

Univerzita Karlova

1. lékařská fakulta

Studijní program: Biomedicína

Studijní obor: Biochemie a patobiochemie



UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta

MUDr. Stanislav Ševela

Tukové emulze v dlouhodobé parenterální výživě.

Lipid emulsions in long-term parenteral nutrition.

Disertační práce

Školitel:

Doc. MUDr. František Novák, PhD

Praha, 2024

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

V Praze 4.3.2024

Stanislav Ševela

Identifikační záznam:

ŠVELA, Stanislav. Tukové emulze v dlouhodobé parenterální výživě. [Lipid emulsions in long-term parenteral nutrition.] Praha, 2024. 95 stran. Disertační práce. Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta, 4.interní klinika. Školitel Novák, František.

Poděkování

Rád bych zde poděkoval v první řadě svému školiteli doc. MUDr. Františku Novákovi, PhD ze 4. interní kliniky Všeobecné fakultní nemocnice v Praze a 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a za odborné vedení, výborné připomínky a podněty jak během celého mého postgraduálního studia, tak při sepisování této práce. Vím, že to se mnou nebylo mnohdy lehké, a jeho pomoci si velice vážím. Děkuji rovněž paní doc. RNDr. Olze Novákové CSc. za cenné rady. Dále velmi děkuji kolegům, kteří se se mnou podíleli na publikacích, zejména pak panu prof. MUDr. Liboru Vítkovi, PhD za podněty a MUDr. Martinu Leníčkoví, PhD za uvedení do laboratorní problematiky.

Můj velký vděk také patří kolegům z JIP 4. interní kliniky za vstřícnost a vůbec dlouhodobou spolupráci. V neposlední řadě děkuji svým rodičům za podporu a nasměrování v životě, které mě dovedlo až k této práci, již jim s láskou věnuji.

Obsah

Abstrakt	8
Abstract	9
Seznam zkratk	11
I. Úvod do problematiky	15
II. Literární úvod	17
1. Intestinální selhání (intestinal failure).....	17
Klasifikace a incidence.....	17
Syndrom krátkého střeva.....	18
2. Parenterální výživa	20
Tukové emulze	21
Rozdělení.....	21
Složení IVLE.....	22
Vlastnosti lipidových emulzí.....	23
Komplikace IVLE	24
3. Mastné kyseliny.....	26
Přehled metabolických účinků PUFA	27
4. Hepatopatie asociovaná s intestinálním selháním	30
Definice IFALD	30
Epidemiologie	32
Patofyziologie IFALD.....	33
Metabolismus žlučových kyselin	37
Farnesoid X receptor a Fibroblast growth factor 19	38
5. Zánět u intestinálního selhání a cytokiny	39
6. Oxidační stres.....	41
Faktory oxidačního stresu u intestinálního selhání	43
Lipoperoxidace.....	43

Systémy antioxidační ochrany	45
III. Cíle studie.....	49
IV. Popis studie	50
V. Metody.....	54
1/ Analýza mastných kyselin ve fosfolipidech erytrocytů	54
2/ Analýza mastných kyselin ve fosfolipidech plazmy	54
3/ Cytokiny	55
4/ Stimulace lipopolysacharidem z plné krve	55
5/ Analýza FGF-19.....	55
6/ Stanovení cholestenu a žlučových kyselin	55
7/ Stanovení aktivity antioxidačních enzymů	55
8/ Statistické hodnocení	57
VI. Výsledky	58
1/ Třídy mastných kyselin v lipidových emulzích a fosfolipidech erytrocytů	58
2/ Třídy mastných kyselin ve fosfolipidech erytrocytů.....	58
3/ Profil mastných kyselin ve fosfolipidech erytrocytů	60
4/ Třídy mastných kyselin v plazmatických fosfolipidech.....	60
5/ Hodnoty cytokinů v séru a stimulované LPS <i>in vitro</i>	63
6/ Antioxidační enzymy	65
7/ Biochemické parametry	67
8/ FGF19 a žlučové kyseliny.....	69
VII. Diskuze	73
1/ Spektrum mastných kyselin	73
2/ Zánětlivá imunitní odpověď	73
3/ Antioxidační systém.....	77
4/ Markery stavu jaterní tkáně.....	79
VIII. Závěr.....	82

IX. Literatura..... 84

Abstrakt

Kombinace intestinálního selhání a parenterální výživy je stavem spojeným s mírným chronickým zánětem a orgánovým poškozením, z nichž nejvýznamnější je poškození jaterní. Tato zkřížená intervenční studie zkoumala účinky různých intravenózních lipidových emulzí (IVLE) obohacených o zvýšené dávky omega-3 polynenasycených mastných kyselin (n-3 PUFA) z rybího oleje (RO) u pacientů na domácí parenterální výživě (DPVP) pro chronické intestinální selhání. Dvanácti pacientům byly postupně podávány tři různé IVLE, po každé z nich ještě přidána emulze RO. Studie rovněž zahrnovala dvanáct párovaných zdravých kontrol ke srovnání. Cílem této studie bylo zjistit, jak dlouhodobé podávání těchto IVLE ovlivnilo primárně spektrum mastných kyselin (MK) v erythrocytech a plazmě, dále pak zánětlivou odpověď, antioxidační stav, markery jaterních funkcí a spektrum žlučových kyselin u DPVP a jak se tyto změny lišily od zdravých osob.

Prokázali jsme úspěšnou inkorporaci n-3 PUFA do erythrocytárních fosfolipidů a odpovídající změny spektra plazmatických MK, charakterizované zejména signifikantní nárůsty n-3 vůči n-6 PUFA, s poklesem poměru n-6/n-3 PUFA. Zjistili jsme také dlouhodobější ovlivnění těchto změn při vysoké dávce podávaného RO.

Konstatujeme zvýšené koncentrace cytokinů v séru a *in vitro* lipopolysacharidem (LPS) stimulovanou produkcí cytokinů u DPVP, a to navzdory nižším n-6/n-3 PUFA hodnotám vůči zdravým kontrolám. Dále studie ukázala vliv RO na nižší *in vitro* reaktivitu leukocytů, vyjádřenou sníženou produkcí cytokinů stimulovanou LPS. Produkce IL-6 stimulovaná LPS také v souboru negativně korelovala s parenterální dávkou n-3 PUFA, ale také s jejich podílem v erythrocytárních fosfolipidech, což naznačuje jejich protizánětlivý účinek.

Všechny režimy podávání IVLE byly spojeny se zvýšenými aktivitami SOD1 související zřejmě se zvýšeným oxidačním stresem (OS) a mírným zánětem. Intervence přidáním RO významně snížila hodnoty SOD1 na úroveň HC, na čemž se mohlo podílet snížení OS.

Zaznamenali jsme narušení metabolismu žlučových kyselin ve smyslu jejich zvýšené syntézy a snížení fibroblastového růstového faktoru 19 a mírného zvýšení alkalické fosfatázy u DPVP. Ovlivnění jejich metabolismu podávanými IVLE ani při eskalaci dávky RO jsme však neprokázali.

Klíčová slova: domácí parenterální výživa, lipidové emulze, omega-3 mastné kyseliny, intestinální selhání, cytokiny, zánět, oxidační stres, antioxidační enzymy, superoxid dismutáza 1, hepatopatie asociovaná s intestinálním selháním, fibroblastový růstový faktor 19

Abstract

The combination of intestinal failure and parenteral nutrition is a condition associated with mild chronic inflammation and organ injury, the most significant of which is hepatic injury. This crossover-controlled trial investigated the effects of different intravenous lipid emulsions (IVLE) enriched with increased doses of omega-3 polyunsaturated fatty acids (n-3 PUFA) from fish oil (FO) in patients on home parenteral nutrition (HPNP) for chronic intestinal failure. Twelve patients were consecutively given three different IVLEs, with an FO emulsion added after each IVLE. The study also included twelve paired healthy controls for comparison. The aim of this study was to investigate how long-term administration of these IVLEs affected primarily the erythrocyte and plasma fatty acid (FA) spectrum, as well as the inflammatory response, antioxidant status, markers of liver function and bile acid spectrum in HPNP, and how these changes differed from healthy subjects.

We demonstrated successful incorporation of n-3 PUFA into erythrocyte phospholipids and corresponding changes in the plasma FA spectrum, characterized in particular by significant increases in n-3 versus n-6 PUFA, with a decrease in the n-6/n-3 PUFA ratio. We also found a more prolonged effect on these changes with high dose FO administration.

We observed increased serum cytokine concentrations and *in vitro* lipopolysaccharide (LPS)-stimulated cytokine production in HPNP, despite lower n-6/n-3 PUFA levels relative to healthy controls. Furthermore, the study showed an effect of FO on lower *in vitro* leukocyte reactivity, as expressed by reduced LPS-stimulated cytokine production. LPS-stimulated IL-6 production was also negatively correlated with parenteral dose of n-3 PUFA in the cohort, but also with their proportion in erythrocyte phospholipids, suggesting their anti-inflammatory effect.

All IVLE administration regimens were associated with increased superoxide dismutase 1 (SOD1) activities, probably related to increased oxidative stress (OS) and mild inflammation. Intervention by adding FO significantly reduced SOD1 levels to HC levels, which may have contributed to the reduction in OS. We observed impaired bile acid metabolism in terms of increased bile acid synthesis and decreased fibroblast growth factor 19 and a slight increase in alkaline phosphatase in HPNP. However, we did not demonstrate any effect of escalated dose of FO on their metabolism.

Keywords: Home parenteral nutrition, lipid emulsions, omega-3 fatty acids, intestinal failure, cytokines, inflammation, oxidative stress, antioxidant enzymes, superoxide dismutase 1, intestinal failure associated liver disease, fibroblast growth factor 19

Seznam zkratek

- AIO – all-in-one
- ALA – alfa-linolenová kyselina
- ALP – alkalická fosfatáza
- ALT – alaninaminotransferáza
- ARA – arachidonová kyselina
- AST – aspartátaminotransferáza
- CA – cholová kyselina
- CAT – kataláza
- CDCA – chenodeoxycholová kyselina
- CIF – chronické intestinální selhání
- CYP7A1 – cholesterol-7 α -hydroxyláza
- DCA – deoxycholová kyselina
- DHA – kyselina dokosaheptaenová
- DPV – domácí parenterální výživa
- DPVP – pacient/i na domácí parenterální výživě
- EFL – erytrocytární fosfolipidy
- EMK – esenciální mastné kyseliny
- EPA – kyselina eikosapentaenová
- ER – endoplazmatické retikulum
- ESPEN – European Society for Clinical Nutrition and Metabolism
- FAME – fatty acids methyl esters
- FGF19 – fibroblastový růstový faktor 19
- FXR – farnesoid X receptor
- GGT – γ -glutamyltransferáza
- GPBAR1 – G protein-coupled bile acid receptor 1
- GPx – glutathionperoxidáza
- GR – glutathion redukáza
- GSH – glutathion (redukovaný)
- GSSG – glutathion disulfid (oxidovaný)
- HC – „healthy control“, kontrolní skupina v provedené studii
- HDL – lipoproteiny o vysoké hustotě
- HSC – hepatic stellate cells, hvězdčovitě buňky jater

IF – střevní selhání, intestinal failure
IFALD – intestinal failure-associated liver disease
IL-1 β – interleukin 1 β
IL-6 – interleukin 6
IL-8 – interleukin 8
IVLE – intravenózní lipidové emulze
IVS – intravenózní suplementace
LA – kyselina linolová
LDL – lipoproteiny o nízké hustotě
LPS – lipopolysacharid
MAPK – mitogen-activated protein kinase
MCT – middle chain triacylglycerols; triacylglyceroly mastných kyselin se středním řetězcem
MK – mastné kyseliny
MUFA – mononenasyčené mastné kyseliny
n-3 PUFA – omega-3 polynenasycené mastné kyseliny
n-6 PUFA – omega-6 polynenasycené mastné kyseliny
NF- κ B – nuclear factor kappa-B
NLR – NOD-like receptor
NLRP3 – NLR Family Pyrin Domain Containing 3; NOD-, LRR- a pyrin doménu obsahující protein 3
NRF2 – nuclear factor erythroid 2-related factor 2
OO – olivový olej
OS – oxidační stres
oxLDL – oxidované lipoproteiny o nízké hustotě
PEV – parenterální výživa
PFL – plazmatické fosfolipidy
PON1 – paraoxonáza 1
PPAR – peroxisome proliferator-activated receptor
PUFA – polynenasycené mastné kyseliny
RO – rybí olej
RONS – reactive oxygen and nitrogen species; reaktivní formy kyslíku a dusíku
ROS – reactive oxygen species, reaktivní formy kyslíku
SBS – short bowel syndrome, syndrom krátkého střeva
SCFA – short chain fatty acids, mastné kyseliny s krátkým řetězcem

SFA – nasycené mastné kyseliny

SIBO – small-intestinal bacterial overgrowth, syndrom bakteriálního přerůstání

SOD1 – Cu/Zn-superoxid dismutáza

SojO – sójový olej

SPMs – specialized pro-resolving mediators

TBARS – thiobarbituric acid reactive substances

TGR5 – Takeda G coupled-protein receptor 5, také označený jako GPBAR1

TLR – toll-like receptor

ŽK – žlučové kyseliny

I. Úvod do problematiky

Intravenózní lipidové emulze (IVLE) jsou základní složkou parenterální výživy (PEV) nejen v akutních stavech, ale rovněž u pacientů s chronickým střevním selháním (CIF). Tento stav je charakterizovaný nedostatečností střevní kapacity pro splnění nutričních požadavků různé etiologie, nejčastěji syndromu krátkého střeva nebo těžké střevní dysmotility. Pacienti jsou pak závislí na dlouhodobě podávané PEV v domácím prostředí (domácí parenterální výživa, DPV) (Pironi et al., 2023). Současná klinická praxe nabízí řadu IVLE zahrnujících lipidy s poměrně rozmanitým spektrem mastných kyselin (MK) a jejich poměrné zastoupení. Jejich potenciální efekt se tedy může lišit. Triacylglyceroly obsažené v IVLE nejsou pouhým zdrojem energie, ale MK v nich vázané jsou navíc inkorporovány do lipidů buněčných membrán, a buď samy nebo jako prekurzory signálních molekul jsou významnými modulátory imunitní odpovědi a zánětu, ale i metabolických procesů (Kirk et al., 2022). IVLE jsou rozdělovány do čtyř generací, přičemž první byla vyráběna pouze ze sójového oleje (SojO) a z dnešního pohledu je zřejmé její spojení se zvýšeným rizikem produkce prozánětlivých lipidových mediátorů kvůli vysokému obsahu n-6 polynenasycených mastných kyselin (n-6 PUFA) s mnoha negativními dopady, včetně podílu na jaterním poškození. Modernější IVLE jsou pak směsí SojO a oleje se středně dlouhým řetězcem triacylglycerolů (MCT) - druhá generace, nebo olivového oleje (OO) - třetí generace, např. Clinoleic. Poslední, čtvrtá generace IVLE (Smoflipid a Lipoplus) pak obsahují přidaný rybí olej (RO), jsou bohaté na omega-3 polynenasycené mastné kyseliny (n-3 PUFA) a byly vyvinuty právě s ohledem na předpokládané protizánětlivé a imunomodulační vlastnosti (Sadu Singh et al., 2020). Metaanalýzy studií PEV porovnávající přípravky založené na IVLE na bázi OO a RO prokázaly mj. bezpečnost a určité pozitivní účinky na ukazatele jaterních funkcí. V souladu s tím systematický přehled u dospělých pacientů na domácí parenterální výživě (DPVP) naznačuje, že použití alternativních IVLE spíše než čistého SojO může mít klinické výhody (Kirk et al., 2022).

