit absorpci cholesterolu ze zažívacího traktu je další možnou složkou podílející se na hypolipidemickém působení amarantu. Obsah vlákniny v amarantu je porovnatelný s obsahem vlákniny v pšenici a kukuřici (Becker, 1989). Amarantová vlákna je kvalitní a je přirozeně bezlepková (Herzig, et al., 2007).

### **4.3. Biologické účinky produktů z amarantu**

Významným biologickým účinkem produktů z amarantu potenciálně využitelným v rámci nefarmakologické léčby některých metabolických onemocnění je schopnost jejich obsahových látek ovlivňovat patologicky změněné hladiny jednotlivých lipoproteinových frakcí. Toto působení se týká jak celkového, tak i LDL a HDL

cholesterolu. V současné době však panují v dostupné literatuře diskrepance ohledně tohoto efektu. Pozitivní výsledky byly pozorovány převážně v experimentech na zvířecích modelech (Andrea, et al., 2002), (Kabiri, et al., 2010), (Berger, et al., 2003) zatímco studie na lidech byly přesvědčivé méně (Berger, et al., 2000b), (Chávez-Járegui, et al., 2010). Taktéž nebylo dosaženo konsenzu v otázce efektu amarantu na HDL cholesterol (viz tab. 5 a 6). Na druhou stranu autoři několika experimentů shodně poukázali na antidiabetické a antioxidační působení amarantu (Kasozi, et al., 2012), (Velarde-Salcedo, et al., 2017) přičemž v obou případech jde o biologické účinky, které dále mohou přispívat k redukci celkového kardiovaskulárního rizika.

#### **4.3.1. Vliv na celkový a LDL a HDL cholesterol**

##### **▪ Shrnutí prací na zvířatech**

Pozitivní efekt extraktu z amarantu na hladiny celkového, LDL, a také na VLDL cholesterolu a triglyceridy potvrdil ve své práci na hypercholesterolemických králících Andrea (Andrea, et al., 2002). V pokusu na stejné živočišné species dosáhli i další autoři velmi zajímavých výsledků (Kabiri, et al., 2010). U králíků krmených vysoce cholesterolovou dietou a lihovým extraktem z amarantu došlo k poklesu celkového, LDL cholesterolu, triglyceridů, oxidovaného LDL, apo-B, C-reaktivního proteinu (CRP), aterogenního indexu a vzestupu HDL cholesterolu a apo-A ve srovnání se skupinou krmenou jen vysoce cholesterolovou dietou. Tento efekt byl zároveň lepší než u skupiny krmné vysoce cholesterolovou dietou a lovastatinem.

Ve studii provedené na křečcích krmených na cholesterol bohatou dietou vedlo zařazení amarantového zrna a oleje k poklesu celkového a non-HDL cholesterolu a vzestupu HDL cholesterolu. Amarantové zrno a olej taktéž snižovali VLDL cholesterol. Překvapivě amarantový olej zvyšoval syntézu cholesterolu pravděpodobně z důvodu kompenzatorních mechanismů (Berger, et al., 2003). Redukce plazmatického cholesterolu (převážně non-HDL) byla pozorována u stejné živočišné species i po introdukci proteinového izolátu z amarantu. Autoři předpokládají, že by proteinová složka mohla mít efekt na endogenní metabolismus cholesterolu (Mendonca, et al., 2009). V tomto ohledu zajímavým nálezem byl pokles aktivity 3-HMG-CoA reduktázy zaznamenaný v experimentu na kuřatech krmených semeny nebo olejem z amarantu.

Pokles celkového a LDL cholesterolu dosahoval 10-30 %, respektive 7-70 % ( $p < 0,01$ ). HDL cholesterol nebyl ovlivněn (Quereshi, et al., 1996).

Řada studií provedených na laboratorních potkanech (Chatuverdi, et al., 1993), (Grajeta, 1999), (Czerwiński, et al., 2004), (Shinn, et al., 2004), (Kim, et al., 2006), (Montero-Quintero, et al., 2014), (Lado, et al., 2015) byla stran hypocholestrolemického působení různých produktů z amarantu konzistentní. Ve studii se skvalenem z amarantu byl obdobně jako ve studii na kuřatech krmených semeny nebo olejem z amarantu pozorován inhibiční efekt na 3-HMG-CoA reduktázu (Shinn, et al., 2004). Suplementace amarantového zrna a oleje krysám se streptozocinem indukovaným diabetem vedlo společně s poklesem sérových lipidů (celkový cholesterol, triglyceridy a VLDL cholesterol) i ke zlepšení glukozového metabolismu (Kim, et al., 2006).

**Tabulka 5 Shrnutí prací na zvířatech**

Zdroj	Zvíře	Produkt	TC	LDL	HDL	Non-HDL	VLDL	TG	Jiné
(Berger, et al., 2003b)	Křeček	Zrno a olej	↓		↑	↓	↓		↑ syntézy cholesterol, ↓ hepatálního cholesterol-esteru
(Mendonca, et al., 2009)	Křeček	Protein	↓			↓			
(de Castro, et al., 2013)	Křeček	Olej							Žádný hypocholesterolemický efekt
(Quereshi, et al., 1996)	Chicken	Semeno a olej	↓	↓	0				↓ aktivity 7 $\alpha$ hydroxylasy a 3 HMG-CoA reductázy
(Andrea, et al., 2002)	Králík	Extrudovaný amarant a olej	↓	↓	0			↓	
(Kabiri, et al., 2010)	Králík	Extrakt (alkoholový)	↓	↓	↑				↓ apoB, oxidovaného LDL, CRP, athero. indexu, ↑ apoA
(Danz and Lupton 1992)	Potkan	Vláknina	↓						
(Chatuverdí, et al., 1993)	Potkan	Semeno	↓		0			↓	
(Grajeta, 1999)	Potkan	Vláknina	↓					↓	
(Czerwiński, et al., 2004)	Potkan	Mouka							Pozitivní efekt na plazmatický lipidový profil
(Shinn, et al., 2004)	Potkan	Skvalen a zrno	↓					↓	↓ of HMG-CoA reductázy
(Escudero, et al. 2005)	Potkan	Proteinový koncentrát	0	↓	↑				
(Kim, et al., 2006)	Potkan	Zrno a olej	↓				↓	↓	
(Montero-Quintero, et al., 2014)	Potkan	Chléb	↓	↓					
(Lado, et al., 2015)	Potkan	Protein	↓						

↓↑ - signifikantní efekt pozorovaný autory, 0 - žádný efekt pozorovaný autory



- **Shrnutí prací s humánními subjekty**

180 hypercholesterolemických subjektů participujících v „National Cholesterol Education Program Step One Diet“ bylo rozděleno do šesti skupin. Po 28 dnech byl ve skupině konzumující 50 g/den amarantové vlákniny zaznamenán signifikantní pokles v hladinách celkového cholesterolu o 4,5 % (Maier, et al., 2000). V placebem kontrolované studii provedené na 125 pacientech s kardiovaskulárním onemocněním, došlo po třech týdnech aplikace amarantového oleje k poklesu celkového, LDL a VLDL cholesterolu a triglyceridů, přičemž tento efekt byl závislý na koncentraci skvalenu. Hladina HDL cholesterolu ovlivněna nebyla (Martirosyan, et al., 2007).

**Tabulka 6 Shrnutí prací s humánními subjekty**

Zdroj	Produkt	TC	LDL	HDL	non-HDL	VLDL	TG	Other
(Maier, et al., 2000)	Muffiny	↓						
(Berger, et al., 2000b)	Seminka							Žádný hypocholesterolemický efekt
(Martirosyan, et al., 2007)	Olej	↓	↓			↓	↓	Efekt závislý na koncentraci skvalenu
(Chávez-Járegui, et al., 2010)	Odtučněný snack	0	0	↓			0	

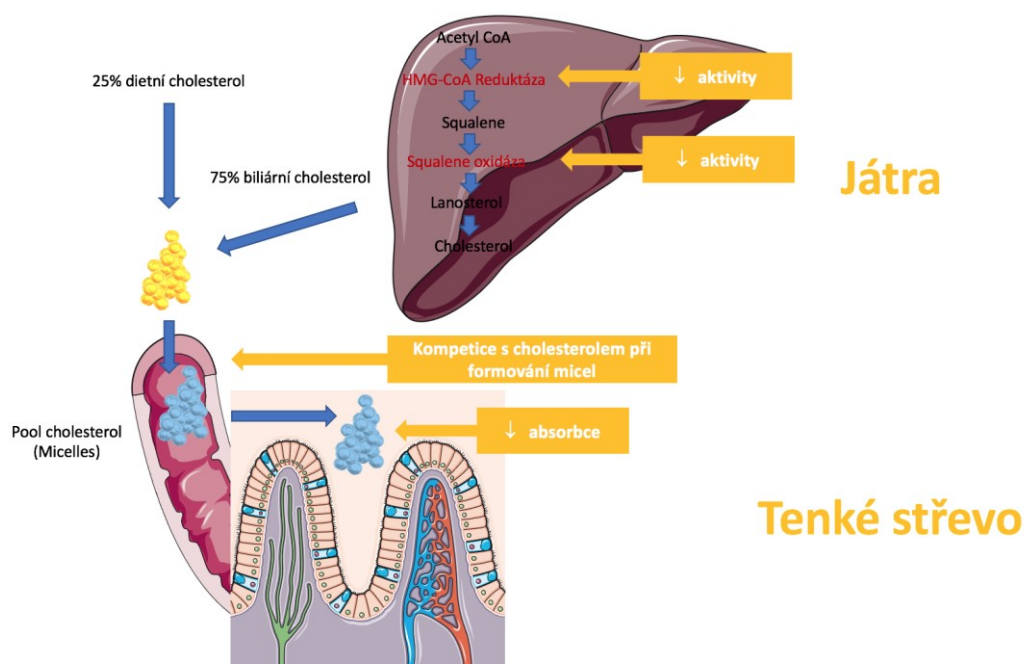
↓↑ - - signifikantní efekt pozorovaný autory, 0 - žádný efekt pozorovaný autory

- **Negativní výsledky (obě skupiny)**

Na druhou stranu je však třeba zmínit malou pilotní studii provedenou na lidech (Berger, et al., 2000b), ve které nebyl pozitivní efekt amarantu zaznamenán. Ve studii sledující efekt odtučněného amarantu u pacientů se středně závažnou hypercholesterolemií byla dokonce zaznamenána signifikantní redukce v hladině HDL cholesterolu za současného nulového efektu na hladinu LDL cholesterolu (Chávez-Járegui, et al., 2010).

Taktéž v pokusu provedeném na křečcích nebylo hypolipidemické působení evidentní (de Castro, et al., 2013). Dle získaných údajů, amarantový olej a jeho komponenta skvalen zvýšila na jedné straně exkreci žlučových kyselin, na druhé ale nevykázala u křečků krmených dietou bohatou na tuky a cholesterol, hypocholesterolemický efekt.