Složení IVLE, tedy spektrum MK v nich obsažených, také hraje důležitou roli v regulaci produkce reaktivních forem kyslíku a dusíku (RONS), které doprovázejí CIF, a samy také mohou být zdrojem oxidačního stresu (OS) vlivem lipoperoxidace, které mohou podléhat. Některé studie naznačují, že n-3 PUFA mohou příznivě modulovat a zmírnit zánětlivé poškození. Hlavní mechanismus je nicméně stále nejasný a může zahrnovat zvýšení antioxidační aktivity nebo tlumení zánětlivé reakce. Na druhou právě n-3 PUFA jsou stranu

náchylné k lipoperoxidaci vzhledem ke svým vícečetným dvojným vazbám. Není tedy jasné, zda a do jaké míry n-3 PUFA působí antioxidačně nebo prooxidačně (Zaloga, 2021).

Kromě toho se kombinace zhoršené funkce střev s účinky PEV podílí na poškození jater, které se označuje pojmem intestinal-failure liver disease (IFALD). I když vývoj nových druhů IVLE snížily incidenci a závažnost IFALD, toto zůstává vedoucí příčinou morbidit a mortality u DPVP (Lucchinetti et al., 2021). V souvislosti s IFALD byly také popsány další faktory, jako je narušení koloběhu žlučových kyselin (ŽK), či syntézy fibroblastového růstového faktoru 19 (FGF19), endokrinně působícího člena rodiny růstových faktorů zastávající svou funkci nejen v regulaci metabolismu ŽK. Obojí se také považuje za faktor přispívající ke kontrole zánětu a oxidačního stresu (OS). CIF je rovněž spojeno s mikrobiální nerovnováhou a dysbiózou ve střevě (Cahova et al., 2017). Uvedené změny vyvolávají zánětlivou odpověď, která kromě jiných účinků zvyšuje OS. Celkově tedy lze CIF považovat za zánětlivý stav spojený s nerovnováhou antioxidačního systému (Lucchinetti et al., 2021).

Vzhledem k tomu, že neexistují jednoznačná klinická doporučení pro specificky cílenou aplikaci IVLE v DPV, je zapotřebí více studií využívajících IVLE třetí a čtvrté generace (zejména s eskalací n-3 PUFA). Proto jsme provedli studii u pacientů s CIF srovnávající dvě IVLE obohacené rybím olejem, Smoflipid a Lipoplus, a IVLE s nízkým obsahem PUFA, a naopak vysokým obsahem mononenasycených mastných kyselin (MUFA) z olivového oleje, Clinoleic. Dále pak využitím přídatku Omegaven, IVLE na bázi čistého RO, jsme testovali dopad další eskalace dávky n-3 PUFA po podání všech tří výchozích IVLE. Zaměřili jsme se na vyšetření koncentrace prozánětlivých cytokinů v séru a *in vitro* lipopolysacharidem (LPS) stimulovanou produkci cytokinů v plné krvi ve vztahu k podílům n-3 PUFA v podaných IVLE. Další oblastí, kterou jsme pak zkoumali, byl účinek IVLE a zejména eskalace n-3 PUFA na antioxidační stav, a jako další aspekt patofyziologie IFALD také koncentrace žlučových kyselin, FGF19 a jaterní enzymy. Kromě toho jsme stanovovali řadu biochemických parametrů rutinně užívaných v klinické praxi.

II. Literární úvod

1. Intestinální selhání (intestinal failure)

Evropská společnost pro klinickou výživu a metabolismus (ESPEN) definuje střevní selhání (IF) jako: „Snížení střevní funkce pod minimum nezbytné pro absorpci makronutrientů a/nebo vody a elektrolytů, které vyžaduje intravenózní suplementaci (IVS) k udržení zdraví a/nebo růstu" (Pironi et al., 2023). Tato definice je rovněž obsažena v Mezinárodní klasifikaci nemocí, 11. revize Světové zdravotnické organizace. V případě snížení střevní absorpce, které si nežadá IVS k udržení stavu pacienta, stav bývá označován jako střevní nedostatečnost, nebo deficit (intestinal insuficiency/ intestinal deficit – II/ID) (Pironi et al., 2023).

Klasifikace a incidence

Existuje několik klasifikací k popisu intestinálního selhání.

Funkční klasifikace IF z hlediska časového (Pironi, 2023):

Typ I – akutní, krátkodobý, obvykle vyžadující IVS v rámci maximálně týdnů, typicky v rámci kritického onemocnění, či břišního operativního zákroku.

Typ II – protražovaný (subakutní), obvykle u pacientů metabolicky nestabilních, jako následek „abdominální katastrofy“ resp. stavů k ní vedoucích (mezenteriální ischémie, volvulus, komplikace chirurgického výkonu). Zahrnuje také případy komplikace či akutního zhoršení chronického IF.

Typ III – chronické intestinální selhání (CIF) popisujeme u metabolicky stabilních pacientů vyžadujících intravenózní podporu po dobu měsíců nebo let. Může se vyvinout z typu II, nebo být důsledkem progresivních onemocnění, ať už primárně gastrointestinálních, či systémových, jak benigních, tak maligních (Cuerda et al., 2021).

Další praktická klasifikace zohledňuje míru dependence na IVS. Rozděluje pak pacienty dle toho, zda vyžadují substituci pouze hydratací a doplněním elektrolytů (FE typ), nebo parenterální nutriční podporu obsahující makronutrienty (PN typ). Podle průměrného denního objemu aplikované IVS tyto typy ještě rozděluje do kategorií na FE1 nebo PN1 (potřeba ≤ 1 litru/den); FE2 nebo PN2 (1–2 l/den); FE3 nebo PN3 (2–3 l/den); a FE4 nebo PN4 (s více než 3 l potřebné substituce na den) (Pironi, 2023; Pironi et al., 2018).

Intestinální selhání může být jak reverzibilní, tak ireverzibilní, obecně s dobou trvání klesá šance na obnovu funkce. Vzhledem ke stabilitě je možností, resp. léčebným standardem poskytování této podpory dlouhodobě, případně doživotně, v domácím prostředí (DPV) (Pironi et al., 2023).

Celkově jde o velmi vzácné onemocnění, resp. syndrom. V Evropě je popisována prevalence DPV v rozmezí od 5 do 80 případů na milion obyvatel (Pironi, 2023). V současné době je v České republice 428 pacientů dependentních na DPV, což tedy odpovídá prevalenci přibližně 42 pacientů na milion obyvatel. Z toho je 210 pacientů se syndromem krátkého střeva nemaligní etiologie, větší část z nich (79 %) je dependentních na podávání výživy, zbytek vyžaduje parenterální hydratační podporu (údaje z vnitřní databáze české Společnosti klinické výživy a intenzivní metabolické péče, SKVIPM).

Syndrom krátkého střeva

Hlavní patofyziologickou benigní příčinou CIF je syndrom krátkého střeva (short bowel syndrome, SBS), představující asi dvě třetiny případů u dospělých. Další příčiny pak zahrnují především poruchy motility, extenzivní postižení sliznice (u Crohnovy choroby, enteropatie různého původu), střevní fistulace, mechanické obstrukce (např. v rámci adhezí), či chronická postradiační enteritida. Specifickou problematikou je pak maligní nádorová obstruktivní etiologie (Cuerda et al., 2021; Pironi et al., 2023).

Syndrom krátkého střeva je charakterizován souborem příznaků, které vznikají v důsledku anatomického nebo funkčního zmenšení délky tenkého střeva, což vede k malabsorpci. SBS dospělého je pak definován jako klinický stav spojený s méně než 200 cm zbytkového tenkého střeva v kontinuitě, měřeno od duodenojejunálního ohybu, resp. od Treitzova vazy, ať už s tlustým střevem, nebo bez něj (Pironi, 2023). Obvykle vzniká jako následek po rozsáhlé resekci tenkého střeva. Někdy se symptomatologie SBS může objevit i při větší délce tenkého střeva, tzv. „funkční SBS“, při kombinaci s jinou patologií zbývajícího střeva (např. radiační enteropatie, či zánětlivé postižení) (Pironi, 2023).

Příznaky jsou důsledkem neschopnosti těla absorbovat dostatek živin, vody a elektrolytů.

Nejčastějším symptomem u pacientů se SBS je průjem, ke kterému přispívá nejen zkrácení délky střeva, resp. omezení resorpční plochy, ale také komplexní narušení zpětnovazebných mechanismů v rámci gastrointestinálního traktu, zvýšená motilita žaludku a hypersekrece, porušení enterohepatálního oběhu ŽK (Bering & DiBaise, 2023).

V důsledku poruchy resorpce a vysokých ztrát tekutin a minerálů hrozí u špatně kontrolovaného SBS dehydratace a komplexní poruchy vnitřního prostředí s dysbalancemi acidobazické rovnováhy a iontů v popředí. Dále se rozvíjí malnutrice a karence vitamínů a stopových prvků. Časté je také metabolické onemocnění kostí především z nedostatku vápníku a vitamínu D, a to i u stabilních pacientů. (Bering & DiBaise, 2023). Změněná motilita a anatomie vedou nejen k významným poruchám mikrobioty, ale mohou predisponovat pacienty se SBS k syndromu bakteriálního přerůstání (small-intestinal bacterial overgrowth, SIBO), který dále zhoršuje jejich schopnost absorpce živin a podílí se na zánětu (Boutte et al., 2022; Budinska et al., 2020). Vzácněji také může dojít v důsledku přemnožení bakterií produkujících kyselinu mléčnou k akumulaci D-laktátu a následné acidóze (Bering & DiBaise, 2023).

Klasifikace SBS je založena převážně na anatomii zbývajícího tenkého střeva a z toho vyplývající funkci, která koreluje s klinickými výsledky a závislostí na IVS jedinců se SBS. SBS se tak dělí na tři typy, které mohou pomoci předpovědět potřeby léčby a možnosti střevní rehabilitace (Pironi, 2023; Pironi et al., 2023):

Typ I SBS se vyznačuje přítomností jejunu zakončeného stomií terminálního typu (end-jejunostomie), která je spojena mnohdy s vysokým výdejem enterálního obsahu. Ileum, ileocekální chlopeč a tlusté střevo jsou odstraněny, či vyřazeny z pasáže. Tento typ je spojen s největšími komplikacemi při hospodaření s tekutinami a elektrolyty, tedy s největším rizikem dehydratace, nerovnováhy elektrolytů, a také rozvojem malnutrice. Pacienti bývají nejčastěji a nejvíce závislí na IVS.

Typ II SBS je charakterizován jejunokolickou anastomózou, kdy pacienti mají zachovány část jejunu a část tlustého střeva, ale chybí ileum a ileocekální chlopeč. U pacientů s tímto typem SBS bývá vzhledem k zachování části tlustého střeva lepší schopnost vstřebávat tekutiny a elektrolyty, nicméně postrádají kritické funkce ilea, včetně vstřebávání ŽK a vitamínu B12. Také chybí zpomalení střevního tranzitu pomocí ileocekální chlopeč, mají rovněž vyšší riziko bakteriálního přerůstání. Obvykle však vyžadují menší parenterální podporu než typ I a prognóza odvyknutí IVS je lepší.

Typ III SBS zahrnuje přítomnost jejunu i části ilea (jejunoileální anastomóza). Důležitým znakem je zachování ileocekální chlopeč a alespoň části tlustého střeva. Ileocekální chlopeč totiž hraje významnou roli při prodloužení pasáže, čímž umožňuje delší dobu vstřebávání živin a tekutin. Její přítomnost také pomáhá zabránit pronikání bakterií z tlustého střeva do

tenkého střeva, tedy znamená i menší riziko závažné dysmikrobie a bakteriálního přerůstání. Tlusté střevo může navíc i při absenci významné části tenkého střeva využít MK s krátkým řetězcem, vstřebávat elektrolyty a vodu, což těmto pacientům umožňuje udržovat lepší rovnováhu tekutin ve srovnání s typy I a II. Pacienti se SBS typu III tak obvykle trpí méně závažnými průjmy a pro lepší schopnost vstřebávat živiny než pacienti s typem I nebo II mívají menší potřebu IVS a nejlepší šanci na adaptaci střeva v průběhu času.