**Obrázek 8 Možné mechanismy hypocholesterolemického efektu amarantu (Chmelík, et al., 2019)**



Možné mechanismy hypocholesterolemického efektu amarantu, inhibice enzymů 3-HMG-CoA reduktázy (Shinn, et al., 2004) (Quereshi, et al., 1996), inhibice skvalen oxygenázy (Belter, et al., 2011) a interference s inhibicí absorpce cholesterolu (Shinn, et al., 2004), jsou naznačeny žlutými šipkami

#### 4.3.2. Účinné látky

Odlišnosti ohledně hypolipidemického působení produktů z amarantu nalézáme v literatuře i v souvislosti s diskuzemi týkajícími se účinných látek zodpovědných za tento efekt. Jak již naznačila kapitola popisující chemické složení amarantu, možných hypolipidemicky aktivních látek je celá řada. Nalézáme také rozdíly v jejich obsahu v závislosti na odrůdě či metodě použité k jejich získání což znesnadňuje systematizaci.

V práci provedené na 6týdenních kuřatech (Quereshi, et al., 1996) naznačili autoři, že olejová frakce amarantu, s ohledem na příznivé složení mastných kyselin společně s přítomností dalších látek (fytoosteroly, tokoferol, tokotrienoly), sehrává při tomto působení nejvýznamnější roli.

V práci autorů Danze a Luptona řešitelé pozorovali, že potkani krmění amarantem vykazovali obdobný hypocholesterolemický efekt jako po aplikaci

rozpustné vlákniny, což naznačuje možný shodný mechanismus tohoto efektu (Danz & Lupton, 1992).

Dle dalších experimentů provedených s amarantem zbaveným tukového podílu však došlo ke stanovení hypotézy, že i jiné složky, například proteinová, jsou schopny vykázat hypocholesterolemický efekt (Mendonca, et al., 2009) (Berger, et al., 2003) (Andrea, et al., 2002) (Escudero, et al., 2004).

Diskutována je též schopnost skvalenu, jež je ve vyšší míře v amarantu obsažen (Becker, et al., 1981), snižovat patologicky zvýšené hladiny především celkového a LDL cholesterolu. Tato možnost je v souladu s výsledky získanými v experimentu provedeném na potkaních (Shinn, et al., 2004), ve kterém bylo pozorované hypolipidemické působení přisouzeno právě skvalenu, přičemž efekt byl evidentní v séru i játrech. Skvalen z amarantu zvýšil fekální exkreci žlučových kyselin a cholesterolu. Zajímavým nálezem studie byla mírná inhibice enzymu 3-HMG-CoA reduktázy. Autoři práce naznačili, že skvalen snižoval cholesterol zejména zvýšením fekální eliminace steroidů díky interferenci s absorpcí cholesterolu. Dle autorů je též možné, že skvalen z různých zdrojů může ovlivňovat metabolismus cholesterolu odlišně. V placebem kontrolované studii provedené na pacientech s kardiovaskulárním onemocněním (Martirosyan, et al., 2007), která zaznamenala pozitivní výsledky po aplikaci amarantového oleje obsahujícího různé dávky skvalenu bylo zjištěno, že amarantový olej obsahující 100 mg, 200 mg, 400 mg a 600 mg skvalenu snižoval celkový cholesterol o 14 %, 17 %, 20 % a 12 % a LDL cholesterol o 19 %, 23 %, 25 %, a 12 %. Autoři upozorňují, že role skvalenu v procesu snižování cholesterolu není ještě zcela objasněna a že v dávce 1 g denně po dobu 9 týdnů byl dokonce reportován nárůst hladin VLDL a LDL cholesterolu (Miettinen & Vanhanen, 1994).

Podle některých autorů může být potenciální mechanismus účinku amarantu spojen s inhibicí biosyntézy skvalenu, prostřednictvím inhibice enzymu skvalen oxygenázy, který byl identifikován jako potenciální cíl pro hypocholesterolemickou terapii. V amarantu může být jedna nebo více účinných látek s tímto účinkem (Belter, et al., 2011).

Diskrepance nalezené v literatuře naznačují komplexnost celé problematiky, kdy nejen obsahové látky, ale i samotný patologický stav a výběr produktu z amarantu (olej,

semeno, mouka) mohou sehrávat významnou roli v konečném hypolipidemickém působení amarantu, a ukazují na potřebu provedení dalších studií za účelem jak identifikace hypolipidemicky aktivních látek amarantu, tak i podmínek, za kterých budou produkty z amarantu schopny dosáhnout nejlepšího účinku - určení vhodné formy a identifikace cílové populace.

#### **4.3.3. Antidiabetický a antioxidační efekt**

Diabetes v kombinaci s poruchou lipidového metabolismu významně zvyšuje celkové kardiovaskulární riziko u pacientů. Hyperglykémie hraje významnou roli v procesu glykace a oxidace LDL částic.

Oxidace LDL částic je považována za důležitý faktor pro rozvoj předčasných aterosklerotických změn. U diabetika lze nalézt vyšší podíl malých denzních LDL částic, které jsou více citlivé na oxidaci. Oxidované LDL částice následně snadněji pronikají do intimy cév a tím akcelerují rozvoj předčasných aterosklerotických změn (Češka, et al., 2012).

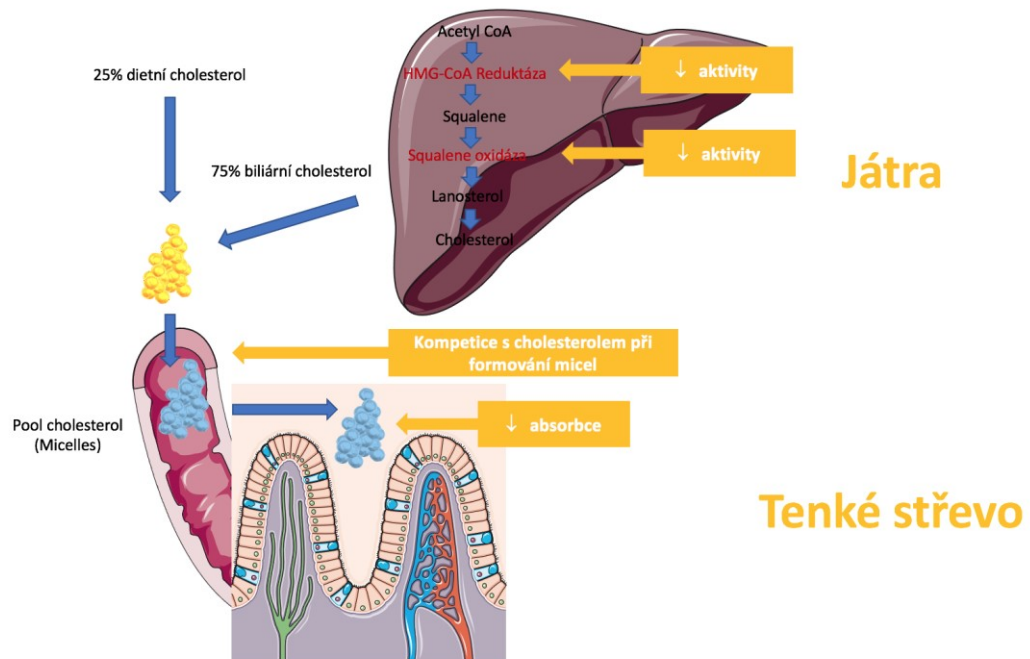
Antidiabetická a antioxidační aktivita amarantu (semena ze dvou variet *Amaranthus caudatus*-var. Oscar Blanco a var. Victor červená obsahující 2,2 respektive 7,5 % skvalenu) byla testována na modelu inhibice alfa-amylázy, respektive na modelu oxidace lipidů lipozomů. Inhibice  $\alpha$ -amylázy blokuje hydrolýzu glykosidických vazeb cukrů, čímž vede ke snížení absorpce glukózy z trávicího traktu a reguluje vyšší postprandiální hladiny glukózy v krvi (Conforti, et al., 2005). Autoři studie zjistili, že methanolový a ethylacetátový extrakt ze semen amarantu vykazovaly znatelnou antidiabetickou aktivitu. Vzhledem k tomu, že skvalen samotný byl méně účinný, došli autoři k závěru, že se na celkovém efektu podílí více složek. Kasozi ve své práci přisoudil antidiabetické vlastnosti amarantu zlepšení kalciové homeostázy v krvi, ledvinách a játrech (Kasozi, et al., 2012), zatímco Velarde-Salcedo inhibiční aktivitě na dipeptidyl-peptidázu IV (Velarde-Salcedo, et al., 2017). Ethylacetátový extrakt spolu se skvalenem vykazoval dobrou antioxidační aktivitu v modelu peroxidace lipidů. Snížení peroxidace lipidů a zvýšení antioxidační aktivity bylo pozorováno i v práci Paska (Pasko, et al., 2009). Stejný autor popsal ve své další práci, že jak amarantové zrno, tak i klíčky vykazovaly relativně vysokou antioxidační aktivitu (Pasko, et al., 2011). Obdobně byla zaznamenána uspokojivá antioxidační aktivita amarantového semena v práci využívající beta-karotenový a

linoleátový model (Klimczak, et al., 2002). Inhibice peroxidace lipidů pomocí hydrolyzovaného proteinu z *amaranthus caudatus* byla pozorovaná v experimentu provedeném na larvách a embryích Dánia (*Danio rerio*) (Vilacundo, et al., 2018). Zajímavé výsledky získal Lee ve studii, ve které byla zaznamenán antioxidační efekt a suprese buněk CT 26 (rakovina rekta) prostřednictvím listů z květů amarantu (*Amaranthus cruentus L*) (Lee & Joo, 2018).

#### **4.3.4. Antihypertenzní efekt**

Významnou roli v regulaci krevního tlaku hraje osa renin-angiotensin-aldosteron. Podle některých autorů mohou být proteiny obsažené v amarantu schopny vyvolat antihypertenzní účinek prostřednictvím inhibice funkce angiotensin konvertujícího enzymu. V práci Silva-Sanchez et al. autoři uvedli, že amarantové semeno může obsahovat proteiny s takovým účinkem (Silva-Sanchez, et al., 2008). Tiengo et al testovali in vitro inhibiční aktivitu odtučněné amarantové mouky a jejích produktů. Proteiny hydrolyzované alkalázou vykazovaly antihypertenzivní efekt před i po in vitro digesci, což naznačuje, že tyto peptidy nejsou dále ovlivněny gastrointestinálními enzymy (Tiengo, et al., 2009). Tovar-Perez et al. studoval proteinovou frakci získanou z amarantového zrna znovu s pozitivními výsledky (Tovar-Perez, et al., 2009). Přítomnost proteinů s antihypertenzním byla také nalezena v práci Vecchiho a Anona (Vecchi & Anon, 2009).

Obrázek 9 Možný antihypertenzní efekt amarantu (Chmelík, et al., 2019)



Možný mechanismus antihypertenzního účinku, inhibice funkce ACE (Silva-Sanchez, et al., 2008) (Tiengo, et al., 2009) (Tovar-Perez, et al., 2009) (Vecchi & Anon, 2009) je naznačen žlutou šipkou.