Kromě anatomické klasifikace je pro klasifikaci SBS rozhodujícím faktorem také délka zbývajících střeva. Podle ní se SBS dělí do dvou kategorií. Délka zbývajících tenkého střeva <100 cm je obvykle spojena s těžkou formou SBS a zvýšenou závislostí na IVS. Pacienti se zbývajícím délkou tenkého střeva nad 100 cm mají obecně lepší prognózu a mohou být méně závislí na IVS, zejména pak v přítomnosti tlustého střeva. Kromě toho další faktory, jako je zdravotní stav zbývajících střeva, věk pacienta, komorbidity a adaptabilita střeva v průběhu času, významně ovlivňují nutriční autonomii a potřebu doplňkové nebo úplné IVS (Cuerda et al., 2021; Pironi et al., 2023).

2. Parenterální výživa

PEV je léčebnou metodou IVS dodávající základní živiny přímo do krevního řečiště prostřednictvím intravenózní infúze. Tato léčba obchází trávicí systém a používá se u jedinců, kteří nemohou získat adekvátní výživu orální nebo enterální cestou kvůli stavům, jako je střevní selhání nebo závažné poruchy zažívacího traktu. Poskytuje pacientům kombinaci sacharidů, bílkovin, tuků, vitamínů, minerálů a dalších nezbytných živin v tekuté formě pro uspokojení jejich nutričních potřeb a udržení funkce orgánů (Pironi et al., 2023; Wichman et al., 2022).

Složky parenterální výživy obvykle zahrnují (Kohout, 2021):

1. Glukóza jako zdroj energie v dávkách 4-6 g/kg tělesné hmotnosti a den.
2. Roztok směsi aminokyselin respektující především potřebu esenciálních aminokyselin, celkově v dávce 0,75-1,5 g/kg těles. hmotnosti a den.
3. Lipidové emulze pro pokrytí potřeby energie a esenciálních mastných kyselin, v doporučené dávce 0,5-1,5 g/kg těles. hmotnosti a den.
4. Minerální látky (elektrolyty – sodík, draslík, hořčík, fosfát, vápník a chlor).
5. Mikronutrienty (vitamíny rozpustné ve vodě i v tucích a stopové prvky přidávané před aplikací v preformovaných směsích).

6. Vodu jako nosné médium roztoků a k udržení hydratace, resp. denní potřeby a korekci případných ztrát pacienta v dávce minimálně 35 ml/kg váhy a den, pakliže není naopak nutná restrikce tekutin.

Tukové emulze

IVLE mají nezastupitelnou roli v oblasti parenterální výživy, poskytující neproteinovou energii a esenciální mastné kyseliny pacientům, kteří nejsou schopni přijímat potravu orálně (Calder et al., 2020).

Pokud pomíneme rané experimenty v 17. století, pak historie aktuálně používaných IVLE sahá několik desetiletí zpět do 60. let 20. století, kdy byly vyvíjeny vzhledem k požadavku zvýšení kalorického příjmu a poznání důležitosti podávání esenciálních tuků pacientům závislých na PEV. Hlavní tukovou emulzí se tehdy stala emulze na bázi SojO. S prohlubujícím se pochopením signálních rolí lipidů bylo zřejmé, že IVLE nejen poskytují neproteinové kalorie, ale plní také důležité funkce v buněčných membránách a jsou také prekurzorem lipidových signálních molekul. Specifické zastoupení mastných kyselin přítomných v IVLE je klíčové pro integritu membrán, regulaci permeability a plní také úlohu coby prekurzory modulátorů buněčné imunitní odpovědi. Role lipidů jako substrátu pro syntézu modulátorů zánětu, funkci trombocytů, jejich regulační role v metabolismu dále posunula jejich význam v parenterální výživě (Dai et al., 2016). Během let se tak objevila rizika používání emulzí čistě na bázi sójového oleje kvůli vysokému obsahu n-6 PUFA, ale také fytosterolů (Anez-Bustillos et al., 2016). Hledání alternativních lipidových emulzí vedlo k vzniku IVLE, které měly umožnit omezení SojO. Vývoj směřoval k přípravkům na bázi OO/SojO a ke kombinacím olejů jako je SojO/tuky s mastnými kyselinami se středně dlouhým řetězcem (MCT)/OO/RO, které se nabízely jako prekurzory signálních molekul s méně zánětlivými vlastnostmi, imunomodulačními účinky, případně emulze s vyšší antioxidační kapacitou například v podobě přídavku tokoferolu (Raman et al., 2017; Sadu Singh et al., 2020).

Rozdělení

IVLE jsou děleny do čtyř generací na základě zdroje a obsahu mastných kyselin, a tím také způsobu, jakým mohou ovlivňovat zánětlivé reakce (Calder et al., 2020; Raman et al., 2017). První generace IVLE jsou založeny na SojO a obsahují vysoké množství n-6 PUFA zejména kyseliny linolové, ale také významné množství fytosterolů. V dnešní době je tedy považujeme za emulze s významnými prozánětlivými vlastnostmi (Driscoll, 2023). Od použití v čisté

podobě se dnes v nutričně klinické praxi a v našich podmínkách ustupuje. Představitelem této emulze je přípravek Intralipid 20%

Druhá generace IVLE jsou obvykle směsnými emulzemi SojO a MCT z kokosového oleje. Využití MCT umožňuje rychlejší utilizaci v energetickém metabolismu. MCT se jako nasycené MK se nepodílejí na syntéze eikosanoidů a dokosanoidů, a nejsou tedy prekurzory signálních molekul (Calder et al., 2020). Z tohoto důvodu se kombinují s tukovým substrátem bohatým na n-6 PUFA, jehož množství pak není tak vysoké. Z hlediska zánětu jsou spíše považovány za neutrální. Do této generace se dále řadí tzv. emulze strukturovaných triacylglycerolů, v nichž jsou mastné kyseliny se středně dlouhým a dlouhým řetězcem cíleně umístěny na glycerolovou páteř triacylglycerolové molekuly (Sadu Singh et al., 2020). Do druhé generace patří např. IVLE Lipofundin, který nás není v současné době k dispozici. Přípravky třetí generace IVLE jsou kombinací SojO a OO, je u nich tedy vyšší zastoupení MUFA, především kyselina olejová. Poskytují tímto i nižší příjem n-6 PUFA. Podobně jako IVLE druhé generace jsou považovány za emulze s neutrálními zánětlivými vlastnostmi (Cai et al., 2018). Příkladem u nás dnes běžně používané emulze této generace je přípravek ClinOleic, který byl použit i v naší studii.

Do čtvrté generace IVLE náleží lipidové emulze obsahující RO buď v kombinaci s jinými oleji, aby bylo dosaženo rovnováhy různých mastných kyselin, nebo RO samotný. Jsou bohaté na n-3 PUFA, zejména kyselinu eikosapentaenovou (EPA; 20:5 n-3) a kyselinu dokosahexaenovou (DHA; 22:6 n-3), které jsou prekurzorem protizánětlivých a imunomodulačních eikosanoidů a docosanoidů (Calder, 2019). Příklady u nás dostupných a používaných přípravků jsou Omegaven 10 % (čistý RO), dále pak smíšené emulze Lipoplus 20 % a Smoflipid 20 %.

Každá generace IVLE má své výhody a nevýhody, přičemž novější generace jsou navrženy tak, aby řešily potenciální nedostatky pozorované u předchozích (Anez-Bustillos et al., 2018).

Složení IVLE

IVLE používané v parenterální výživě jsou komplexní směsi různých složek, z nichž každá hraje významnou roli (Sadu Singh et al., 2020):

1. Triacylglyceroly jako hlavní složka lipidových emulzí, jsou zdrojem energie a poskytují esenciální mastné kyseliny. Obvykle se získávají z rostlinných olejů, jako je SojO, OO, kokosový olej, nebo živočišných – RO.
2. Fosfolipidy jsou pro své amfifilní vlastnosti jsou přidávány jako emulgátory s cílem stabilizace emulzí a zabránění srážení lipidových kapek. Obvykle se získávají z vaječného žloutku nebo sójového lecitinu.

3. Glycerol se využívá jako izotonické činidlo k úpravě roztoku na vhodnou osmolaritu pro intravenózní podání.
4. Elektrolyty jsou přidávány kvůli úpravě tonicity a pH. Mezi běžně přidávané elektrolyty patří sodík ve formě oleátu, či hydroxidu.
5. Mikronutrienty, některé IVLE mohou obsahovat další mikroživiny, jako je vitamin E (α - tokoferol), významný antioxidant snižující lipoperoxidaci lipidů, někdy také vitamin K.
6. Voda tvoří vodní fázi emulze, ve které jsou rozptýleny výše uvedené složky.

Proces emulzifikace vytváří specifickou strukturu a velikost částic, podobné chylomikronům („pseudo-chylomikrony“), které jsou klíčové pro stabilitu a metabolismus. Emulgátory ve formě fosfolipidů formují bariéru kolem kapiček tuku, zabraňují jejich koalescenci a zajišťují stabilitu emulze. Nadměrný poměr fosfolipidů ku oleji/triacylglycerolům však může vést ke vzniku nežádoucích struktur, nazývaných lipozomy. Tyto neslouží jako zdroj energie, a místo toho mohou přispívat k abnormalitám v plazmatických lipoproteinech. Je popisována například tvorba lipoproteinu-X, který může vést k hypercholesterolemii, zvýšení poměru volného cholesterolu k esterifikovanému cholesterolu v plazmě a k hromadění cholesterolu. Nadbytek emulgátorů může navíc inhibovat lipolýzu, což může narušit metabolismus lipozomů v plazmě. Toto narušení závisí na faktorech, jako je koncentrace oleje v emulzi, rychlost infúze a doba trvání infúze (Sadu Singh et al., 2020).

Vlastnosti lipidových emulzí

Důležitou vlastností lipidových emulzí je jejich stabilita, a to jak fyzikální, tak chemická. Fyzikální stabilita IVLE je dobře kvantifikována a závisí na řadě vnitřních a vnějších faktorů. V PEV, kde jsou IVLE začleněny do směsí, může mít každá složka stabilizační, nebo destabilizační účinky na lipidovou emulzi. Aminokyseliny fungují také jako pufr v PEV. Velké objemy roztoků aminokyselin tlumí změny pH způsobené přidáním dalších složek (Hardy & Puzovic, 2009). Důležitým poznatkem také je, že i celkové složení „all-in-one“ (AIO) přípravku může významně ovlivnit lipoperoxidaci tukové emulze, což se týká i konkrétního použitého roztoku aminokyselin (Rogulska et al., 2023). Glukóza ve vysokých koncentracích může u IVLE interagovat s emulgátorem lecitinem (Hippalgaonkar et al., 2010). I když jsou elektrolyty přidávány v malých objemech pro nutnost substituce v rámci AIO PEV, mohou interferovat s povrchovými náboji emulzí a potenciálně vést k její destabilizaci. Elektrolyty ve standardních směsích PEV zahrnují draslík, sodík, hořčík, vápník a fosforečnan. Draslík a sodík jako jednomocné ionty jsou v rámci PEV relativně stabilní. Dvojmocné ionty, zejména vápník, jsou však náchylné k tvorbě sraženin s fosfátem (Mays et

al., 2023). Faktorů ovlivňujících precipitaci fosforečnanu vápenatého je celá řada. Koncentrace přítomných aminokyselin a koncentrace glukózy s nízkým pH budou určovat konečné pH směsi PEV, a mohou tak ovlivnit precipitaci. Další faktory včetně teploty, koncentrace vápníku, či hořčíku budou mít na případné srážení. také vliv (Mays et al., 2023). Vitamín E, rozpustný v tucích, je často součástí lipidových emulzí, působí jako lapač volných radikálů, tedy hlavní antioxidant; omezuje lipoperoxidaci a následný rozklad PUFA, a přispívá tak k chemické stabilitě PEV (Xu et al., 2015). Vitamin C sám o sobě není destabilizujícím faktorem PEV. Rychle se však oxiduje a štěpí na kyselinu šťavelovou a threonovou (Grand et al., 2011). Riboflavin působí v PEV fotosenzibilizaci, čímž podporuje tvorbu RONS (T. I. Ferguson et al., 2014). Většina stopových prvků, které se přidávají do směsi AIO před podáním, je v rámci standardních PEV směsí relativně stabilní. Některé však mohou způsobit problémy se stabilitou, např. železité ionty, které se mj. podílí na lipoperoxidaci IVLE (Grand et al., 2011). Mezi vnější destabilizační faktory PEV patří teplota, kyslík a světlo. Vysoké teploty podporují peroxidaci PUFA. Pronikání kyslíku vede k chemické a fyzikální nestabilitě, mj. také peroxidaci lipidů. Samotný proces je poměrně dobře prostudován, omezenější znalosti jsou ale v rámci IVLE (Hardy & Puzovic, 2009).

Komplikace IVLE

Podávání PEV výživy je považováno za nejrizikovější formu nutriční podpory z hlediska možných komplikací (Kohout, 2021). Běžné komplikace spojené s IVLE, resp. parenterálním podáváním obecně, zahrnují komplikace infekční, imunitní a především metabolické. Existuje několik mechanismů, které zvyšují riziko infekčních komplikací u pacientů podstupujících parenterální výživu. K těmto rizikům přispívá nejen přítomnost žilního vstupu, ale také potenciální kontaminace parenterální výživy, které mohou vést k infekcím cévního řečiště spojeným s cévním katétrem (CRBSI). Role vlastních IVLE při zvyšování rizika infekčních komplikací je předmětem kontroverze. Jako možný faktor riziko zvyšující se udává např. mírně alkalické pH a izotonická povaha IVLE, které poskytuje příznivé prostředí pro růst mikrobů (Chheng et al., 2013). Dále je zde biologická role vlastních mastných kyselin a působení na imunitní buňky, které je probíráno v samostatné [kapitole 3](#).