## **SOUHRNNÝ KOMENTÁŘ K PUBLIKACÍM RELEVANTNÍM V PŘÍLOZE**

### **5. Pracovní hypotéza a cíle práce**

**Pracovní hypotéza** předpokládala, že amarantová mouka by měla být schopna v metodice popsaném uspořádání pokusu snížit hladinu především LDL a celkového cholesterolu, ideálně bez negativního působení na hladinu HDL cholesterolu.

**Cílem práce** bylo ověřit ve dvou na sebe navazujících studiích využívajících obdobnou metodiku schopnost amarantové mouky snížit dietetickou manipulací navozenou patologicky zvýšenou hladinu LDL a celkového cholesterolu a sledovat její vliv na hladinu HDL cholesterolu. Přidání simvastatinu, samostatně i v kombinaci s amarantovou moukou, mělo za cíl porovnat vzájemnou interakci mezi amarantovou moukou a statinem. Zařazení skvalenu mělo za úkol porovnat efekt látky považované za možného původce hypocholesterolemického efektu amarantové mouky s efektem amarantové mouky jako celku a zkusit tak blíže charakterizovat složky odpovědné za schopnost amarantové mouky snižovat hladinu cholesterolu.

**Dalším cílem práce** bylo poznatky získané v provedených experimentech a rešerši literárních podkladů publikovat do souhrnného přehledu shrnujícího aktuální poznatky o amarantu nejen u hlediska jeho vlivů na metabolismus plazmatických lipidů, ale i v širším kontextu prevence oběhových onemocnění.

### **6. Materiál a metody**

V experimentální části dizertační práce byly realizovány dva na sebe navazující experimenty využívající stejné metodiky. Oba pokusy hodnotily schopnost vysokoenergetické diety navodit patologický stav v lipidovém spektru pokusných zvířat a taktéž schopnost amarantové mouky tento vývoj korigovat. V rámci prvního pokusu byly navíc zařazeny skupiny, do jejichž krmné směsi byl přidán simvastatin, a to jak samostatně, tak v kombinaci s amarantovou moukou (Pokus 1), zatímco v rámci druhého pokusu byla navíc sledována skupina, jejíž dieta obsahovala skvalen (Pokus 2).

### **6.1. Zvířata**

Do experimentu bylo zařazeno 50 (Pokus 1) respektive 40 (Pokus 2) laboratorních inbredních myši C57Bl/6J SPF (Anlab s.r.o. Praha, Czech Republic) samčího pohlaví, stejného stáří 5 týdnů a podobné hmotnosti  $19 \pm 1$  g. Po týdenní aklimatizaci byla zvířata rozdělena náhodným výběrem do pěti (Pokus 1) respektive čtyř (Pokus 2) skupin po deseti jedincích a ustájena po pěti jedincích. Průměrná hmotnost při zahájení experimentu byla  $20,12 \pm 0,42$  (Pokus 1) respektive  $21,64 \pm 0,72$ g (Pokus 2).

### **6.2. Prostředí**

Oba experimenty proběhly v akreditované laboratoři Ústavu humánní farmakologie a toxikologie Veterinární a farmaceutické univerzity Brno. Zvířata byla umístěna ve speciálních chovných nádobách K/3 (AnLab s.r.o. Praha, Czech Republic) o rozměrech 360 x 205 x 155 mm s možností příjmu krmiva i pitné vody ad libitum, za standardních podmínek, v prostředí s kontrolovaným světelným a tepelným režimem (12:12 světlo/tma, teplota 20 - 24 °C, vlhkost 75 - 86 %). Byla použita podestýlka SAWI Typ HW 300/500 (dodavatel AnLab s.r.o. Praha, Czech Republic).

### **6.3. Krmivo**

#### **Pokus 1:**

V průběhu adaptační periody (7 dní) byly myši krmeny standardní krmnou směsí Biostan MYPO (Biokron, Blučina, Czech Republic). V průběhu experimentu (49 dní) byly myši krmeny ad libitum následujícími směsmi: kontrolní krmnou směsí (C) Biostan MYPO (Biokron, Blučina, Czech Republic), vysokoenergetickou dietou (HED), vysokoenergetickou dietou s amarantovou moukou (HED+A), vysokoenergetickou dietou s amarantovou moukou a simvastatinem (HED+A+S) and vysokoenergetickou dietou se simvastatinem (HED+S).

#### **Pokus 2:**

V průběhu adaptační periody (7 dní) byly myši krmeny standardní krmnou směsí Biostan MYPO (Biokron, Blučina, Czech Republic). V průběhu experimentu (49 dní) byly myši krmeny ad libitum následujícími směsmi: kontrolní krmnou směsí (C) Biostan MYPO (Biokron, Blučina, Czech Republic), vysokoenergetickou dietou (HED),



vysokoenergetickou dietou s amarantovou moukou (HED+A), vysokoenergetickou dietou se skvalenem (HED+S).

## Pokus 1

## Pokus 2

### Složení diet použitých v experimentech

Složení diet g/100g	Skupina				
	C	HED	HED+A	HED+A+S	HED+S
Biostan MYPO*)	100	68.5	48.5	48.49	68.49
Cholesterol	0	1.5	1.5	1.5	1.5
Cukr (glukóza)	0	30	30	30	30
Amarantová mouka	0	0	20	20	0
Simvastatin	0	0	0	0.01	0.01

\*) Složení: obiloviny, vedlejší produkty rostlinného původu, mléko a mléčné výrobky, minerální látky, L-lysin, monohydrochloride, D, L-methionine, a premix doplňkových látek.

Složení diet g/100 g	Skupina			
	C	HED	HED+A	HED+S
Biostan MYPO*)	100	68.5	48.5	67.3
Cholesterol	0	1.5	1.5	1.5
Cukr	0	30	30	30
Amarantová mouka	0	0	20	0
Skvalen	0	0	0	1.2

\*) Složení: obiloviny, vedlejší produkty rostlinného původu, mléko a mléčné výrobky, minerální látky, L-lysin, monohydrochloride, D, L-methionine, a premix doplňkových látek.

## 6.4. Použité látky

Simvastatin byl zakoupen u výrobce Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

Skvalen byl zakoupen u výrobce Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

Amaranth byl zakoupen u výrobce AMR Amarant a.s., (Hradec Králové, Czech Republic). Výrobce deklaruje následující složení na 100 g směsi: sacharidy 58,2 g, tuky 6 g, z toho nasycené mastné kyseliny 0,3 g, nenasycené mastné kyseliny 1,2 g, cholesterol 0 g, obsah gliadinu maximálně 100 mg na 100 g sušiny, vláknina 15,2 g, sodík minimálně 21 mg, vápník minimálně 190 mg, hořčík minimálně 240 mg, fosfor minimálně 420 mg, železo minimálně 7,6 mg, měď minimálně 0,7 mg, zinek minimálně 2,8 mg, vitamín B6 minimálně 0,2 mg, vitamín C minimálně 3,7 mg, vitamín E 0,7-1 mg, skvalen 300 mg.

## 6.5. Laboratorní metody

Hmotnost laboratorních myší byla u obou pokusů odečítána v den 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42 a 49 trvání pokusu. Zdravotní stav zvířat byl v průběhu obou experimentů monitorován aspekci. 49. den pokusu byla zvířata po 12 hodinách lačnění a v celkové anestézii usmrcena exsanguinací krve ze srdce. Anestézie byla provedena aplikací 0,2 ml na 10 g tělesné hmotnosti směsí 1% roztoku ketaminu (Narkamon® inj., Zentiva, Prague, Czech Republic) a 2% roztoku xylazinu (Rometa® inj., Zentiva Prague, Czech Republic) v poměru 1:20. Odebraná krev byla centrifugována při 1500 g po dobu 15 minut. Vzorok

byly zamraženy. Sérový TC, LDL a HDL cholesterol byl stanoven za použití enzymatických kolorimetrických kitů (BioVendor, Brno, Czech Republic) za použití automatizovaného fotometru StarDust-MC 15 (BioVendor, Brno, Czech Republic). Všechny vzorky byly zpracovány v duplikátech.

## **6.6. Statistická analýza**

### **Pokus 1:**

Statistická analýza byla provedena za použití R softwaru, verze 2.10.1 (R Development Core Team, Vienna, Austria, 2009). Vyloučení extrémních hodnot bylo provedeno pomocí Grubbsova testu. Stanovení statistické významnosti bylo provedeno dvou výběrovým Welchovým testem. Statistická významnost byla stanovena pro  $P < 0.05$  a  $P < 0.01$ .

### **Pokus 2:**

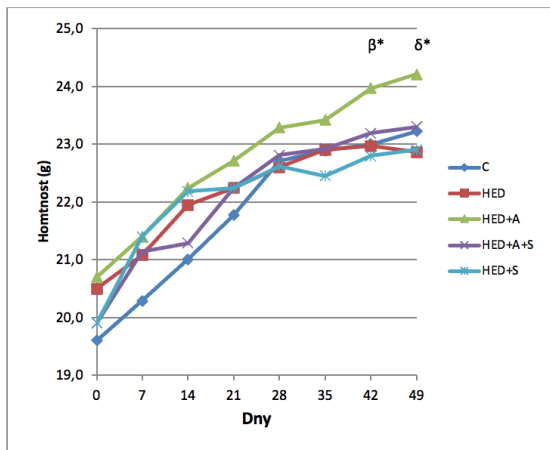
Statistická analýza byla provedena za použití R softwaru, verze 2.10.1 (R Development Core Team, Vienna, Austria, 2009). Design experimentu byl ve prospěch normálního rozložení hodnot, proto bylo možno použít Grubbsův test pro vyloučení extrémních hodnot ( $\alpha = 0.05$ ). Normalita zbylých dat byla potvrzena pomocí testu Shapiro-Wilk ( $\alpha = 0.05$ ). Statistická významnost byla vypočtena za použití jedno výběrového Studentova t testu s korekcí dle Welche, statistická významnost byla stanovena pro  $P < 0.05$ . P-hodnoty t-testu byly kategorizovány pro lepší přehlednost do tří intervalů (\* -  $0.05 > P \geq 0.01$ , \*\* -  $0.01 > P \geq 0.001$  and \*\*\* -  $P < 0.001$ ).

## **7. Výsledky**

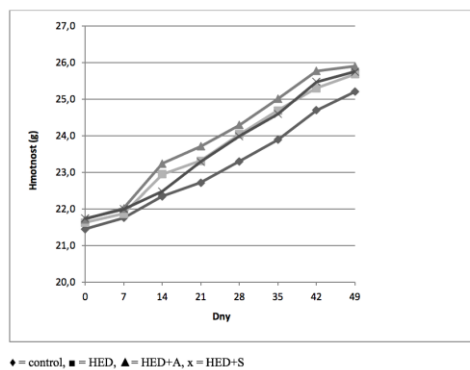
### **7.1. Efekt jednotlivých diet na hmotnost experimentálních zvířat**

Průměrná hmotnost testovaných zvířat na začátku pokusu byla 20,12g (Pokus 1) respektive 21,63g (Pokus 2), na konci experimentu pak 23,66g (Pokus 1) respektive 25,56g (Pokus 2). Zvířata přibírala rovnoměrně v průběhu obou experimentů. Průměrné hmotnosti zvířat testovaných skupin byly srovnatelné. V pokusu 1 jsme u skupiny krmené dietou obohacenou o amarantovou mouku zaznamenali statisticky významný nárůst hmotnosti mezi dny 42 a 49 v porovnání se skupinami krmenými HED dietou a HED+S dietou. Průměrný příjem potravy byl u všech skupin stejný  $4,5 \pm 0,2$  g/myš a den.

## Pokus 1



## Pokus 2

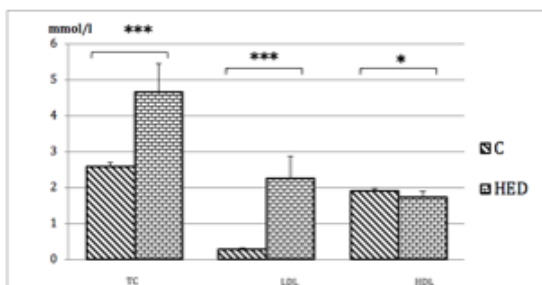


\* -  $0.05 > P >= 0.01$ , \*\* -  $0.01 > P >= 0.001$ , \*\*\* -  $P < 0.001$   
 C=Control  
 HED=High Energy Diet  
 HED+A=High Energy Diet+Amaranth flour  
 HED+A+S= High Energy Diet+Amaranth flour+Simvastatin  
 HED+S= High Energy Diet+Simvastatin  
 $\alpha$ =HED+A significantly different from C  
 $\beta$ =HED+A significantly different from HED  
 $\gamma$ =HED+A significantly different from HED+A+S  
 $\delta$ =HED+A significantly different from HED+S

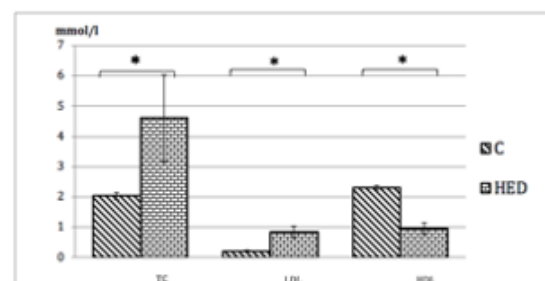
## 7.2. Efekt vysokoenergetické diety na hladinu cholesterolu

Dieta obsahující cukr a cholesterol (HED) byla zařazena za účelem navození patologického stavu. Sedmitýdenní zkrmování HED diety vedlo ke statisticky významnému zvýšení TC cholesterolu o 81 % (Pokus 1) respektive 125 %. (Pokus 2), LDL cholesterolu o 612 % (Pokus 1), respektive 304 % (Pokus 2) a poklesu HDL cholesterolu o 8,4 % (Pokus 1), respektive 58 % (Pokus 2) ve srovnání s kontrolní skupinou C.

### Pokus 1



### Pokus 2



\*=p<0,05  
 \*\*=p<0,01  
 \*\*\*=p<0,001

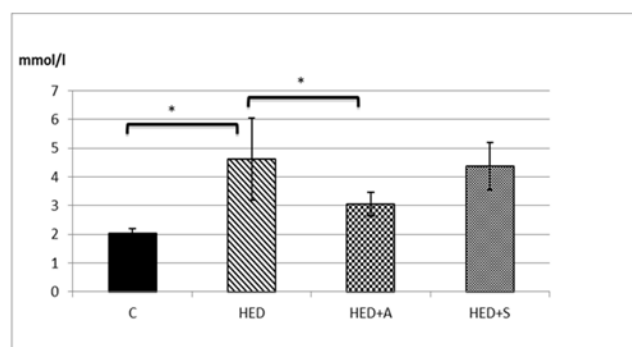
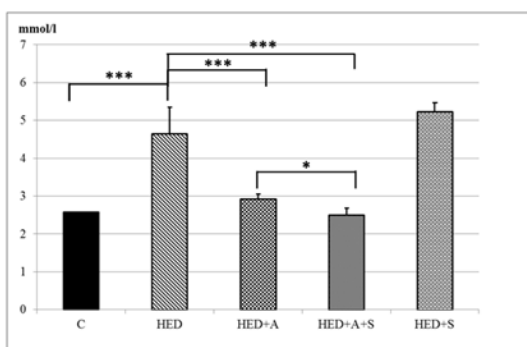
### 7.3. Efekt amarantové mouky na experimentálně indukovanou dyslipidemií

Amarantová mouka byla zařazena s cílem pozorovat její efekt na dieteticky navozenou dyslipidemií u pokusných zvířat. Sedmi týdenní zkrmování diety obohacené o amarantovou mouku vedlo ke statisticky významnému snížení TC o 37 % (Pokus 1), respektive 33 %, (Pokus 2), LDL cholesterolu o 46 % (Pokus 1), respektive 37 % (Pokus 2) a poklesu HDL cholesterolu o 27 % (Pokus 1), respektive k nárůstu 47 % (Pokus 2) ve srovnání s kontrolní skupinou HED.

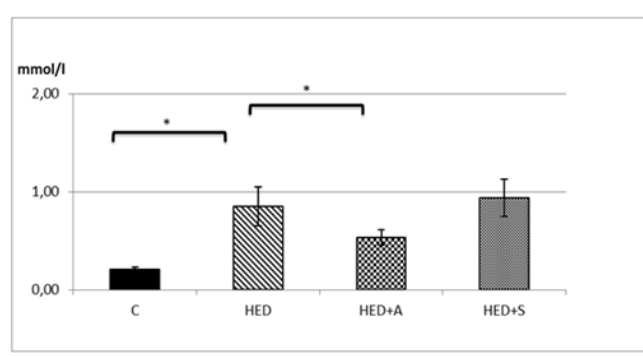
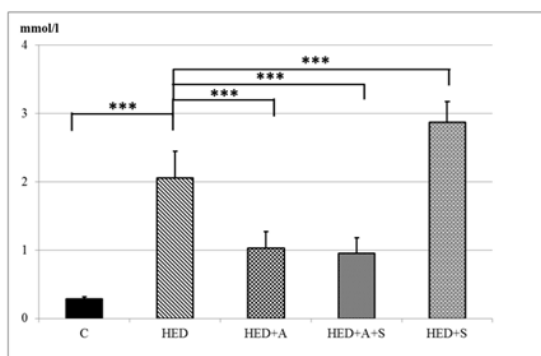
**Pokus 1**

**Pokus 2**

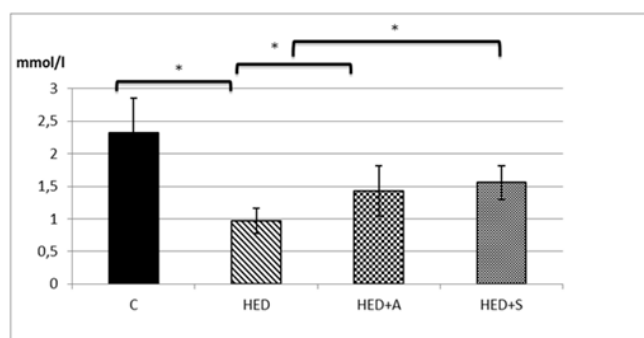
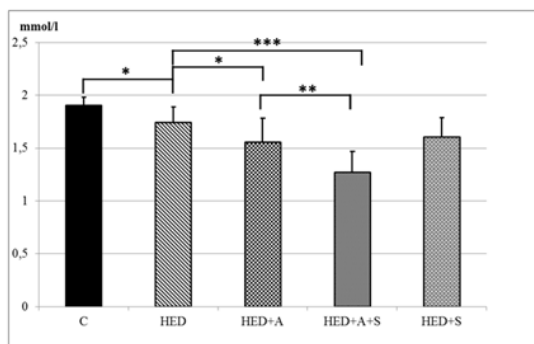
#### TC cholesterol



#### LDL cholesterol



#### HDL cholesterol



C=control  
 HED=high energy diet  
 HED+A= high energy diet + amaranth flour  
 HED+A+S= high energy diet + amaranth flour + statin  
 HED+S (Pokus 1) = high energy diet + simvastatin  
 HED+S (Pokus 2) = high energy diet + squalene  
 \*=p<0,05  
 \*\*=p<0,01  
 \*\*\*=p<0,001

#### 7.4. Efekt simvastatinu a skvalenu na experimentálně indukovanou dyslipidemii

Sedmi týdenní zkrmování diety obohacené o amarantovou mouku a simvastatin (HED+A+S) v Pokusu 1 vedlo ke statisticky významnému snížení TC cholesterolu o 46 %, LDL cholesterolu o 53 % a HDL cholesterolu o 27 % ve srovnání s HED skupinou. U skupiny krmené dietou obohacenou pouze o simvastatin nebyl zaznamenán pozitivní efekt na hladinu TC a LDL cholesterolu, na druhou stranu však nedošlo ani k negativnímu ovlivnění HDL cholesterolu. Sedmitýdenní zkrmování diety obohacené o skvalen (HED+S) v Pokusu 2 nevedlo k pozitivnímu ovlivnění TC a LDL cholesterolu, na druhou stranu však bylo zaznamenáno statisticky významné zvýšení HDL cholesterolu o 60 % ve srovnání se skupinou HED.

## 8. Diskuze

### 8.1. Efekt jednotlivých diet na hmotnost experimentálních zvířat

Výsledky získané statistickou analýzou dietních přírůstků nenaznačily v obou experimentech žádný problém s nutriční hodnotou amarantové mouky, což je v souladu s pracemi, které ukázaly, že produkty z amarantu mohou být použity jako vhodná komponenta krmných směsí (Acar, et al., 1988).

## **8.2. Efekt vysokoenergetické diety na hladinu cholesterolu**

Dle očekávání vedlo zkrmování HED diety v obou pokusech k negativnímu ovlivnění všech sledovaných parametrů (TC, LDL i HDL cholesterol). Obdobná pozorování související s dieteticky navozenou dyslipidemií učinili i další autoři provádějící experimenty na zvířecích modelech (Andrea, et al., 2002), (Kishida, et al., 2002).

## **8.3. Efekt amarantové mouky na experimentálně indukovanou dyslipidemií**

Přidání amarantové mouky do krmné směsi vedlo v obou experimentech k pozitivnímu ovlivnění TC a LDL cholesterolu, což je v souladu s pozorováním, které učinili i další autoři studující vliv produktů amarantu na hladiny lipidů (Berger, et al., 2003b), (Andrea, et al., 2002), (Quereshi, et al., 1996). Z hlediska působení amarantové mouky na HDL cholesterol nebylo mezi oběma pokusy dosaženo konsenzuálních výsledků. Obdobnou nejednotnost je možno dohledat i v literatuře, kde lze nalézt jak data, která jsou v souladu s pozorováním v Pokusu 2 (nárůst) (Berger, et al., 2003b), tak i data, která jsou v souladu s pozorováním v Pokusu 1 (pokles) (Chávez-Járegui, et al., 2010).