IVLE mohou vyvolat alergické reakce přecitlivělosti na složky přípravku. Alergenní potenciál je obecně nízký, leč ne zcela vyloučený. Alergické reakce na IVLE mohou být různého stupně, od mírných po závažné. Mírné reakce mohou zahrnovat kožní vyrážky, svědění nebo kopřivku. Vážnější reakce mohou zahrnovat anafylaxi, život ohrožující stav, který může znamenat kardiorespirační selhání, resp. rozvoj potenciálně letálního anafylaktického šoku. V emulzi může být přítomen reziduální vaječný protein ve složkách vaječných fosfolipidů, dále

proteiny sóji, či rybí proteiny. Alergické reakce jsou nicméně v praxi poměrně vzácné díky vysokému stupni čištění a úpravy, které tyto produkty podstupují během výroby. V každém případě je třeba osoby s prokázanými alergiemi pečlivě sledovat při zahájení terapie (Christian et al., 2018).

Plazmatická clearance IVLE je multifaktoriální, kromě vlastní IVLE a rychlosti její aplikace se na ní podílí ještě řada metabolických vlivů. Lipidové částice jsou hydrolyzovány za účelem uvolnění mastných kyselin prostřednictvím lipoprotein lipázy, jejíž aktivita může být ovlivněna mj. zánětem, ale i vlastními MK (Papackova & Cahova, 2015). Dále má vliv také složení a spektrum MK v IVLE, obsah MCT clearance zrychluje díky jejich relativně vyšší rozpustnosti (Calder et al., 2020). Také množství emulgátorů ovlivňuje interakci mezi pseudochylomikrony z IVLE a enzymy, kdy nadbytek fosfolipidů v nich může zhoršit plazmatickou clearance interferencí s působením LPL. Vyšší dávky a rychlé podání mohou způsobit rychlejší saturaci metabolických drah, což vede k pomalejší clearance. Důležitá je také interakce s imunitním systémem, zvláště retikuloendoteliální částí (Driscoll, 2017).

V případě snížení této clearance lipidových částic z krve pak může docházet k hypertriacylglycerolémii. Velmi vzácně se může objevit syndrom přetížení (fat overload syndrome), který může nastat v důsledku rychlé infuze nebo nadměrné dávky IVLE, což vede k výrazné hyperlipidemii. Klinicky se projevuje horečkou, ikterem, hepatomegalií, splenomegalií, ale také respiračním selháním (Anez-Bustillos et al., 2016).

Mezi tradičně udávané esenciální mastné kyseliny (EMK), které lidský organismus nedokáže syntetizovat a je závislý na jejich přísunu výživou, se řadí alfa-linolenová kyselina (ALA, 18:3, n-3) a kyselina linolová (LA, 18:2, n-6). Nedostatek EMK (essential fatty acid deficiency – EFAD) je obvykle pozorován u jedinců s malabsorpčními syndromy bez adekvátní nutriční podpory nebo u pacientů na dlouhodobé parenterální výživě, která neobsahuje dostatečné množství EMK. Klinicky se může deficit EMK projevit řadou příznaků, nejčastěji ekzematickou dermatitidou se šupinatěním kůže, ale může zahrnovat i alopecii, trombocytopenii, u dětí pak také zpomalení růstu, resp. psychomotorickou retardaci (Belza et al., 2023). U pacientů na dlouhodobé parenterální výživě se s tímto problémem můžeme teoreticky setkat při dlouhodobém podávání beztukových přípravků PEV. Nicméně v situaci podávání IVLE je koncept tradičně pojímaných EMK zpochybněn, resp. ztrácí svou dogmaticčnost předpokladem, že metabolity DHA a ARA, které jsou odvozeny z ALA a LA, by mohly nezávisle splňovat požadavek na esenciální mastné kyseliny. Je to důležité a také ověřované především v situacích dlouhodobého podávání tukových emulzí čistě na bázi rybího oleje. Tedy když je podávání ALA a LA pod denním minimálním požadavkem, ale

množství DHA a ARA je adekvátní (Anez-Bustillos et al., 2018). Jednou z nejvýznamnějších komplikací PEV co do incidence a závažnosti je poškození jater, kterému se věnuje [kapitola 4](#)

Fytosteroly jsou popisovány jako jeden z možných faktorů negativně ovlivňující jaterní funkce, resp. přispívající k cholestáze. Možné faktory mohou zahrnovat antagonizaci některých účinků farnesoid X receptoru (FXR), jako snížení exprese exportní pumpy žlučových solí (bile salt export pump). Vede také ke snížené expresi multidrug resistance proteinu 2, jenž se účastní vylučování konjugovaného bilirubinu. V tomto směru je také důležité, že různé fytosteroly mají účinky na antagonismus FXR. Dle *in vitro* studií má významný účinek zejména stigmasterol, zatímco kampesterol má efekt minimální, sitosterol pak žádný (Isaac et al., 2019; Zaloga, 2021). Hlavním zdrojem fytosterolů v IVLE jsou oleje rostlinného původu, přičemž jejich zastoupení se druhově liší, u SojO sice sitosterol převažuje, nicméně významné zastoupení v něm má i stigmasterol, zatímco v OO je stigmasterol minimálně (Nikkilä et al., 2005). Zásadní vliv na rozvoj IFALD však není fytosterolům dle dalších studií přisuzován, navíc se objevuje otázka, zda nejsou jejich zvýšené hladiny také spojeny se zhoršenou jaterní funkcí jako její důsledek (Llop et al., 2008). Podle jedné studie pak mohou n-3 PUFA v IVLE snižovat negativní efekt fytosterolů (Osowska et al., 2022).

3. Mastné kyseliny

Mastné kyseliny představují rozsáhlou skupinu karboxylových kyselin, které jsou základními stavebními jednotkami lipidů – tuků a olejů. Jsou hlavním zdrojem energie, základem buněčných membrán a mají důležitou roli v mnoha biologických procesech, včetně signalizace a regulace nitrobuněčných funkcí.

Mastné kyseliny lze klasifikovat podle několika hlavních kritérií: délky řetězce, stupně nasycenosti a polohy dvojných vazeb.

Podle délky řetězce se mastné kyseliny dělí na krátké (do 6 uhlíků, short chain fatty acids – SCFA), středně dlouhé (6–12 uhlíků, middle chain fatty acids - MCFA), dlouhé (13–21 uhlíků, long chain - LCFA), které v lidském organismu převažují, a velmi dlouhé (více než 22 uhlíků- very long chain - VLCFA).

Podle stupně nasycenosti rozlišujeme mastné kyseliny nasycené (SFA), které neobsahují žádné dvojně vazby, a nenasycené, které obsahují jednu nebo více dvojných vazeb.

Nenasycené mastné kyseliny se dále dělí na mononenasycené s jednou dvojnou vazbou (MUFA) a polynenasycené (PUFA) s více než jednou dvojnou vazbou. Dále klasifikujeme

nenasycené MK podle polohy dvojných vazeb od metylového konce na omega-3 (n-3), omega-6 (n-6), omega-7 (n-7), omega-9 (n-9) (Murray, 2012; Tvrzická et al., 2009). Lipidy používané v parenterální výživě, resp. lipidových emulzích třetí a čtvrté generace, se skládají hlavně z triacylglycerolů, které obsahují zejména SFA s dlouhým řetězcem- kyselina palmitová (16:0) a stearová (18:0), nenasycené olejová (18:1, n-9), palmitoolejová (16:1, n-7), linolová (18:2, n-6) a α -linolenová (18:3, n-3; ALA), arachidonová (20:4, n-6; ARA), eikosapentaenová (20:5, n-3; EPA) či s velmi dlouhým řetězcem jako je kyselina dokosaheptaenová (22:6, n-3; DHA). Dále pak dle původu oleje mohou obsahovat významné množství MK se středním řetězcem jako kyselina kaprylová (8:0), laurová (12:0) nebo myristová (14:0) (Rochling, 2021; Tvrzická et al., 2009).

Přehled metabolických účinků PUFA

V lidském těle se LA přeměňuje na ARA prostřednictvím enzymů elongáz a desaturáz. Kyselina arachidonová je hlavní n-6 PUFA zapojená do dráhy metabolismu eikosanoidů, která hraje roli při zánětu, imunosupresi a koagulaci. Vznikají eikosanoidy, jako jsou prostaglandiny 2, tromboxany, leukotrieny 4 a hydroxyeicosatetraenové kyseliny, přispívající k zánětlivým reakcím (Philip C. Calder, 2020; Tvrzická et al., 2009).

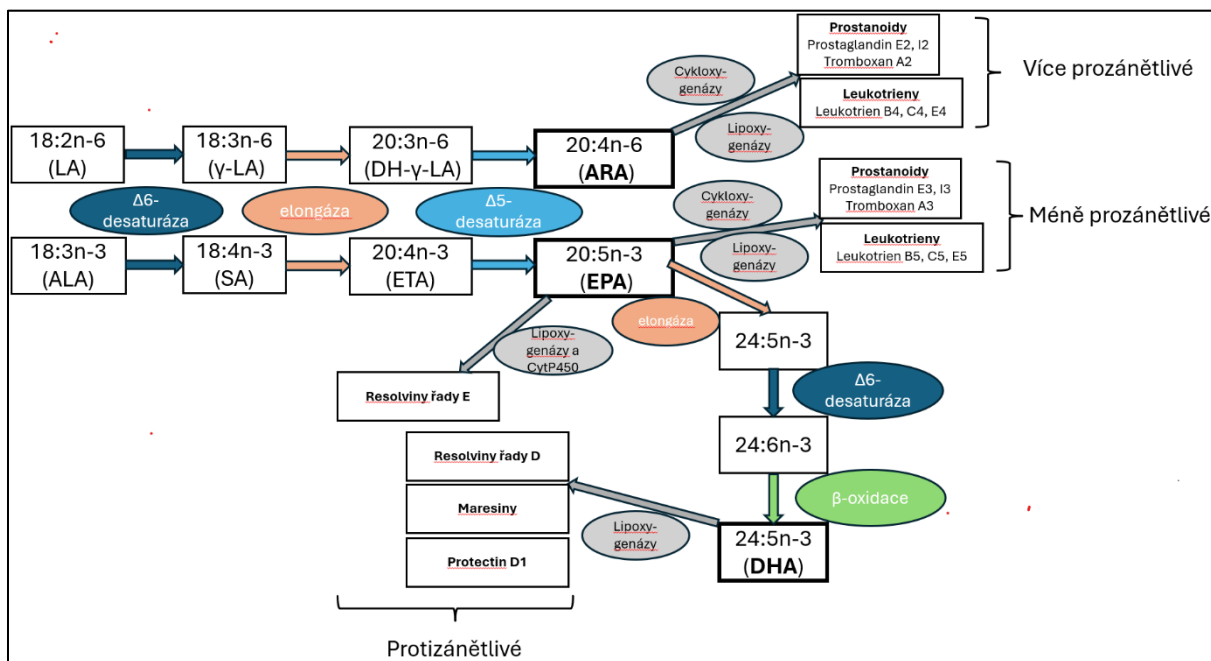
ALA pak primárně slouží jako prekurzor DHA a EPA, ačkoli její účinnost při přeměně na DHA je omezená, což z ní činí neadekvátní náhradu DHA (Arterburn et al., 2006).

Buď přímo, nebo prostřednictvím odvozených mediátorů, metabolitů ovlivňují n-3 PUFA celou řadu nejen zánětlivých a imunitních procesů, ale mají též důležité účinky v metabolismu. [Schéma 1](#) shrnuje některé důležité metabolické dráhy PUFA.

Svým zabudováním do buněčných membrán ovlivňují n-3 PUFA fluiditu a funkci lipidových raftů, mikrodomén zapojených do buněčné signalizace a metabolismu. Tímto mohou změnit funkci receptorů a signálních transdukčních drah (Ayee et al., 2020).

Zastoupení PUFA ve fosfolipidech buněčných membrán je výchozím bodem pro jejich biologickou aktivitu. Kromě obecného vlivu na zvýšení fluidity membrán je popisována řada mechanismů působení n-3 PUFA, které můžeme označit za pleiotropní a dominantně protizánětlivé (Calder et al., 2020).

Schéma 1: Metabolické dráhy PUFA



ALA, alfa-linolenová kyselina; ARA, arachidonová kyselina; DHA, kyselina dokosaheptaenová; DH- γ -LA, dihomogama-linolenová kyselina; EPA, kyselina eikosapentaenová; ETA, eikosatetraenová kyselina; LA, kyselina linolová; SA, stearidonová kyselina; γ -LA, gama-linolenová kyselina; Volně podle (Cai et al., 2018; Calder, 2019)

Funguje rovněž princip kompetice n-3 PUFA se zastoupením a metabolismem n-6 v membránách, které také posouvají rovnováhu směrem k protizánětlivé odpovědi (Djuricic & Calder, 2021). Biosyntéza n-3 a n-6 PUFA využívá stejné dráhy a enzymy, tedy konverze ALA na EPA a DHA soutěží s přeměnou LA na ARA. EPA a DHA slouží jako prekurzory skupiny látek označovaných jako specialized pro-resolving mediators (SPMs) (schéma 1), jako jsou resolviny, protektiny a maresiny vykazující převážně protizánětlivé účinky a hrají klíčovou roli při tlumení zánětu snížením produkce zánětlivých mediátorů, působí proti poškození tkáně a v podpoře hojení ran (Philip C. Calder, 2020).

Down-regulovaná exprese genů adhezních molekul (prostřednictvím nuclear factor kappa-B - NF κ B, či PPAR- γ ad.) může vést ke snížené expresi adhezivních molekul a snížení chemotaxe a interakce leukocytů a endotelu, dále snižuje produkci pro-inflamatorních cytokinů vč. IL-1 β , či IL-6 (Tan et al., 2018). Také působí inhibici inflamasomu NLRP3 (NLR family pyrin domain containing 3), který se podílí na zánětlivé reakci, a je tedy zkoumán z hlediska

terapeutického ovlivnění např. jaterních onemocnění spojených se zánětem. (Ramos-Tovar & Muriel, 2023).

Prostřednictvím zmíněných změn membránových raftů může vyšší obsah EPA a DHA ve specifických membránových oblastech vést ke snížení reaktivity lymfocytů (Ayee et al., 2020).