## **8.4. Efekt simvastatinu a skvaalenu na experimentálně indukovanou dyslipidemií**

Přidání **simvastatinu** k HED dietě v **Pokusu 1** nevedlo k poklesu celkového a LDL cholesterolu. Obdobě po přidání simvastatinu k dietě HED+A nebyl pozorován žádný pozitivní aditivní efekt na TC a LDL cholesterol. Obdobný výsledek byl zaznamenán ve studii sledující efekt simvastatinu na plazmatické lipoproteiny u myši, kdy u geneticky nemodifikovaných jedinců nebyl zaznamenán žádný efekt simvastatinu na lipoproteinový profil a u geneticky modifikovaných jedinců (inaktivovaný apoE) došlo dokonce k autory neočekávanému nárůstu celkovém cholesterolu (Chodhury, et al., 2004). Mechanismus pro toto pozorování zůstává dle autorů nejasný (zejména co se zvýšení cholesterolu týče). Jedna z možných hypotéz popisuje buď zvýšenou tvorbu lipoproteinů či redukcí clearance lipoproteinů simvastatinem. Whitehead uvádí, že při nízkých hladinách cirkulujícího LDL cholesterolu byla efektivita statinů nízká, ale zvyšovala se, pokud byly požitý geneticky modifikované myši či provedena dietetická manipulace (Whitehead, et al., 2015). Je možné, že kromě výše diskutovaných vlivů se uplatňovaly i další faktory

(např. délka trvání experimentu, zvolená dávka simvastatinu), což může vysvětlit absenci pozorovaného pozitivního vlivu simvastatinu na TC a LDL cholesterol.

Výsledky našeho experimentu spolu s výsledky pokusu, provedeného na krysách (Takeda & Kiriya, 1991) podporují hypotézu, která popisuje, že místo účinku amarantové mouky by mohlo být střevo. Hypotéza o schopnosti amarantové mouky blokovat vstřebávání cholesterolu ve střevě, je podpořena výsledky studie provedené na krysách se streptozotocinem indukovaným diabetem, kde bylo zjištěno statisticky významně zvýšené vylučování cholesterolu a žlučových kyselin stolicí (Kim, et al., 2006). Schopnost orálně podávaných semen amarantu a oleje interferovat s enterohepatálním cyklem žlučových kyselin byla popsána i Shinnem ve studii provedené na stejném zvířecím species (Shinn, et al., 2004).

Přidání **skvalenu** k HED dietě v **Pokusu 2** nevedlo ke statisticky signifikantnímu poklesu TC a LDL cholesterolu avšak vedlo ke statisticky signifikantnímu nárůstu hladiny HDL cholesterolu. Dle některých literárních zdrojů může být skvalen zodpovědný za schopnost amarantu snižovat hladinu cholesterolu v krevním séru (Andrea, et al., 2002), (Shinn, et al., 2004), (Martirosyan, et al., 2007). Na druhou stranu existuje řada prací, ve kterých je schopnost produktů z amarantu snižovat hladinu celkového a LDL cholesterolu atributovaná jiným složkám, například proteinové (Mendonca, et al., 2009) (Berger, et al., 2003) (Andrea, et al., 2002). Výsledky získané v Pokusu 2 podporují hypotézu, že amarantová mouka obsahuje více účinných látek, které se společně podílí na jejím finálním efektu na TC a LDL cholesterol.

## 9. Závěry

Obě prezentované studie potvrdily potenciál amarantové mouky pozitivně ovlivnit patologicky zvýšené hladiny lipidů v séru u myši. Po porovnání výsledků s daty z dostupné literatury je možno postulovat, že primárním místem působení amarantové mouky je pravděpodobně střevo, kde může docházet k inhibici absorpce exogenně dodávaného cholesterolu. Data dále naznačují, že amarantová mouka obsahuje více účinných látek, které se společně podílí na jejím finálním hypocholesterolemickém efektu.

Na základě těchto výsledků, lze doporučit amarantovou mouku pro další testování jako komponenty vhodné pro dietní režimy u pacientů s dyslipidemií, včetně těch alergických na obiloviny, čímž by mohla přispět k prevenci i nefarmakologické léčbě tohoto typu poruch. Nicméně s ohledem na nejednotnost výsledků týkajících se HDL cholesterolu, a skutečnost, že metabolismus lipidů u myši se liší od metabolismu lipidů u člověka, jsou další pokusy u zvířat a především lidí nezbytné.

Vlastní provedené experimentální práce a rešerše literárních podkladů vyústily v publikaci souhrnného přehledu shrnujícího aktuální poznatky o amaranthu nejen u hlediska jeho vlivů na metabolismus plazmatických lipidů, ale i v širším kontextu prevence oběhových onemocnění.



## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

Canner, P. L. a další, 1986. Fifteen year mortality in Coronary Drug Project patients: long term benefit with niacin.. *J Am Coll Cardiol*, Issue 8(6), pp. 1245-1255.

Cannon, C. P. a další, 2015. Ezetimibe Added to Statin Therapy after Acute Coronary Syndromes. *N Engl J Med*, Issue 372(15), pp. 2387-2397.

Chatuverdi, A., Sarijimi, G. & Devi, N. L., 1993. Hypocholesterolemic effect of amaranth seeds (*Amaranthus esculantus*).. *Plant Foods Hum Nutr*, Issue 44, pp. 63-70.

Chmelík, Z., Šnejdrová, M. & Vrablík, M., 2019. Amaranth as a potential dietary adjunct of lifestyle modification to improve cardiovascular risk profile. *Nutr Res*, Issue 72, pp. 36-45.

Chodhury, R. P. a další, 2004. Effects of Simvastatin on Plasma Lipoproteins and Response to Arterial Injury in Wild-Type and Apolipoprotein-E-Deficient Mice. *J Vasc Res*, Issue 41, pp. 75-83.

Conforti, F. a další, 2005. In vitro antioxidant effect and inhibition of alpha-amylase of two varieties of *Amaranthus caudatus* seeds.. *Biol Pharm Bull*, Issue 28, pp. 1098-1102.

Craig, W. Y., Palomaki, G. E. & Haddow, J. E., 1989. Cigarette smoking and serum lipid and lipoproteins concentrations: an analysis of published data.. *Br Med J*, Issue 298(6676), pp. 787-788.

Chávez-Járegui, R. N. a další, 2010. Effects of defatted amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) snacks on lipid metabolism of patients with moderate hypercholesterolemia. *Ciênc Tecnol Aliment*, Issue 30(4), pp. 1007-1010.

Czerwiński, J. a další, 2004. Oat (*Avena sativa* L.) and amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) meals positively affect plasma lipid profile in rats fed cholesterol-containing diets. *J Nutr Biochem*, Issue 15(10), pp. 622-629.

Češka, R., 2019. Farmakoterapie dyslipidemií. V: *Markova farmakoterapie vnitřních nemocí*. Praha: Grada Publishing, pp. 495-528.

Češka, R. a další, 2004. *Dyslipidemie, doporučený diagnostický a léčebný postup pro všeobecné a praktické lékaře*. Praha: Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP.

Češka, R. a další, 2004. *Dyslipidemie, doporučený diagnostický a léčebný postup pro všeobecné a praktické lékaře*. Praha: Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP.

Češka, R. a další, 2012. *Cholesterol a aterosklérosa, léčba dyslipidemií*. Praha: Triton.

Češka, R., Kvasilová, M., Procházková, R. & Dobiášová, M., 2010. Reziduální riziko, jeho význam a možnosti jeho léčby. *Kap Kardiol*, Issue 2, pp. 52-55.

Česka, R., 2011. Hyperlipoproteinemie a dyslipidemie 2011. *Kap Kardiol*, Issue 3, pp. 8-13.

Acar, N. a další, 1988. Nutritional Evaluation of Grain Amaranth for Growing Chickens. *Poult Sci*, Issue 67, pp. 1166-1173..

Ahmed, A., 2013. *ScienceDaily*. [Online] Available at: [www.sciencedaily.com/releases/2013/11/131120111952.htm](http://www.sciencedaily.com/releases/2013/11/131120111952.htm) [Přístup získán 21 Květen 2022].

Andrea, Y. A., Plate, J. & Areas, A. G., 2002. Cholesterol lowering effect of extruded amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) in hypercholesterolemic rabbits.. *Food Chem*, Issue 76, pp. 1-6.

Špinar, J. & Špinarová, L., 2020. Inclisiran a studie ORION. *Remedia*, Issue 30 (2), pp. 125-126.

Armitage, J., Holmes, M. V. & Preiss, D., 2019. Cholesteryl Ester Transfer Protein Inhibition for Preventing Cardiovascular Events: JACC Review Topic of the Week. *J Am Coll Cardiol*, Issue 73(4), pp. 477-487.

Baigent, C. a další, 2010. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials.. *Lancet*, Issue 376, pp. 1670-1681.

Barter, P. a další, 2007. HDL Cholesterol, Very Low Levels of LDL Cholesterol, and Cardiovascular Events. *N Engl J Med*, Issue 357, pp. 1301-1310.

- Bays, H. E., Goldberg, R. B. & Truit, K. E., 2008. Colesevelam hydrochloride therapy in patients with type 2 diabetes mellitus treated with metformin: glucose and lipid effects. *Arch Intern med*, Issue 168(18), pp. 1975-1983.
- Becker, R., 1989. Preparation, composition, and nutritional implications of amaranth seed oil.. *Cereal Foods World*, Issue 34, pp. 950-953.
- Becker, R. a další, 1981. A compositional study of amaranth grain.. *J Food Sci*, Issue 46, pp. 1175-1180.
- Belter, A. a další, 2011. Squalene monooxygenase – a target for hypercholesterolemic therapy. *Biol Chem*, Issue 392, pp. 1053-1075.
- Berge, K. E. a další, 2000. Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutation an adjacent ABC transporters. *Science*, Issue 290, pp. 1771-1775.
- Berger, A. a další, 2003b. Cholesterol-lowering properties of amaranth grain and oil in hamsters.. *Int J Vitam Nutr Res*, Issue 73(1), pp. 39-47.
- Berger, A., Monnard, I. & Bilat, M., 2000b. Effects of highly palatable amaranth containing foods on cholesterol levels of hypercholesterolemic men: pilot study. *Faseb J*, Issue 14, p. 250.
- Berger, A. a další, 2003. Preparation of amaranth flakes, crude oils and refined oils for evaluation of cholesterol-lowering effect in hamsters.. *Food Chem*, Issue 81, pp. 119-124.
- Breene, W. M., 1991. Food use of grain amaranth.. *Cereal Food World*, Issue 36, pp. 426-430.
- Brown, L., Rosner, B., Willet, W. & Sacks, S. M., 1999. Cholesterol-lowering effects of dietary. *Am J Clin Nutr*, Issue 69, pp. 30-42.
- Budin, J. T., Breene, W. M. & Putnam, D. H., 1996. Some compositional properties of seeds and oils of eight *Amaranthus* species.. *J Am Oil Chem*, Issue 73, pp. 475-481.
- Bultas, J. & Karetová, D., 2018. Co přinesla studie REVEAL?. *Interv Akut Kardiol*, Issue 17(4), p. 239–242.

- Danz, R. A. & Lupton, J. R., 1992. Physiological-effects of dietary amaranth (*Amaranthus cruentus*) on rats. *Cereal Foods World*, Issue 37, pp. 489-494.
- Das, B. a další, 2003. In vitro cytoprotective activiti of squalene on a bone marrow versus neuroblastoma model of cisplatin-induced toxicity: implications in cancer chemotherapy.. *Eur J Cancer*, Issue 39, pp. 2256-2565.
- Dattilo, A. M. & Kris-Etherton, P. M., 1992. Effects of weight reduction on blood lipids and. *Am J Clin Nutr*, Issue 56, pp. 320-328.
- de Castro, L. I. a další, 2013. Amaranth oil increased fecal excretion of bile Acid but had no effect in reducing plasma cholesterol in hamsters. *Lipids*. 2013, Issue 48(6), pp. 609-618.
- Emerging Risk Factors Collaboration, a další, 2009. Lipoprotein(a) Concentration and the Risk of Coronary Heart Disease, Stroke, and Nonvascular Mortality. *JAMA*, Issue 302(4), pp. 412-423.
- Escudero, N. L. a další, 2004. Comparison of the chemical composition and nutritional value of *Amaranthus cruentus* flour and its protein concentrate. Issue 59, pp. 15-21.
- Estruch, R., Ros, E. & Salas-Salvadó, J., 2013. PREDIMED Study Investigators. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *N Engl J Med*, Issue 368(14), pp. 1279-1290.
- Fait, T., Vrablík, M. & Češka, R., 2011. *Preventivní medicína*. 2. ed editor Praha: Maxdorf Jesenius.
- Frederickson, D. S. & Lees, R. S., 1965. A system for phenotyping hyperlipoproteinemia. *Circulation*, Issue 31, pp. 321-327.
- Furberg, C. D. & Pitt, B., 2001. Withdrawal of cerivastatin from the world market. *Curr Control Trials Cardiovasc Med*, Issue 2(5), pp. 205-207.
- Ginsberg, H. N., 2011. The ACCORD (Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes) Lipid trial: What we learnt from subgroup analyses. *Diabetes Care*, Issue 34 Suppl 2, pp. S107-S108.

- Grajeta, H., 1999. Effect of amaranth and oat bran on blood serum and liver lipids in rats depending on the kind of dietary fats.. *Nahrung*, Issue 43(2), pp. 114-117.
- Grundy, M. S., 2002. *Third Report of the expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III)*.. místo neznámé: National Institutes of Health.
- Gyllinge, H. a další, 2014. Consensus on plant sterols and plant stanols. Issue 232, pp. 346-360.
- Heart Protection Study Collaborative Group, 2002. MRC/BHF Heart Protection Study of antioxidant vitamin supplementation in 20 536 highrisk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*, Issue 360(9326), pp. 23-33.
- He, H. P., Cai, Y., Sun, M. & Corke, H., 2002. Extraction and purification of squalene from amaranthus grain.. *J Agric Food Chem*, Issue 50(2), pp. 368-372.
- Herzig, I., PISAŘIKOVÁ, B., SUCHÝ, P. & STRAKOVÁ, E., 2007. Nutriční a dietetická hodnota tuzemských krmiv jako alternativa soji a sojových produktů. Část III-Amarant jako alternativní proteinové krmivo. p. 9.
- Herzig, I., PISAŘIKOVÁ, B., SUCHÝ, P. & STRAKOVÁ, E., 2007. *Nutriční a dietetická hodnota tuzemských proteinových krmiv jako alternativa sóji a sojových produktů Část III – Amarant jako alternativní proteinové krmivo*, Praha: Výzkumný ústav zemědělské ekonomiky.
- Hopkins, P. N. & Williams, R. R., 1986. Identification and relative weight of cardiovascular risk factors. *Cardiol clin*, Issue 4(1), pp. 3-31.
- Kabiri, N., Asgary, S., Madani, H. & Mahzouni, P., 2010. Effects of *Amaranthus caudatus* l. extract and lovastatin on atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits. *J Med Plant Res*, Issue 4(5), pp. 355-361.
- Kalač, P. & Moudrý, J., 2000. Composition and nutritional value of amaranth seeds. *Czech J Food Sci*, Issue 18, pp. 201-206.
- Karásek, D., 2018. *Diabetická dyslipidemie*. Praha: Maxdorf.

- Kasozi, K. I. a další, 2012. Grain amaranth is associated with improved hepatic and renal calcium metabolism in type 2 diabetes mellitus of male Wistar rats. *Evid Based Complement Alternat Med*, Issue 2018, pp. 1-10.
- Keith, M. a další, 2014. A modified portfolio diet complements medical management to reduce cardiovascular risk factors in diabetic patients with coronary artery disease. *Clin Nutr*, Issue pii: S0261-56149(14)00174-00175.
- Kelly, S., Frost, G., Whittaker, V. & Summerbell, C., 2004. Low glycaemic index diets for coronary heart disease. *Cochrane Database Syst Rev*, Issue 4, p. CD004467.
- Kim, H. K., Kim, M. J. & Shin, D. H., 2006. Improvement of lipid profile by amaranth (*Amaranthus esculantus*) supplementation in streptozotocin-induced diabetic rats. *Ann Nutr Metab*, Issue 50(3), pp. 277-281.
- Kishida, T., Nogami, H., Ogawa, H. & Ebihara, K., 2002. The hypocholesterolemic effect of high amylose cornstarch in rats is mediated by an enlarged bile acid pool and increased fecal bile acid excretion, not by cecal fermented products. *J Nutr*, Issue 132, pp. 2519-2524.
- Klimczak, I., Malecka, M. & Pacholek, B., 2002. Antioxidant activity of ethanolic extract of amaranth seeds. *Nahrung*, Issue 46, pp. 184-186.
- Kraus, W. E. a další, 2002. Effects of the. *N Engl J Med*, Issue 347, pp. 1483-1492.
- Kris-Etherton, P. M. a další, 2004. Antioxidant Vitamin Supplements and Cardiovascular Disease. *Circulation*, Issue 110, p. 637-641.
- Kromhout, D., Giltay, E. J., Geleijnse, J. M. & for the Alpha Omega Trial Group, 2010. n-3 Fatty acids and cardiovascular events after myocardial infarction. *N Engl J Med*, Issue 363, pp. 2015-2026.
- Lado, M. B. a další, 2015. Effects of the Dietary Addition of Amaranth (*Amaranthus mantegazzianus*) Protein Isolate on Antioxidant Status, Lipid Profiles and Blood Pressure of Rats. *Plant Foods Hum Nutr*, Issue 70(4), pp. 371-379.

- Lee, H. & Joo, N., 2018. Antioxidative Properties of Amaranth Cauline Leaf and Suppressive Effect against CT-26 Cell Proliferation of the Sausage Containing the Leaf. *Korean J Food Sci Anim Resour*, Issue 38(3), pp. 570-579.
- Lee, M. H. a další, 2001. Identification of a gene, ABCG5, important in the regulation of dietary cholesterol absorption. *Nat Genet*, Issue 27.
- Leon-Camacho, M., Garcia-Gonzales, D. L. & Aparicio, R., 2001. A detailed study of amaranth (*Amaranthus cruentus* L) oil fatty profile.. *Eur Food Res*, Issue 213, pp. 349-355.
- Lewington, S. a další, 2002. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet*, Issue 360, pp. 1903-1913.
- Liu, S. a další, 2001. Dietary glycemic load assessed by food-frequency questionnaire in relation to. *Am J Clin Nutr*, Issue 73, pp. 560-566.
- Li, Y. a další, 2014. A meta-analysis of red yeast rice: An effective and relatively safe alternative approach for dyslipidemia. *PLoS ONE*, 9(6), p. e98611.
- Lu, Z. a další, 2008. Chinese Coronary Secondary Prevention Study and S. Li. Effect of xuezhikang, an extract from red yeast chinese rice, on coronary events in a chinese population with previous myocardial infarction. *Am J Cardiol*, Issue 101, pp. 1689-1693.
- Maccubbin, D. a další, 2008. Lipid-modifying efficacy and tolerability of extended-release niacin/laropiprant in patients with primary hypercholesterolaemia or mixed dyslipidaemia. *Int J Clin Pract*, Issue 62(12), pp. 1959-1970.
- Mach, F. a další, 2020. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *European Heart Journal*, Issue 41, pp. 111-188.
- Maier, S. M., Turner, N. D. & Lupton, J. R., 2000. Serum lipids in hypercholesterolemic men and women consuming oat bran and amaranth products. *Cereal Chem*, Issue 77, p. 297-302.

- Maldonado-Cervantes, E. a další, 2010. Amaranth lunasin-like peptide internalizes into the cell nucleus and inhibits chemical carcinogen-induced transformation of NIH-3T3 cells. *Peptides*, Issue 31, pp. 1635-1642.
- Marcone, M. F., Kakuda, Y. & Yada, R. Y., 2003. Amaranth as a rich dietary source of beta-sitosterol and other phytosterols. *Plant Foods Hum Nutr*, Issue 58(3), pp. 207-211.
- Martirosyan, D. M. a další, 2007. Amaranth oil application for coronary heart disease and hypertension. *Lipids Health Dis*, Issue 6(1), pp. doi:10.1186/1476-511X-6-1.
- Mattar, M. & Obeid, O., 2009. Fish oil and the management of hypertriglyceridemia. *Nutr*, Issue 20, pp. 41-49.
- Mendonca, S., Saldiva, P. H., Cruz, R. J. & Areas, J. A. G., 2009. Amaranth protein presents cholesterol-lowering effect.. *Food Chem*, Issue 116, pp. 738-742.
- Mensink, R. P., Zock, P. L., Kester, A. & Katan, M. B., 2003. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *Am J Clin*, Issue 77, pp. 1146-1155.
- Miettinen, T. A. & Vanhanen, H., 1994. Serum concentration and metabolism of cholesterol during rapeseed oil and squalene feeding.. *Am J Clin Nutr*, Issue 59, pp. 356-363.
- Montero-Quintero, K. C. a další, 2014. Effect of consumption of bread with amaranth (*Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.) on glycemic response and biochemical parameters in Sprague dawley rats]. *Nutr Hosp*, Issue 31(3), pp. 313-320.
- Mooradian, A. D., Haas, M. J. & Wong, N. C., 2006. The effect of select nutrients on serum. *Endocr Rev*, Issue 27, pp. 2-16.
- Mozaffarian, D., Aro, A. & Willett, W. C., 2009. Health effects of trans-fatty acids: experimental. *Eur J Clin Nutr*, Issue 63, p. S5–S21.
- Newmark, R. E., 1997. Squalene, olive oil, a cancer risk: A Review a Hypothesis.. *Cancer Epidem Biomar*, Issue 6, pp. 1101-1103.