Další biologické účinky n-3 PUFA, zejména EPA a DHA, zahrnují ovlivnění metabolických pochodů. Působí vícero mechanismy snížení hladiny triacylglycerolů v séru, např. snížením jaterní lipogeneze ovlivněním exprese lipogenních genů v játrech, včetně proteinu vázajícího sterolový regulační prvek 1 (SREBP-1), či receptorů aktivovaných peroxizomovými proliferátory (PPAR). N-3 PUFA snižují syntézu mastných kyselin v játrech inhibicí enzymů, jako je acetyl-CoA karboxyláza a syntáza mastných kyselin (Papackova & Cahova, 2015).

Ovlivněním aktivity enzymu karnitin palmitoyltransferázy 1, které jsou kritické pro transport mastných kyselin do mitochondrií, či upregulací PPAR také zvyšují oxidaci mastných kyselin. N-3 PUFA mohou také inhibovat mikrosomální triacylglycerolový transferový protein, který se podílí na sestavení lipoproteinů o velmi vysoké hustotě, čímž sníží jejich tvorbu. Ovlivňují tedy složení a spektrum plazmatických lipoproteinů (Calder et al., 2020). Dále n-3 PUFA podporují regulaci adiponektinu, lipotropního hormonu s inzulin-senzitivními a protizánětlivými účinky.

Je také zmiňována role PUFA coby antioxidantů, resp. lapačů superoxidových radikálů, byť jde o dost kontroverzní problematiku (Yang et al., 2019). Prostřednictvím působení na nuclear factor erythroid 2–related factor 2 (NRF2) mohou také n-3 PUFA indukovat expresi genů antioxidantní odpovědi, a tím modulovat buněčnou obranu proti oxidačnímu stresu (Papackova & Cahova, 2015; Yang et al., 2019). Jeden z možných způsobů snižování OS může být cestou tvorby maresinů a jejich účinku (Sun et al., 2017).

DHA slouží rovněž jako ligand pro FXR, který je v další kapitole probírán v roli regulátora metabolismu žlučových kyselin s přesahem do řízení metabolismu lipidů a glukózy a v modulaci zánětlivých reakcí. Aktivace FXR pomocí DHA vede ke snížení hladiny triacylglycerolů v játrech prostřednictvím regulace genů zapojených do lipogeneze, oxidace mastných kyselin a metabolismu lipoproteinů. Dále je popsána i spojitost aktivace FXR účinkem DHA vedoucím k inhibici zánětlivých drah, ale také regenerace hepatocytů. Kromě DHA jsou ligandy pro FXR také další mastné kyseliny, jako je kyselina arachidonová a kyselina linolová. Vzhledem k tomu, že FXR hraje roli v celé řadě metabolických a zánětlivých drah, může mít vliv DHA na FXR systémové účinky a ovlivňovat takové procesy, jako je homeostáza cholesterolu, metabolismus lipoproteinů, či osu střevo-játra

prostřednictvím regulace složení a signalizace žlučových kyselin (Papackova & Cahova, 2015). Nepřímo v tomto mohou pravděpodobně působit i ovlivněním mikrobioty. (Chen et al., 2022)

Praktický dopad také může mít skutečnost, že účinky jednotlivých n-3 PUFA, zejména tedy EPA a DHA, se mohou odlišovat a tyto dvě MK a jejich vzájemný poměr v membránách tedy může mít svůj význam. (Pal et al., 2020; So et al., 2021).

Recentní výzkumy rovněž naznačují, že n-3 PUFA mohou také ovlivnit metabolismus lipidů na epigenetické úrovni, metylací DNA, ovlivňující expresi genů zapojených nejen do homeostázy lipidů (González-Becerra et al., 2019), ale také ovlivnění zánětu (Hussey et al., 2017).

4. Hepatopatie asociovaná s intestinálním selháním

Jaterní poškození u pacientů na PEV byly původně označovány jako onemocnění jater spojené s PEV (parenteral nutrition-associated liver disease, PNALD). Avšak narůstající množství důkazů ukazuje, že zhoršení jaterní funkce ve spojení s DPV není důsledkem samotného podání PEV, ale souvisí s intestinálním selháním a poruchami z něj vyplývajícími. Z tohoto důvodu je dnes preferováno označení onemocnění jater spojené s intestinálním selháním (intestinal failure-associated liver disease, IFALD) (Lee et al., 2020; Rochling, 2021).

Definice IFALD

Stanovisko ESPEN k IFALD doporučuje, aby tento termín odkazoval na poškození jater jako důsledek jednoho nebo více faktorů souvisejících s IF, a to v nepřítomnosti jiné primární parenchymové patologie jater (např. virové, či autoimunitní hepatitidy), jiných hepatotoxických faktorů (např. alkoholu/léků) nebo obstrukce žlučových cest (Lal et al., 2018).

IFALD je závažnou komplikací pro pacienty s chronickým intestinálním selháním, kteří jsou na dlouhodobé PEV. Jeho diagnostika však může být složitá a vyžaduje kombinaci biochemických, zobrazovacích a případně histologických vyšetření.

Laboratorní vyšetření funkce jater (jaterních markerů), tedy bilirubinu, γ -glutamyltransferázy (GGT), alkalické fosfatázy (ALP), aspartátaminotransferázy (AST) a alaninaminotransferázy (ALT) jsou první metodou pro zjištění případné patologie. Přesná shoda na konkrétních hodnotách však není, což mimo jiné komplikuje sledování prevalence. Obecně jsou ale používány hodnoty zvýšení nad 1,5 až 3násobek horní hranice normy.

Dále se využívají neinvazivní zobrazovací vyšetření, nejdostupnější ultrasonografie, dle možností kombinovaná s elastografií, ale také počítačová tomografie, magnetická rezonance. Ty mohou být užitečné při hodnocení strukturální integrity jater, obsahu tuků v játrech a určování stupně tuhosti jater – markeru fibrózy a cirhózy. Biopsie jater zůstává zlatým standardem pro definitivní diagnózu jaterních onemocnění, včetně IFALD, nicméně není pro ni podmínkou a vzhledem k invazivitě se používá minimálně, resp. v případech diagnostické nejistoty (Bond et al., 2019). Histopatologické nálezy mohou zahrnovat spektrum abnormalit, jako je steatóza, portální zánět, duktopenie a různé stupně fibrózy (Khalaf & Sokol, 2020). Jsou popsána také speciální vyšetření jako Index Fibrosis-4 a test maximální kapacity jater – Liver Maximum Capacity Test jsou potenciálně cennými ukazateli funkční kapacity jater a stupně přítomné jaterní fibrózy. Nicméně jejich užitečnost pro diagnostiku IFALD je třeba ověřit ve větších studiích (A. Sasdelli et al., 2019).

Kritéria pro diagnostiku onemocnění jater spojeného s intestinálním selháním (IFALD) lze také rozdělit podle typu poškození jater, jako jsou cholestáza, steatóza a fibróza a na neklasifikované případy. Byla k tomu navržena řada parametrů (A. Sasdelli et al., 2019).

IFALD-Cholestáza:

- hodnota $\geq 1,5$ horní hranice normy u dvou ze tří ukazatelů GGT, ALP a sérového konjugovaného bilirubinu po dobu ≥ 6 měsíců.
- konjugovaný bilirubin $> 5 \mu\text{mol/l}$ po dobu ≥ 6 měsíců.
- celkový bilirubin $> 17 \mu\text{mol/l}$ a konjugovaný bilirubin $> 5 \mu\text{mol/l}$ po dobu ≥ 6 měsíců.

IFALD-Steatóza:

- poměr AST/ALT < 1 , pokud je AST a ALT nad horní hranicí normy.
- kritérium ultrasonografické podle směrnic Evropské asociace pro studium jater (EASL): ultrasonografický echogenní vzhled jater odpovídající steatóze.

IFALD-Fibróza:

- Index APRI: index poměru AST k trombocytům (trc) = $[(\text{AST}/\text{horní hranice normy AST}) \times 100] / \text{trc} (10^9/\text{l}) > 0,88$.
- Index FIB-4: Fibrosis-4 index = $\text{Věk (roky)} \times \text{AST} / [\text{trc} (10^9/\text{L}) \times \text{ALT}^{1/2}]$; pokročilá fibróza: $\geq 2,67$.

IFALD–neklasifikované:

- jakákoli změněná hodnota jaterních funkčních testů/enzymů $\geq 1,5$ horní hranice normy po více než 6 měsících od začátku PEV.
- ALP a GGT $\geq 1,5$ horní hranice normy a ultrasonografické známky jaterní steatózy.

Epidemiologie

Prevalence onemocnění jater spojených se střevním selháním je v různých populacích poměrně různorodá. Tuto variabilitu lze přičíst mnoha faktorům, jako jsou rozdíly v demografických údajích pacientů, základních onemocněních, zdravotnických postupech a dalších rizikových faktorech v různých regionech a institucích (A. S. Sasdelli et al., 2019). IFALD se vyskytuje zejména u dětských pacientů a novorozenců. Uvádí se míra prevalence 40-60 % v pediatrické populaci a až 85 % u novorozenců. Vyšší výskyt u novorozenců pravděpodobně souvisí s nedonošeností, nezralou funkcí jater a vyššími riziky infekčních komplikací. U dospělých je prevalence IFALD výrazně nižší, obvykle se pohybuje mezi 15-40 %. Mezi faktory, které přispívají k této relativně nižší prevalenci, by mohla patřit lepší tolerance výživových roztoků, zralejší funkce jater a případně lepší léčba rizikových faktorů onemocnění (Bond et al., 2019).

Podle jedné z průřezových studií činila prevalence v závislosti na diagnostických kategoriích: u cholestázy se pohybuje mezi 5–15 %, u steatózy mezi 17–43 %, u fibrózy mezi 10–20 % a u neklasifikovaných případů mezi 7–38 % (A. Sasdelli et al., 2019). U 28,5 % pacientů nebyl IFALD diagnostikován podle žádného z kritérií. Starší, ale poměrně rozsáhlá studie co do počtu pacientů a doby sledování zaznamenala abnormální jaterní testy u naprosté většiny pacientů (u 154 ze 162), přičemž většina z nich měla mírně zvýšenou hladinu ALP nebo (AST); vážné jaterní dysfunkce (charakterizovaná celkovým bilirubinem nad 51 $\mu\text{mol/l}$ se nicméně vyskytly jen u 7 pacientů. Z hlediska případné otázky vlivu lipidů je zajímavá skutečnost, že jich bylo podáváno relativně malé množství k pokrytí potřeb EMK ($0,28 \pm 0,25$ g/kg/d) (Salvino et al., 2006). Další observační studie pak naznačuje, že IFALD může být přítomno již na začátku léčby PEV, přičemž během prvního roku může dojít k vymizení IFALD-cholestázy a IFALD-fibrózy, zatímco IFALD-steatóza přetrvává. Předpokládá se v tomto počáteční vliv metabolických změn akutního intestinálního selhání (A. S. Sasdelli et al., 2019).

Řada studií zabývajících se problematikou DPV u pacientů s intestinálním selháním se věnuje populacím pediatrických pacientů. Jak bylo poznamenáno, celkově se u nich IFALD vyskytuje častěji, zejména u novorozenců. U novorozenců je významným rizikovým faktorem nedonošenost, která souvisí s nezralou funkcí a vývojem jater a také s větší citlivostí ke komplikacím PEV (Lee et al., 2020). Dále má pediatrická populace ve srovnání s dospělými odlišné nutriční požadavky a rychlost metabolismu, která se odráží např. ve specifických

požadavcích nejen na mastné kyseliny nebo aminokyseliny, mohou mít také odlišnou toleranci k různým lipidovým emulzím (Goulet, 2024). Složení PEV musí tyto rozdíly odrážet, což může mít také vliv na rozvoj IFALD. Progrese jaterního postižení u IFALD bývá u dětské populace rychlejší a agresivnější než u dospělých, má častěji charakter cholestázy a progrese k fibróze a cirhóze je také rychlejší a pravděpodobnější (Melendez & Yeh, 2022). Souhrnně lze říct, že ačkoliv jsou dospělí i dětské pacienti se střevním selháním při DPV parenterální výživě ohroženi rozvojem IFALD, fyziologické rozdíly související s věkem, nutričními požadavky a reakcemi na léčbu přispívají k rozdílům v prevalenci, progresi a léčbě tohoto onemocnění mezi těmito populacemi. Proto také příslušné studie je v tomto směru nutné dobře rozlišovat a závěry nelze zobecňovat.

Patofyziologie IFALD

Charakteristickým znakem IFALD je současný výskyt cholestázy a steatózy. Cholestáza se častěji vyskytuje u novorozenců a kojenců, zatímco steatóza je běžnější u větších dětí a dospělých. IFALD spojená s cholestázou se projevuje znaky obstrukce žlučových cest, jako je infiltrace portální oblasti neutrofilů, portální edém a duktopenie. Steatóza spojená s IFALD se skládá z kombinace makro- a mikrovezikulární periportální steatózy, převážně s mnoha malými tukovými vakuolami (liposomy) v cytoplazmě hepatocytů s jádrem umístěným uprostřed. Tato histologická charakteristika naznačuje aktivní lipidovou výměnu a metabolickou nestabilitu. Postižení má některé podobné prvky jako změny pozorované u nealkoholického tukového onemocnění jater (NAFLD), ale také vykazuje řadu odlišností (Buchman et al., 2017).

Vlastní patogeneze IFALD je multifaktoriální a hrají v ní roli faktory, které můžeme rozdělit do několika kategorií. V první řadě jsou to ty související s vlastním intestinálním selháním, dále faktory v souvislosti s parenterální výživou, resp. tukovými emulzemi, které jsou diskutovány v samotné kapitole, a pak další systémové vlivy, mezi které patří především infekční komplikace (Diamond et al., 2011), ale též další užívaná medikace, či přidružená onemocnění (Beath & Kelly, 2016; Wichman et al., 2022). Hlavní faktory patogeneze IFALD a možné protektivní efekty n-3 PUFA shrnuje [schéma 2](#).