- Obarzanek, E. a další, 2001. Effects on blood lipids of a blood pressure-lowering diet: the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) Trial. *Am J Clin Nutr*, Issue 74(1), pp. 80-89.
- Pasko, P. a další, 2011. Effect of amaranth seeds in diet on oxidative status in plasma and selected tissues of high fructose-fed rats. *Food Chem*, Issue 126, pp. 85-90.
- Pasko, P. a další, 2009. Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. *Food Chem*, Issue 115, pp. 994-998.
- Písaříková, B., Kráčmar, S. & Herzig, I., 2005. Amino acid contents and biological value of protein in various amaranth species. *Czech J Anim Sci*, Issue 50(4), pp. 169-174.
- Quereshi, A. A., Lehmann, J. W. & Peterson, D. M., 1996. Amaranth and its oil inhibit cholesterol biosynthesis in 6-week-old female chickens.. *J Nutr*, Issue 126, pp. 1972-1978.
- Rideout, T. C., Harding, S. V., Jones, P. J. & Fan, M. Z., 2008. Guar gum and similar soluble fibers in the regulation of cholesterol metabolism: current understandings and future research priorities. *Vasc Health Risk Manag*, Issue 4, pp. 1023-1033.
- Ridker, P. M. a další, 2008. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N Engl J Med*, Issue 359, pp. 2195-2207.
- Ridker, P. M. a další, 2012. Cardiovascular benefit and diabetes risk of statin therapy in primary prevention: an analysis from the JUPITER trial. *Lancet*, pp. 565-571.
- ÚZIS ČR, 2018. *Zdravotnická ročenka České republiky*. [Online] Available at: <https://www.uzis.cz/res/f/008309/demozem2018.pdf>
- Sacks, F. M., Stanesa, M. & Hegele, R. A., 2014. Severe hypertriglyceridemia with pancreatitis: thirteen years' treatment with lomitapide. *JAMA Intern Med*, Issue 174(3), pp. 443-447.
- Salen, G. a další, 2004. Multicenter Sitosterolemia Study Group. Ezetimibe effectively reduces plasma plant sterols in patients with sitosterolemia. *Circulation*, Issue 109, pp. 966-97.

- Sampson, U. K., Linton, M. F. & Fazio, S., 2011. Are statins diabetogenic?. *Curr Opin Cardiol*, Issue 26(4), pp. 342-347.
- Shaw, K., Gennat, H., O'Rourke, P. & Del Mar, C., 2006. Exercise for overweight or obesity. *Cochrane Database Syst Rev*, Issue 4 CD003817.
- Shinn, D. H., Heo, H. J., Lee, Y. J. & Kim, H. K., 2004. Amaranth squalene reduces serum and liver lipid levels in rats fed a cholesterol diet. *Br J Biomed Sci*, Issue 61(1), pp. 11-14.
- Silva-Sanchez, C. a další, 2008. Bioactive peptides in amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) seed. *J Agric Food Chem*, Issue 56, pp. 1233-1240.
- Soares, R. A. M. a další, 2015. Major Peptides from Amaranth (*Amaranthus cruentus*) Protein Inhibit HMG-CoA Reductase Activity. *Int J Mol Sci*, Issue 16, pp. 4150-4160.
- Soška, V., 2001. *Poruchy metabolismu lipidů*. Praha: Grada.
- Stanhope, K. L. a další, 2015. A dose-response study of consuming high-fructose corn syrup-sweetened beverages on lipid/lipoprotein risk factors for cardiovascular disease in young adults. *Am J Clin Nutr*, Issue 6, pp. 1144-1154.
- Stanhope, K. L. a další, 2009. Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. *J Clin Invest*, Issue 119, pp. 1322-1334.
- SUKL, 2013. Léčba dyslipidemií. Issue 9, p. 2.
- Sun, H. a další, 1995. Bench-scale processing of amaranth seed oil.. *J Am Oil Chem Soc*, Issue 72, pp. 1551-1555.
- Takeda, H. & Kiriya, S., 1991. Effect of feeding amaranth (food red no. 2) on the jejunal sucrase and digestion/absorption capacity of the jejunum in rats.. *J Nutr Sci Vitaminol*, Issue 37, pp. 611-623.
- Tan, X. J. a další, 2008. Relationship between smoking and dyslipidemia in western Chinese elderly males.. *J Clin Lab Anal*, Issue 22(3), pp. 159-163.

The AIM-HIGH Investigators, 2011. Niacin in Patients with Low HDL Cholesterol Levels Receiving Intensive Statin Therapy. *N Engl J Med*, Issue 365(24), pp. 2255-2267.

The HPS2-THRIVE Collaborative Group, 2014. Effects of Extended-Release Niacin with Laropiprant in High-Risk Patients. *N Engl J Med*, Issue 371(3), pp. 203-212.

Tiengo, A., Faria, M. & Netto, F. M., 2009. Characterization and ACE-inhibitory activity of amaranth proteins. *J Food Sci*, Issue 74, pp. H121-126.

Tonkin, A. M. & Chen, L., 2010. Effects of Combination of Lipid Therapy in the Management of Patients With Type 2 Diabetes Mellitus in the Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes (ACCORD) Trial.. *Circulation*, Issue 122, pp. 850-852.

Tovar-Perez, E. G., Guerrero-Legarreta, I., Farres-Gonzales, A. & Soriano-Santos, J., 2009. Angiotensin I-converting enzyme-inhibitory peptide fractions from albumin 1 and globulin as obtained of amaranth grain. *Food Chem*, Issue 116, pp. 437-444.

Vecchi, B. & Anon, M. C., 2009. ACE inhibitory tetrapeptides from *Amaranthus hypochondriacus* 11S globulin. *Phytochemistry*, Issue 70, pp. 864-870.

Velarde-Salcedo, A. J. a další, 2017. Consumption of amaranth induces the accumulation of the antioxidant protein paraoxonase/arylesterase 1 and modulates dipeptidyl peptidase IV activity in plasma of streptozotocin-induced hyperglycemic rats. *J Nutrigenet Nutrigenomics*, Issue 10(5-6), pp. 181-183.

Venskutonis, P. R. & Kraujalis, P., 2013. Nutritional Components of Amaranth Seeds and Vegetables: A Review on Composition, Properties, and Uses. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, Issue 12(4), pp. 381-412.

Vilacundo, R. a další, 2018. Inhibition of lipid peroxidation of kiwicha (*Amaranthus caudatus*) hydrolyzed protein using zebrafish larvae and embryos. *Plants (Basel)*, Issue 7(3), p. 69.

Vrablík, M. & Češka, R., 2014. News in lipid lowering treatment. *Vnitř. Lék.*, Issue 60(11), pp. 949-957.

Vrablík, M., 2015. Léčba hypertenze k dlouhodobé spokojenosti pacienta i lékaře. *Practicus*, Issue 6, pp. 22-24.

- Vrablík, M., 2016. Inhibitory PCSK9 ve světle posledních údajů. *Issue 15(1)*, pp. 54-57.
- Vrablík, M. a další, 2019. Stanovisko výboru České společnosti pro aterosklerózu k doporučením ESC/EAS pro diagnostiku a léčbu dyslipidemií z roku 2019. *AtheroRev*, *Issue 4(3)*, pp. 19-30.
- Walldius, G. a další, 2001. High apolipoprotein B, low apolipoprotein A-I, and improvement in the prediction of fatal myocardial infarction (AMORIS study): a prospective study. *The Lancet*, *Issue 358*, pp. 2026-2033.
- Whitehead, N. P. a další, 2015. A new therapeutic effect of simvastatin revealed by functional improvement in muscular dystrophy. *PNAS*, *112(41)*, pp. 12864-12869.
- Windler, E. & Gathof, B. S., 2003. Poruchy metabolismu tuků a purinů. V: *Patologická fyziologie*. Praha: Grada Publishing, pp. 377-388.
- Yusuf, S. a další, 2004. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*, *Issue 364*, pp. 937-952.
- Zadák, Z., Hyšpler, R. & Žďánský, P., 2001. Úloha sterolů a jejich prekurzorů - skvalen fytosteroly - v moderní dietologii.. *Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa*, *Issue 4*, pp. 16-17.
- Zambon, A., Hokanson, J. E., Brown, B. G. & Brunzell, J. D., 1999. Evidence for a new pathophysiological mechanism for coronary artery disease regression: hepatic lipase-mediated changes in LDL density.. *Circulation*, *Issue 99(15)*, pp. 1959-1964.
- Zomer, E. a další, 2016. Interventions that cause weight loss and the impact on cardiovascular risk factors: a systematic review and meta-analysis. *Obesity Reviews*, *Issue 17(10)*, pp. 1001-1011.

## SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Tabulka shrnující nejdůležitější rizikové faktory aterosklerózy.....	13
Tabulka 2 Fredericksonova klasifikace dle (Frederickson & Lees, 1965) .....	20
Tabulka 3 Základní farmakologická charakteristika jednotlivých statinů (SUKL, 2013) .....	33
Tabulka 4 Základní postupy v dietní léčbě dyslipidemie (Mach, et al., 2020).....	39
Tabulka 5 Shrnutí prací na zvířatech .....	49
Tabulka 6 Shrnutí prací s humánními subjekty .....	50

## SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Aterogenicita malých denzních LDL částic (Češka, et al., 2012).....	22
Obrázek 2 Poruchy tvorby triglyceridových lipoproteinů (Windler & Gathof, 2003) ...	23
Obrázek 3 Nadprodukce VLDL (Windler & Gathof, 2003).....	24
Obrázek 4 Poruchy katabolismu lipoproteinů bohatých na triglyceridy (Windler & Gathof, 2003).....	25
Obrázek 5 Poruchy hepatálního vychtávání lipoproteinů bohatých na triglyceridy (Windler & Gathof, 2003) .....	26
Obrázek 6 Porušený katabolismus LDL (Windler & Gathof, 2003) .....	28
Obrázek 7 Zpětný transport cholesterolu do jater zprostředkovaný HDL (Windler & Gathof, 2003).....	29
Obrázek 8 Možné mechanismy hypocholesterolemického efektu amarantu (Chmelík, et al., 2019) .....	51
Obrázek 9 Možný antihypertenzní efekt amarantu (Chmelík, et al., 2019).....	55

## **SOUHRNNÝ ABSTRAKT K PUBLIKACÍM V PŘÍLOZE RELEVANTNÍM K PŘEDMĚTNÉMU TÉMATU**

### **Abstrakt (CZ)**

**Úvod:** Dieta vhodná u poruch metabolismu lipidů by neměla zvyšovat celkový a LDL cholesterol a ideálně by měla napomáhat k jeho snižování. Analýza literárních zdrojů naznačuje, že amarant může tyto vlastnosti splňovat.

**Cíle práce:** Provedení literárního šetření dané problematiky a experimentální ověření literaturou avizovaného hypolipidemického působení amarantu v laboratorních podmínkách.

**Metodika:** 50 (Pokus 1) respektive 40 (Pokus 2) myši bylo rozděleno do pěti (Pokus 1) respektive čtyř (Pokus 2) skupin krmených kontrolní směsí (C), vysokoenergetickou dietou (HED), vysokoenergetickou dietou s amarantem (HED+A) a v Pokusu 1 dále vysokoenergetickou dietou s amarantovou moukou a simvastatinem (HED+A+S) či pouze se simvastatinem (HED+S) a v Pokusu 2 vysokoenergetickou dietou se skvalenem (HED+S). Myším byly měřeny hmotnostní přírůstky a stanoven celkový (TC), LDL a HDL cholesterol.