Faktory související s intestinálním selháním jsou reprezentovány především vzájemným působením tří mechanismů, které jsou v patogenezi jaterního poškození synergické a

vzájemně propojené; a to absenci, či nedostatek enterálního příjmu živin, změny střevního mikrobiomu a změny metabolismu a enterohepatálního oběhu ŽK (Bond et al., 2019; Cahova et al., 2017; Wichman et al., 2022)

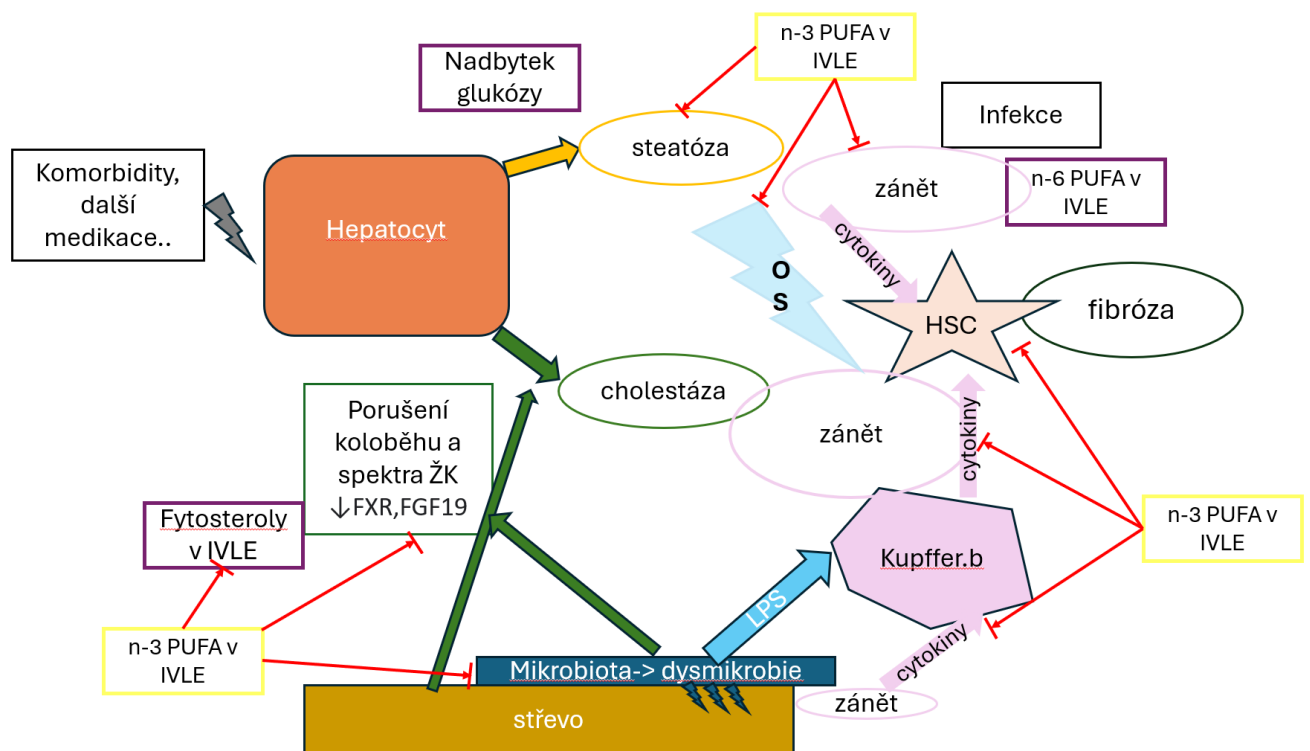
Absence živin ve střevním lumen vede ke slizničním změnám směrem a k zvýšené střevní propustnosti. Tyto souvisí mj. s produkcí prozánětlivých cytokinů střevními imunitními buňkami, sekundární v důsledku změn složení střevní mikrobioty. Zvýšená propustnost pak usnadňuje translokaci střevního bakteriálního lipopolysacharidu (LPS), který indukuje zánětlivou odpověď s následným poškozením jater (Samaddar et al., 2022). V tomto směru je vysoce protektivním opatřením zachování alespoň malého enterálního příjmu, což u většiny pacientů s CIF není vyloučeno (Pironi et al., 2023). Kromě toho jsou parenterální výživa a nedostatek enterálního příjmu samy o sobě spojeny se snížením funkce Panethových buněk, sníženou sekrecí IgA a zvýšenou propustností střevní bariéry. To vede rovněž ke zvýšené translokaci endotoxinů a bakterií do portálního oběhu jater a potenciaci zánětu v nízké intenzitě (Lucchinetti et al., 2021). Další mechanismus morfologických změn spočívá ve snížené sekreci střevních faktorů, jako je glukagon-like peptid-2 (GLP-2), jehož sekrece je stimulována živinami a také ŽK ve střevním lumen prostřednictvím aktivace receptoru spřaženého s G proteinem (TGR5, či GPBAR1) (Guzior & Quinn, 2021). Kromě toho podporuje enterální výživa sekreci několika gastrointestinálních hormonů, jako jsou gastrin, cholecystokinin, peptid YY a sekretin, které stimulují tok žluči a kontrakci žlučníku. V důsledku toho může nedostatek enterálního příjmu způsobit snížení toku žluči (Xu & Li, 2012). Velmi důležitou roli tedy hraje komplexní porucha cirkulace a metabolismu ŽK. V tomto směru byla zkoumána a popsána také funkce růstového faktoru (fibroblast growth factor 19, FGF19) v regulaci homeostázy ŽK a zánětu (Manithody et al., 2020). V enterocytech terminálního ilea je tvorba FGF19 indukována ŽK prostřednictvím aktivace farnesoid X receptor (FXR) ŽK jako reakce na jejich zvýšené množství v terminálním ileu. To pak vede k sekreci FGF19 do portálního oběhu, kterým se dostává do jater a váže se na povrchový receptor hepatocytů (Stofan & Guo, 2020). Signály FGF19 v játrech působí přes receptor FGFR4 na snížení produkce ŽK potlačením exprese cholesterol 7 α -hydroxylázy (CYP7A1), klíčového enzymu zapojeného do přeměny cholesterolu na ŽK. Tímto poskytuje negativní zpětnou vazbu k omezení jejich nadměrné syntézy. Navíc FXR sám ve své jaterní formě také ovlivňuje aktivitu enzymů zapojených do syntézy ŽK a také jejich vylučování z hepatocytů. FGF19 dále indukuje relaxaci hladkého svalstva žlučníku a jeho naplnění a snižuje jaterní syntézu ŽK (Chiang & Ferrell, 2022). V kontextu IFALD může narušený enterohepatální oběh kvůli intestinálnímu selhání, zejména po resekci ilea nebo u poruch

motility, vést k sníženým hladinám FGF19 (Manithody et al., 2020). Tento pokles FGF19 vede k dysregulaci syntézy ŽK, což zvyšuje riziko jejich akumulace v játrech a cholestatického poškození jater (Boutte et al., 2022). Navíc absence regulačního vlivu FGF19 na zánět může přispět k jaternímu zánětu a poškození. FGF19 má totiž svou úlohu rovněž v ochraně proti translokaci bakteriálních produktů a LPS, jež aktivují makrofágy v játrech s následným uvolňováním prozánětlivých cytokinů, jako je interleukin-6 a faktor TNF-alfa (Stofan & Guo, 2020). Modulací inhibitorů nukleárního faktoru kappa B může právě produkci cytokinů snižovat. Dále také FXR může modulovat expresi monocytárního chemoatraktantního proteinu-1 (MCP-1/CCL2), který je klíčový pro migraci monocytů/makrofágů do míst zánětu. Ovlivňuje také aktivaci jaterních hvězdicových (stelátních) buněk (hepatic stellate cells – HSC) podílejících se na produkci extracelulární matrix během fibrózy. Po jaterním poškození se HSC aktivují a podílí se na fibroprodukcii (Zhang et al., 2022). Aktivace FXR přímo ovlivňuje HSC, podporou exprese peroxisome proliferator-activated receptorů gamma (PPAR γ), jež působí proti fibroprodukcii snížením exprese fibrogenních genů (Stofan & Guo, 2020). Ve studii Mutanen a kol. byly shledány nízké sérové hladiny FGF19 u pediatrických pacientů s IFALD. V prospektivní studii byly u 52 pacientů s intestinálním selháním po 10 měsících na PEV měřeny sérové hladiny FGF19. Koncentrace FGF19 byly nižší ve srovnání se zdravými kontrolami. Hladiny FGF19 byly významně nižší u pacientů bez ilea a byly pozitivně korelovány s délkou zbývajících ilea. Navíc FGF19 koreloval s portálním zánětem a fibrózou, což naznačuje, že FGF19 může přispívat k patogenezi IFALD, resp s ní být spojen (Mutanen et al., 2015).

Dalším kruciálním faktorem rozvoje jaterního poškození jsou změny ve střevní mikrobiotě. Tento termín vyjadřuje ekologickou komunitu komenzálů a potenciálních patogenů žijících v našem těle. Zaměnitelně je používán termín mikrobiom, který označuje genom mikrobioty (Fruhauf, 2017). Změny ve střevním mikrobiomu mohou narušit osu střevo-játra a přispívat vícero vlivy k poškození jater. U dospělých pacientů se SBS znamená obvykle změny ve střevním prostředí v důsledku komplexních změn gastrointestinálního traktu s remodelací sliznice zbývajících částí střeva, změny mikroprostředí vedou ke změně složení mikrobiomu (Cahova et al., 2017). Navíc studie prokázaly zvýšené riziko bakteriální přerůstání tenkého střeva (SIBO) u pacientů s intestinálním selháním na DPV (McGrath et al., 2019). SIBO může zvyšovat propustnost střevní stěny, produkci endotoxinů a uvolňování prozánětlivých cytokinů v játrech, což rovněž přispívá k poškození jater. Podobný mechanismus se také uvažuje v souvislosti mezi SIBO a NAFLD (Wijarnpreecha et al., 2020).

Genom lidské střevní mikroflóry sestává řádově ze 100 bilionů komenzálních organismů a tisíců druhů, které představují 200-300 tisíc genů, což je o řád více než souhrnný genom lidského hostitele. Složení střevního mikrobioty se u jednotlivých jedinců liší, a to především v závislosti na faktorech, které se vyskytují během prvních let života (Dupont et al., 2020). U jednotlivých zdravých dospělých osob je složení relativně stabilní. Ve střevě převládají bakterie patřící do kmenů *Firmicutes* a *Bacteroidetes*. Střevní mikrobiom plní kritické fyziologické funkce včetně vývoje a udržování imunitního systému a integrity střevní sliznice, produkce mastných kyselin s krátkým řetězcem z nestrávených sacharidů, produkce vitamínů a jsou také velmi důležité v metabolismu žlučových kyselin (Cahova et al., 2017). U dospělých pacientů se SBS je popisováno významné snížení diverzity, tedy zastoupení méně typů mikrobů a zvýšení podílu proteobakterií, zejména čeledi *Enterobacteriaceae*. Tyto mohou zahrnovat oportunní patogeny, které mohou přispívat k zánětlivému stavu střevní sliznice a také k IFALD podílem na změnách permeability a přetížením jater LPS. Dále pak je popisována změna spektra v kmeni *Firmicutes*, kdy pacienti se SBS vykazují významný pokles specifických čeledí s produkcí butyrátu, naopak nárůst lactobacilů, který je spojen s průjmami, D-laktátovou acidózou a rozvojem IFALD, zejména steatózy, prostřednictvím nadměrné dekonjugace ŽK (Budinska et al., 2020). Butyrát je důležitým zdrojem energie pro kolonocyty a má také protizánětlivé vlastnosti. Rovněž je popisován významný úbytek anaerobních bakterií, zejména čeledi *Clostridiaceae*. Tyto změny mohou vést k narušení normální funkce střeva, jako jsou fermentační procesy a udržování integrity sliznice (Neelis et al., 2019). Změny mikrobioty u pacientů se SBS tedy vykazují závažnou dysbiózu, která ovlivňuje nejen střevní prostředí, ale projevuje se i na metabolismu hostitele, jeho imunitním systémem a predispozici k systémovým komplikacím, jako je IFALD. Souhrnně tedy poruchy v enterohepatálním oběhu ŽK při malabsorpci, jako je například u SBS, a/nebo změny ve střevním mikrobiotě jsou tedy považovány za klíčový mechanismus zapojený do patogeneze IFALD-cholestázy způsobené narušením osy střevo-játra (gut-liver axis) (Boutte et al., 2022).

Schéma 2: Patofyziologie IFALD a možné role n-3 PUFA



FGF19, fibroblast growth factor 19; FXR, farnesoid X receptor; HSC, hvězdčicovité jaterní buňky; IVLE, intravenózní lipidová emulze; Kupffer.b, Kupfferovy buňky; LPS, lipopolysacharidy; n-3 PUFA, omega-3 mastné kyseliny, n-6 PUFA, omega-6 mastné kyseliny; OS, oxidační stres; ŽK, žlučové kyseliny

Volně podle (Cahova et al., 2017; P. C. Calder, 2020; Lee et al., 2020; Zafirovska et al., 2023)

Metabolismus žlučových kyselin

Žlučové kyseliny (ŽK) jsou klíčovými látkami gastrointestinálního systému se zásadní rolí při trávení a absorpci lipidů a homeostáze cholesterolu. Jejich metabolismus zahrnuje komplexní souhru mezi játry, střevem (tzv. osa střevo-játra, gut-liver axis), ale také systémovou cirkulací, regulovanou prostřednictvím přísně kontrolovaných biosyntetických a signálních drah (Chiang & Ferrell, 2022).

Primární ŽK, kyselina cholová (CA) a kyselina chenodeoxycholová (CDCA), jsou syntetizovány v hepatocytech z cholesterolu klasickou, či alternativní cestou. Klasická cesta představuje u člověka většinu syntézy ŽK a je iniciována enzymem CYP7A1. Ke zbývajícím syntéze přispívá alternativní cesta, která začíná hydroxylací cholesterolu sterol-27-hydroxylázou (CYP27A1). Tyto procesy zahrnují více kroků, včetně oxidace, epimerizace a

konjugace. Po syntéze následuje konjugace, a to především s glycinem, či taurinem, čímž se zvyšuje jejich rozpustnost. Konjugované žlučové kyseliny jsou aktivně vylučovány do žlučových kanálků pomocí exportní pumpy žlučových solí (bile salt export pump – BSEP, či také ABCB11) společně s řadou dalších látek jako bilirubin, fosfolipidy, ionty. Při příjmu potravy se žluč a s ní ŽK (ve formě solí) uvolňují do střeva, kde emulgují tuky z potravy a umožňují jejich trávení a absorpci. Přibližně 95 % ŽK se reabsorbuje v ileu a vrací se do jater přes portální žílu, tzv. enterohepatální oběh, zbytek pak postupuje dále do kolon, kde je substrátem dalších přeměn mikrobiotou ve smyslu dokonjugace a vzniku sekundárních ŽK (kyselina deoxycholová – DCA a lithocholová – LCA). Vyskytují se i další ŽK, jako ursodeoxycholová, hyocholová, či muricholová a jejich deriváty, u člověka jsou však minoritní (Guzior & Quinn, 2021). Reabsorpce žlučových kyselin je primárně zprostředkována apikálním transportérem žlučových kyselin závislým na sodíku (ASBT) v enterocytech. Uvnitř enterocytu jsou žlučové kyseliny vázány na specifické proteiny a transportovány k bazolaterální membráně, kudy se pak dostávají do portálního oběhu. Syntéza žlučových kyselin a enterohepatální oběh jsou přísně regulovány nukleárními receptory a dalšími signálními molekulami, včetně FXR, pregnan X receptoru a receptoru vitamínu D. FXR, aktivovaný žlučovými kyselinami v játrech a střevech, hraje ústřední roli v této regulační síti (Di Ciaula et al., 2017; Chiang & Ferrell, 2022).

Farnesoid X receptor a Fibroblast growth factor 19

FXR a FGF19 mají kromě své primární úlohy při udržování homeostázy žlučových kyselin, popsané výše, také zásadní funkce v několika metabolických drahách přispívajících k systémové energetické homeostáze a metabolické kontrole.

Aktivace FXR ovlivňuje jaterní lipogenezi snížením regulace klíčových lipogenních genů, jako je protein 1c vázající sterolové regulační prvky (SREBP-1c) a acetyl-CoA karboxyláza. Naopak zvyšuje oxidaci mastných kyselin prostřednictvím upregulace PPAR- α . Tímto může ovlivňovat jaterní steatózu (Chiang & Ferrell, 2022). Dále pak FXR ovlivňuje metabolismus glukózy modulací exprese genů zapojených do metabolismu glukózy, mj. inhibicí klíčových glukoneogenních genů, jako je fosfoenolpyruvát karboxykináza a glukóza-6-fosfatáza, a zvýšením indukce glukokinázy, přispívá FXR k ovlivnění glykémie. Aktivace FXR byla také spojena se změnami energetického výdeje. FXR může zvyšovat expresi FGF21, který se podílí na energetickém výdeji a metabolismu lipidů (Stofan & Guo, 2020).

FGF19 pravděpodobně má také vliv na energetický výdej působením na tukovou tkáň, včetně hnědé tukové tkáně. Signalizace FGF19 prostřednictvím svého receptoru zvyšuje expresi termogenních genů, čímž podporuje oxidaci lipidů a výdej energie (Stofan & Guo, 2020). FGF19 hraje roli v metabolismu glukózy, přičemž působí nezávisle na inzulínu. Využívá signální kaskádu RAS/MAPK/ERK k ovlivnění metabolických procesů v hepatocytech, včetně stimulace syntézy glykogenu a bílkovin. Krom toho zřejmě zlepšuje insulinovou senzitivitu. Signalizace FGF19 vede ke snížení obsahu triacylglycerolů v játrech a hladiny cirkulujících lipidů (Stofan & Guo, 2020). Tyto účinky FXR a FGF19 jsou důvodem velkého zájmu o tyto regulační proteiny s cílem využít jejich terapeutický potenciál. V tomto směru je už využívána kyselina ursodeoxycholová (UDCA), či obeticholová (Stofan & Guo, 2020). Pozoruhodná je také určitá souvislost FGF19 v reakci na oxidační stres a stresovou signalizaci. Podle *in vitro* studií je exprese FGF19 zvýšena OS ve střevních buněčných liniích; tato odpověď FGF15/19 na oxidační stres však nemusí probíhat *in vivo* stejným způsobem. Zatímco údaje *in vitro* naznačují konzervovanou regulaci oxidačním stresem, dynamika *in vivo* se zdá být složitější. Také bylo prokázáno, že FGF15/19 aktivuje dráhu NRF2, sloužící coby ústřední regulátor buněčné antioxidační odpovědi. FGF19 ovlivňuje jeho aktivitu tím, že přispívá ke zvýšení fosforylace enzymu glycogen synthase kinase-3 beta (GSK3β), což nepřímo přispívá k obranným mechanismům buněk proti oxidačnímu poškození zvýšením stability a aktivity NRF2 v hepatocytech a může chránit před buněčným poškozením a toxicitou (Shimizu & Sato, 2022).

5. Zánět u intestinálního selhání a cytokiny

CIF lze považovat za chronický zánětlivý stav spojený s nerovnováhou antioxidačního systému, mezi jehož hlavní příčiny patří střevní dysbióza, slizniční změny se zvýšením epiteliální propustnosti, porucha osy střevo-játra, ale i podávání PEV a přítomnost cévního vstupu (Lucchinetti et al., 2021).

Na zánětu střevní sliznice i jater se podílí celá řada faktorů a složek imunitního systému, včetně tvorby řady cytokinů včetně níže popsaných (Bizari et al., 2016; Samaddar et al., 2022). Cytokiny jsou skupina malých proteinů působících coby signální molekuly mezi imunitními buňkami i dalšími typy buněk. Jsou produkovány především buňkami imunitního systému, ale některé také epiteliálními buňkami či fibroblasty. Funkce zahrnuje regulaci a mediaci zánětlivých odpovědí, kontrolu růstu a diferenciaci buněk, regulaci buněčné smrti (apoptózy), stejně jako reparaci tkání a regeneraci. Jejich aktivita je pečlivě regulována, protože nerovnováha produkce může vést k patologickým stavům (He et al., 2021).

V rámci naší studie jsme zjišťovali tvorbu několika interleukinů.

Interleukin 1beta (IL-1 β) je jedním z klíčových cytokinů s vysokou prozánětlivou aktivitou, podílející se na aktivaci, regulaci a modulaci imunitních a zánětlivých odpovědí. Produkují jej především aktivované makrofágy, ale jeho exprese byla zaznamenána také u mnoha dalších typů buněk, včetně epitelových buněk, endoteliálních buněk a některých neuronů. Produkce IL-1 β je typicky indukována rozpoznáním patogenních nebo poškozených buněčných signálů prostřednictvím vzorových rozpoznávacích receptorů (pattern recognition receptors, PRRs), jako jsou toll-like receptory (TLRs) a NOD-like receptory (NLRs). Po aktivaci se IL-1 β syntetizuje jako neaktivní prekurzor pro-IL-1 β , který je následně štěpen inflamazomem do aktivní formy (Dinarello, 2013). Jednou z hlavních funkcí IL-1 β je indukce a amplifikace zánětlivé reakce, vazba na specifický receptor typu I (IL-1RI), vede k aktivaci jaderného faktoru kappa B (NF- κ B) a mitogen-aktivovaných protein kináz (MAPK), vyvolávající transkripční aktivaci zánětlivých genů. Tento proces zahrnuje produkci dalších cytokinů, chemokinů a adhezních molekul, což podporuje hromadění a aktivaci leukocytů v místě zánětu (Palomo et al., 2015). Kromě toho se podílí na adaptivní imunitní odpovědi, podporuje proliferaci a diferenciaci T lymfocytů a posiluje humorální imunitní odpověď. Porucha jeho regulace nebo nadměrná produkce jsou spojeny s patogenezí řady autoimunitních a zánětlivých onemocnění, ale také s některými neurodegenerativními a kardiovaskulárními onemocněními (Ghanbari et al., 2021). Rovněž je popsána pyroptóza coby forma buněčné smrti, charakterizovaná rychlým uvolňováním prozánětlivých cytokinů, jako jsou IL-1 β a další, spojená mj. s inflamazomem NLRP3 (Ramos-Tovar & Muriel, 2023).

Interleukin 6 (IL-6) je multifunkční cytokin s důležitou rolí v regulaci imunitních, zánětlivých a hematopoetických procesů. Produkuje jej řada typů buněk, včetně T a B lymfocytů, makrofágů, endoteliálních buněk a fibroblastů, obvykle jako odpověď na infekci a zánětlivé podněty. Jednou z hlavních funkcí je stimulace produkce proteinů akutní fáze hepatocyty, např. C-reaktivní protein (CRP), fibrinogenu, či sérového amyloidu A, prostřednictvím signalizační dráhy JAK/STAT, především aktivací STAT3. IL-6 také moduluje aktivitu imunitního systému působením na diferenciaci B buněk, také podporuje Th17 buněčnou diferenciaci, či potlačuje T regulační buňky a diferenciaci na T-helper 1 (Th1). Dominantní působení je prozánětlivé, ale má i funkci modulační, např. indukci produkce IL-1 receptor antagonisty (IL-1ra) a inhibitoru signalizace TNF (Tanaka et al., 2014; Virella, 2019). Rovněž ale ovlivňuje metabolické funkce, včetně regulace teploty těla a metabolismu tuků a sacharidů. IL-6 je produkován tukovou tkání a má autokrinní a parakrinní účinky na adipocyty, či zvyšuje sekreci inzulínu zvýšením sekrece GLP-1 glukagon-like

peptidu-1 (Nara & Watanabe, 2021). Pozoruhodné jsou i role IL-6 v signalizaci při zánětlivých procesech jater, kde mimo regulační funkce zánětu také zřejmě ovlivňuje i některé metabolické pochody a je důležitý pro homeostázu hepatocytů (Schmidt-Arras & Rose-John, 2016)

Interleukin 8 (IL-8), také označovaný CXCL8, je produkován celou řadou buněk, včetně makrofágů, endoteliálních buněk, epiteliálních buněk a fibroblastů.

Váže se na receptory CXCR1 a CXCR2, exprimované především na neutrofilech, ale také na některých dalších typech buněk, jako jsou bazofily a T lymfocyty. Vazba IL-8 na receptor je spojena s aktivací G proteinů a následné signální dráhy k migraci a aktivaci neutrofilů, působí tedy jako chemotaxin. IL-8 také zvyšuje adhezi neutrofilů, fagocytózu, degranulaci a produkci RONS v rámci oxidačního vzplanutí. Zvýšená produkce a uvolňování IL-8 jsou spojovány s řadou zánětlivých onemocnění (Virella, 2019).

Tumor nekrotizující faktor alfa (TNF- α) je další z důležitých cytokinů s prozánětlivým působením. Je produkován především aktivovanými makrofágy, ale i dalšími imunitními buňkami. TNF- α působí prostřednictvím vazby na specifické receptory na povrchu buněk, TNFR1 a TNFR2. Vazba na tyto receptory spouští kaskádu signalizačních drah, včetně aktivace NF- κ B a MAPK, vedoucí k produkci dalších prozánětlivých cytokinů, chemokinů a adhezních molekul s funkcí stimulace apoptózy, buněčné proliferace a diferenciaci. Je jedním z prvních cytokinů produkovaných v reakci na infekci nebo tkáňové poškození a jeho působení je popsáno i v poškození jater (Gershwin, 2020; Virella, 2019).

6. Oxidační stres

Jde o stav charakterizovaný nerovnováhou mezi produkcí reaktivních forem kyslíku, ale také dusíku (reactive oxygen and nitrogen species, RONS) a obrannými mechanismy. Každý organismus má schopnost tyto reaktivní meziprodukty detoxikovat nebo napravit vzniklé poškození pomocí antioxidačního enzymového a neenzymového systému (Jomova et al., 2023; Sies & Ursini, 2022). Mezi RONS se řadí superoxidový radikálový anion ($\bullet\text{O}_2^-$), hydroxylový radikál ($\bullet\text{OH}$), peroxylový radikál ($\text{ROO}\bullet$), alkoxylový radikál ($\text{RO}\bullet$), singletový kyslík ($^1\text{O}_2$), dále pak oxid dusnatý ($\text{NO}\bullet$), či peroxydusitanový anion (ONOO^-). Můžeme jmenovat také peroxid vodíku (H_2O_2), který však není radikálem. OS přispívá k chronickým onemocněním, resp. orgánovým poškozením řadou možných mechanismů (Pajares et al., 2018). Přímá oxidace pomocí RONS vede k poškození buněčných molekul. Jejich oxidace může vést k modifikaci proteinů s ovlivněním struktury a funkce a narušením buněčných

procesů, hromadění poškozených proteinů. Peroxidace lipidů má za následek poškození buněčných membrán a mohou se rovněž vytvářet toxické produkty (Jomova et al., 2023). OS narušuje redoxní signální dráhy v buňkách, což může vést ke změně funkce buněk, vysoká úroveň oxidačního stresu může také indukovat apoptózu. Je také popsán koncept tzv. ferroptózy, specifické formy buněčné smrti při akumulaci produktů lipoperoxidace ve spojitosti s přítomností volných iontů železa, který zřejmě rovněž hraje svou roli v patogenezi jaterního poškození (Guo et al., 2023).