**Výsledky:** Zkrmování HED diety vedlo ke statisticky významnému zvýšení TC cholesterolu o 81 % (Pokus 1), respektive o 125 % (Pokus 2), LDL cholesterolu o 612 % (Pokus 1), respektive 304 % (Pokus 2) a poklesu HDL cholesterolu o 8,4 % (Pokus 1), respektive 58 % (Pokus 2). Zkrmování diety HED+A vedlo ke statisticky významnému snížení TC cholesterolu o 37 % (Pokus 1), respektive 33 %, (Pokus 2), LDL cholesterolu o 46 % (Pokus 1), respektive 37 % (Pokus 2) a poklesu HDL cholesterolu o 27 % (Pokus 1), respektive k nárůstu o 47 % (Pokus 2). Dieta HED+A+S v Pokusu 1 vedla ke statisticky významnému snížení TC cholesterolu o 46 %, LDL cholesterolu o 53 % a HDL cholesterolu o 27 %. Dieta HED+S v Pokusu 1 nezaznamenala pozitivní efekt na hladinu TC a LDL, ale ani negativní na HDL cholesterol. Dieta HED+S v Pokusu 2 ovlivnila pozitivně pouze HDL cholesterolu o 60 %.

**Závěr:** Výsledky potvrzují schopnost amarantové mouky snížit TC a LDL cholesterol. Efekt na HDL cholesterol je nejasný. Taktéž se zdá, že je v amarantu přítomna řada látek, které se podílí společně na jeho výsledném hypolipidemickém efektu.

## **Abstract (EN)**

**Introduction:** Diet suitable for lipid metabolism disorders should not increase the total (TC) and LDL cholesterol, and ideally should assist in its lowering. Analysis of literary sources suggest that amaranth can meet these properties.

**Aim:** The execution of literary investigation of the issue and experimental verification of lipid-lowering effect of amaranth flour in laboratory conditions.

**Methods:** 50 (Experiment 1) or 40 (Experiment 2) The mice were divided into five (Experiment 1) or four (Experiment 2) groups fed by control mixture (C), high-energy diet (HED), high-energy diet with amaranth (HED+A) and in Experiment 1, by high-energy diet with amaranth flour and simvastatin (HED+A+S) or only with simvastatin (HED+S), and in Experiment 2 a by high-energy diet with squalene (HED+S). Weight gains were measured and TC, LDL and HDL cholesterol determined.

**Results:** Feeding of HED diets resulted in a statistically significant increase in the TC cholesterol by 81% (Experiment 1) or 125% (Experiment 2), LDL cholesterol of 612% (Experiment 1) or 304% (Experiment 2) and a decrease in HDL cholesterol by 8.4% (Experiment 1) or 58% (Experiment 2). Feeding of HED+A diet resulted in a statistically significant reduction in the TC cholesterol by 37% (Experiment 1) or 33% (Experiment 2), LDL cholesterol by 46% (Experiment 1) or 37% (Experiment 2) and a decrease in HDL cholesterol by 27% (Experiment 1) or an increase of 47% (Experiment 2). Diet HED+A+S in Experiment 1 resulted in a statistically significant reduction in the TC cholesterol by 46%, LDL cholesterol by 53% and HDL cholesterol by 27%. HED+S diet in Experiment 1 showed neither a positive effect on the level of the TC and LDL nor negative on HDL cholesterol. Diet HED+S in Experiment 2 positively influenced only HDL cholesterol by 60%.

**Conclusion:** The results confirm the ability of amaranth flour to reduce TC and LDL cholesterol. The effect on HDL cholesterol is unclear. Also, it seems that the amaranth presents numerous substances which participate jointly in its final hypolipidemic effect.



## **PUBLIKAČNÍ ČINNOST AUTORA SOUVISEJÍCÍ SE ZKOUMANOU PROBLEMATIKOU**

### **Publikace se vztahem k dizertační práci**

#### ***a) S impakt faktorem***

**CHMELÍK Z., KOTOLOVÁ H., PIEKUTOWSKA Z., HORSKÁ K., BARTOŠOVÁ L., SUCHÝ P., KOLLÁR P., 2013.** A comparison of the impact of amaranth flour and squalene on plasma cholesterol in mice with diet-induced dyslipidaemia. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 2013, 126, stránky 251-255. ISSN: 0005-9366, IF<sub>2012</sub>: 0.887

**CHMELÍK Z., KOTOLOVÁ H., ZÁVALOVÁ V., BARTOŠOVÁ L., SUCHÝ P., KOLLÁR P., 2013.** The effect of amaranth flour on plasma cholesterol profile in mice with diet-induced dyslipidemia. *Curr Top Nutraceut R.* 2013, 11, stránky 67-74. ISSN: 1540-7535, IF<sub>2012</sub>: 0.262

**CHMELÍK Z., ŠNEJDRLOVÁ M., VRABLÍK M., 2019.** Amaranth as a potential dietary adjunct of lifestyle modification to improve cardiovascular risk profile. *Nutr Res.* 2019, 72, stránky 36-45. ISSN: 0271-5317, IF<sub>2019</sub>: 2.627

#### ***b) Bez impakt faktorů***

**CHMELÍK Z., ZÁVALOVÁ V., SUCHÝ P., KOTOLOVÁ H., KOLLÁR P. 2009.** Hypolipidemický účinek obsahových látek Amarantu. *Čes a slov Farm.* 2009, 58, stránky 200-202. ISSN 1210-7816

### **Publikace bez vztahu k dizertační práci**

#### ***a) S impakt faktorem***

**CHMELÍK Z., VACLOVÁ M., LÁNSKÁ V., LAŠTŮVKA J., VRABLÍK M. 2020.** Analysis of incidence and prevalence of cardiovascular risk factors and evaluation of their control from an epidemiological survey in the Czech Republic. *CEJPH* 2020, 20(2), stránky 114-119. ISSN: 1803-1048, IF<sub>2018</sub>: 0.636

## **b) Bez impakt faktorů**

VRABLÍK M., CHMELÍK Z., LÁNSKÁ V., 2014. Cardiovascular risk profile in 40-year-old men and 50-year-old women in the Czech Republic: results of a cross-sectional survey. *Vnitř Lék* 2014, 60(11), stránky 991-997. ISSN: 1801-7952

VRABLÍK M., CHMELÍK Z., LÁNSKÁ V., 2014. Kdy a jak určovat kardiovaskulární riziko? Lépe dříve nežli později... *Acta Med* 2015, 4(3), stránky 41-45. ISSN: 1805-398X

VRABLÍK M., CHMELÍK Z., LÁNSKÁ V., 2015. Cardiovascular risk profile in 40-year-old men and 50-year-old women in in ambulanices of general practitioners. *Practicus*. 2015, 14(8), stránky 15-19. ISSN: 1213-8711

CHMELÍK Z., VRABLÍK M., VACLOVÁ M., LÁNSKÁ V., 2016. Vysoká prevalence kardiovaskulárních rizikových faktorů a neuspokojivá kontrola hladin LDL-cholesterolu v populaci 40letých mužů a 50letých žen v České republice. *AtheroRev*. 2016, 1(3), stránky 111-115. ISSN: 2464-6555

CHMELÍK Z., VRABLÍK M., 2018. Familiární hypercholesterolemie, prenatální vývoj a ateroskleróza: Jak časovat kardiovaskulární prevenci? *Medicina po promoci*. 2018, 1, stránky 170-174. ISSN: 1212-9445

## **Prezentace na kongresech a sympoziích**

1. 59. Farmakologické dni v Bratislavě: **Chmelík Z.**, Kotolová H., Kollár P. Testování hypocholesterolemického účinku amarantu a jeho srovnání se statiny na laboratorních myších. 2. – 4. 9. 2009
2. Prague European Days of Internal Medicine 2014: **Chmelík Z.**, Vrablík M. The effect of amaranth flour on plasma cholesterol levels: Another option for cardiovascular risk lowering? 18. – 20. 9. 2014
3. 18. kongres o ateroskleróze: **Chmelík Z.**, Vrablík M. Vliv amarantové mouky na hladinu plazmatického cholesterolu: další možnost pro snížení kardiovaskulárního rizika? 11. – 13. 12. 2014

4. 83. EAS Congress Glasgow: **Chmelík Z.**, Vrablík M. The effect of amaranth flour on plasma cholesterol levels: Another option for cardiovascular risk lowering? 22. – 25. 3. 2015
5. 17. ISA Congress Amsterdam: Vrablík M., **Chmelík Z.**, Lánská V. Cardiovascular risk profile in 40-year old men and 50-year old women in the Czech Republic: results of a cross-sectional survey. 23. – 26. 5. 2015
6. 19. kongres o ateroskleróze: **Chmelík Z.**, Vrablík M., Lánská V. Analýza kardiovaskulárního rizikového profilu 40ti letých mužů a 50ti letých žen účastnících se průřezové studie v České republice. 3. – 5. 12. 2015
7. 84. EAS congress Innsbruck: **Chmelík Z.**, Vrablík M., Lánská V. High prevalence of CVD risk factors and unsatisfactory control of LDL-C levels in 40 years old men and 50 years old women in the Czech Republic. 29. 5. – 1. 6. 2016

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu

Souhlasím/Nesouhlasím\* s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze,

ZDENĚK CHMELÍK

## **Identifikační záznam**

CHMELÍK, Zdeněk. Možnosti ovlivnění markerů kardiovaskulárního rizika stravou obohacenou amarantovou moukou. [*Possibilities of influence of cardiovascular risk markers with a diet enriched with amaranth flour*]. Praha, 2022. 87 s., počet příloh 4. Dizertační práce. Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, 3. interní klinika  
Školitel: prof. MUDr. Michal Vrablík, Ph.D.

## SEZNAM PŘÍLOH

### *a) Publikace s impakt faktorem*

**CHMELÍK Z., KOTOLOVÁ H., PIEKUTOWSKA Z., HORSKÁ K., BARTOŠOVÁ L., SUCHÝ P., KOLLÁR P., 2013.** A comparison of the impact of amaranth flour and squalene on plasma cholesterol in mice with diet-induced dyslipidaemia. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 2013, 126, stránky 251-255. ISSN: 0005-9366, IF<sub>2012</sub>: 0.887

**CHMELÍK Z., KOTOLOVÁ H., ZÁVALOVÁ V., BARTOŠOVÁ L., SUCHÝ P., KOLLÁR P., 2013.** The effect of amaranth flour on plasma cholesterol profile in mice with diet-induced dyslipidemia. *Curr Top Nutraceut R.* 2013, 11, stránky 67-74. ISSN: 1540-7535, IF<sub>2012</sub>: 0.262

**CHMELÍK Z., ŠNEJDRLOVÁ M., VRABLÍK M., 2019.** Amaranth as a potential dietary adjunct of lifestyle modification to improve cardiovascular risk profile. *Nutr Res.* 2019,72, stránky 36-45. ISSN: 0271-5317, IF<sub>2019</sub>: 2.627

### *b) Publikace bez impakt faktoru*

**CHMELÍK Z., ZÁVALOVÁ V., SUCHÝ P., KOTOLOVÁ H., KOLLÁR P. 2009.** Hypolipidemický účinek obsahových látek Amarantu. *Čes a slov Farm.* 2009, 58, stránky 200-202. ISSN 1210-7816