Přetrvávající OS může také vést k mitochondriální dysfunkci, a tak k energetickému selhání buňky a jejímu poškození. Zdrojů RONS v biologických systémech je celá řada, ať už endogenních, nebo a exogenních. Řada z nich je i součástí fyziologických procesů (Pajares et al., 2018). RONS vznikají v organismu jako vedlejší produkt elektronového transportního řetězce během tvorby ATP při buněčném dýchání v mitochondriích. NADPH oxidázy jako důležité enzymy tvoří součást imunitních mechanismů a generují superoxid (např. v tzv. rámci oxidačního vzplanutí fagocytů), tedy i jako součást zánětlivých reakcí. Peroxisomy obsahují enzymy, jako je xantinoxidáza a urát oxidáza, které produkují peroxid vodíku během metabolismu MK a purinů (Sies & Ursini, 2022).

Důležité je endoplazmatické retikulum (ER), RONS jsou zde generovány během syntézy proteinů, zejména za stresových podmínek. ER stres vzniká při narušení homeostázy a může být vyvolán různými faktory, včetně zánětu, OS, či dysbalancí lipidového metabolismu, ale také narušením rovnováhy kalcia, hypoglykemií a dalších (Chong et al., 2017). Aby se obnovila normální funkce a udržela se buněčná homeostáza, buňky reagují na ER stres aktivací rozvinuté proteinové reakce, zv. unfolded protein response (UPR). Při vysoké míře ER stresu, nebo jeho přetrvávání je adaptivní UPR nedostatečná k obnově homeostázy ER, a to může vést až k buněčné smrti, typicky prostřednictvím apoptózy (Chong et al., 2017). Podle experimentálních modelů se může ER stres rovněž podílet na IFALD (Steinberger et al., 2022). Dále je tvorba RONS spojena s aktivitou řady enzymů spojených s cytochromem P450, které se podílejí mimo jiné na metabolismu xenobiotik, ale i řady endogenních sloučenin. Do exogenních zdrojů se řadí množství chemických sloučenin v prostředí, či přijímaných do těla jako farmaceutika, včetně IVLE, součástí potravy, ale také fyzikální faktory jako UV záření, či ionizující záření (Jomova et al., 2023).

Metody hodnocení OS zahrnují měření řady biomarkerů. Je sice možné přímé měření RONS, ale pro metodickou náročnost se rutinně nepoužívá.

Běžnější je stanovení produktů oxidace, ať už proteinů (karbonyly, nitrotyrosin), biomarkery poškození DNA, ale z hlediska lipoperoxidace je nejdůležitější stanovení malondialdehydu

(MDA), případně dalších produktů jako 4-hydroxynonenal (4-HNE) atd. Užíváno je také stanovení tzv. TBARS, sloučenin reagující s thiobarbiturovou kyselinou, jejichž nejvýznamnějším představitelem je malondialdehyd. Jde však o metodu méně specifickou (Demirci-Çekiç et al., 2022)

Další skupinou metod jsou stanovení antioxidantů, ať už enzymatické aktivity SOD1, CAT, či GPx. Stanovovat lze také glutathion v jeho oxidované a redukované formě (GSSG/GSH), poměr je pak užíván jako tzv. redoxní poměr coby ukazatel redoxního stavu a tím i OS, kdy zvýšení poměru může ukazovat na vyšší úroveň OS (Demirci-Çekiç et al., 2022)

Každá metoda má své výhody a omezení, proto se ke získání komplexního obrazu OS v biologickém vzorku používají jejich kombinace.

Jako další biomarker oxidačního stresu, resp. lipoperoxidace lze použít oxidované lipoproteiny o nízké hustotě (oxLDL), které vznikají oxidativní modifikací při vystavení LDL částic RONS (Parthasarathy et al., 2010).

Faktory oxidačního stresu u intestinálního selhání

Z již uvedeného vyplývá, že CIF a aplikace PEV jsou spojeny s nízkou mírou zánětu a též nerovnováhou oxidačního stavu směřující k oxidačnímu stresu. Hlavními příčinnými faktory jsou postižení střeva se změnami mikrobioty a dysbióza, porušením a zvýšením propustnosti střevní sliznice, ale také aplikace parenterální výživy s IVLE náchylnými k lipoperoxidaci (Koek et al., 2011; Kosek et al., 2020; Lucchinetti et al., 2021).

Lipoperoxidace

Peroxidace lipidů (lipoperoxidace) je proces, při kterém jsou MK oxidovány řetězovou reakcí iniciovanou RONS nebo jinými volnými radikály. Citlivost lipidů k peroxidaci je dána přítomností dvojných uhlíkových vazeb, tj. je spojena s úrovní nenасыceností mastné kyseliny. Dvojná vazba v řetězci uhlíků oslabuje vazbu C-H na sousedním uhlíku z dvojné vazby v důsledku delokalizace elektronů přes dvojnou vazbu. To usnadňuje abstrakci atomu vodíku z uvedeného uhlíku. Čím více dvojných vazeb v PUFA, tím pravděpodobnější je tedy výskyt peroxidace (Zaloga, 2021).

Peroxidaci lze obecně rozdělit do tří fází, a to iniciace, propagace a terminace.

Iniciace znamená vytvoření RONS nebo volného radikálu, molekuly s nepárovým elektronem, který může odejmout vodík z PUFA. Dostupnost kyslíku v PEV systému je v tomto jedním z důležitých faktorů s ohledem na iniciační krok lipoperoxidace. Při výrobě

PEV je téměř nevyhnutelné, že se do vaku s PEV dostane malé množství vzduchu, a tím i kyslíku. Dále přechodné kovy jako železo podporují tvorbu hydroxylových radikálů ($\text{HO}\bullet$) Fentonovou reakcí ($\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \bullet\text{OH} + \text{OH}^-$). Hydroxylové radikály jsou jedním z nejreaktivnějších druhů volných radikálů. Kyslík může přijmout elektron a formovat tak volný radikál, buď superoxidový anion ($\bullet\text{O}_2^-$) nebo peroxidový iont (O_2^{2-}). Peroxidové ionty rychle vytváří peroxid vodíku (H_2O_2). Peroxid vodíku a superoxid jsou také silná oxidační činidla a v přítomnosti přechodných kovů vytvářejí hydroxylové radikály ($\bullet\text{OH}$) (Ayala et al., 2014; Sies et al., 2017).. Vystavení světlu, především jeho UV složce, také hraje roli při tvorbě volných radikálů v IVLE procesem fotooxidace, může vést k přeskupení elektronů a vytvoření singletové molekuly kyslíku ($^1\text{O}_2$), který je rovněž řazen mezi RONS. Z tohoto důvodu je i doporučována ochrana infúzí s IVLE před světlem, a to zejména v pediatrii (Robinson et al., 2021). Jakmile byl z molekuly lipidů odejmut vodík, lipidový radikál je nestabilní a podléhá molekulárnímu přeskupení, aby se systém stabilizoval. To vede primárně k tvorbě konjugovaného dienu, molekuly, kde jsou dvě dvojně vazby v uhlíkovém řetězci odděleny jednoduchou uhlíkovou vazbou, což umožňuje delokalizaci elektronů, stabilizaci systému.

Lipidové radikály jsou reaktivní, a proto se snadno spojují s kyslíkem přítomným v PEV systému za vzniku peroxylového radikálu ($\text{ROO}\bullet$). Vznik lipidového peroxylového radikálu vede pak k další interakci s jinými PUFA, čímž generují další lipidový peroxylový radikál a lipidový hydroperoxid. Lipidové hydroperoxydy jsou prvními, primárními produkty peroxidace lipidů. Tento proces produkce lipidových radikálů, přesmyk na konjugovaný dien, reakce s kyslíkem za vzniku peroxylového radikálu a následná další produkce lipidových radikálů pokračuje, dokud buď nenastane terminační reakce, nebo se dostupnost kyslíku nestane limitujícím faktorem. Proces peroxidace lipidů má několik způsobů ukončení. Principem je buď kontakt dvou lipidových radikálů, čímž mohou vytvořit stabilní molekulu lipidového diméru, nebo kontakt lipidového radikálu s molekulou antioxidantu (Abeyrathne et al., 2021; Gaschler & Stockwell, 2017). Přítomnost antioxidačních molekul v PEV, jako je α -tokoferol má tedy významný účinek na omezení peroxidace lipidů, ke které dochází v IVLE (Zaloga, 2021).

Počáteční produkty peroxidace PUFA jsou monohydroperoxydy a čím vyšší je stupeň nenasyčení PUFA, tím větší je počet možných hydroperoxidů. Primární hydroperoxydy jsou relativně stabilní v izolaci, ale v přítomnosti přechodných kovů, vitamínů, kyselého pH nebo zvýšených teplot rychle degradují za vzniku velkého množství produktů peroxidace včetně reaktivních aldehydů, komplexních lipidových endoperoxidů a větších lipidových struktur.

Změny zahrnují štěpení uhlíkové kostry řetězce PUFA, čímž vznikají dvě menší molekuly, jedna z metylového konce PUFA a druhá z acylového konce, který je často stále připojen k molekule fosfolipidu. Z metylového konce se vytvářejí aldehydy, jejichž druh závisí na druhu původní molekuly PUFA. Například n-6 PUFA, LA, může tvořit několik možných aldehydů, z nichž nejreaktivnější je 4-hydroxynonenal (4-HNE), zatímco n-3 PUFA generují 4-hydroxyhexanal (4-HHE) (Miloudi et al., 2012; Schaur et al., 2015). Dalšími změnami jsou tvorba cyklických hydroperoxidů, což je složitý proces zahrnující přeskupení molekuly PUFA za vzniku endoperoxidů. Ty se následně dále rozkládají na menší molekuly včetně MDA (Schaur et al., 2015; Schneider, 2009). Produkty oxidace lipidů jsou rovněž látky typu isoprostanů. V případě EPA vznikají F3-isoprostany, z DHA pak jsou odvozovány F4-neuroprostany a z ARA pak F2-isoprostany (Petrovic et al., 2020). Mnohé tyto sekundární produkty lipoperoxidace jsou toxické pro buňky a jsou zvažovány v patogenezi řady chorob, včetně kardiovaskulárních, zánětlivých, či maligních. Mají ale rovněž své role v signálních drahách (de Almeida et al., 2022). Tyto látky jsou také předmětem laboratorního vyšetření a stanovení míry lipoperoxidace, jak bylo zmíněno (Demirci-Çekiç et al., 2022).

Systémy antioxidační ochrany

Antioxidační systémy jsou komplexní mechanismy, kterými se buňky a organismy chrání před oxidačním poškozením způsobeným RONS.

Tyto systémy se dělí na enzymatické a neenzymatické (Demirci-Çekiç et al., 2022; Jomova et al., 2023):

Enzymatické antioxidační systémy:

1. **Superoxiddismutázy (SOD)** jsou třídou enzymů, které hrají klíčovou roli v antioxidační obraně katalyzou konverze 2 superoxidových radikálů na molekulární kyslík a peroxid vodíku, substance méně reaktivní než superoxidový radikál. Reakce je následující:

$$2 \cdot \text{O}_2^- + 2 \text{H}^+ \rightarrow \text{SOD} \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$$

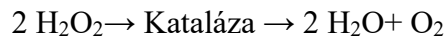
Peroxid vodíku je pak redukován na vodu jinými antioxidačními enzymy, jako je kataláza nebo glutathionperoxidáza, čímž se dokončí detoxikační proces zahájený SOD.

U lidí existují tři hlavní typy superoxiddismutáz, z nichž každý má specifický kovový kofaktor a buněčnou lokalizaci: Cu/Zn-SOD (SOD1) obsahuje v aktivním místě ionty mědi a zinku a nachází se primárně v cytoplasmě; Mn-SOD (SOD2) s manganem v aktivním místě, nachází se v mitochondriální matrix a je součástí ochrany mitochondrií před RONS

generovaných v dýchacím řetězci; extracelulární-SOD (SOD3) s ionty mědi a zinku podobně jako SOD1, působící hlavně v extracelulárních prostorech, zejména v plicní tkáni. Enzymy SOD jsou důležité pro modulaci buněčné reakce na stres.

2. **Kataláza (CAT)** je enzym katalyzující rozklad peroxidu vodíku na vodu a kyslík.

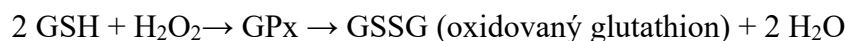
Reakce je následující:



H_2O_2 je méně reaktivní a méně škodlivý než superoxidový radikál, stále může způsobit značné poškození buněk, pokud se hromadí. Může reagovat s kovy, jako je železo nebo měď, za vzniku hydroxylových radikálů prostřednictvím Fentonovy reakce, které jsou vysoce reaktivní a mohou poškodit buněčné molekuly. Enzym je zvláště hojný v peroxisomech, což jsou organely, které hrají kritickou roli v metabolismu mastných kyselin a detoxikaci RONS.

Kataláza je také přítomna v cytosolu a mitochondriích

3. **Glutathionperoxidáza (GPx)** je enzym využívající glutathion k redukci lipidových hydroperoxidů na jejich odpovídající alkoholy a peroxidu vodíku na vodu. Obecná reakce, kterou GPx katalyzuje, může být zapsána jako:



GPx je součástí většího glutathionového systému, který zahrnuje glutathion v redukované formě (GSH), GPx a glutathionreduktázu (GR). Tento systém udržuje redoxní rovnováhu v buňkách. GSH působí jako redukční činidlo, je přitom oxidován na glutathion disulfid (GSSG). Ten pak může být zpět redukován na GSH pomocí glutathionreduktázy a NADPH, což zajišťuje regeneraci GSH.

Kromě toho se GSH a GPx účastní buněčných signálních drah. Hladiny GSH a poměr GSH k GSSG se využívají jako buněčný indikátor OS, mohou také ovlivnit funkci proteinů prostřednictvím redoxní modulace (Demirci-Çekiç et al., 2022). Existuje několik izoenzymů GPx, z nichž každý má jiné preference substrátu a lokalizaci v buňce nebo těle, nejrozšířenější formou je GPx1, vyskytující se téměř ve všech typech buněk a je aktivní proti H_2O_2 a peroxidům lipidů.

4. **Thioredoxinový systém:** zahrnuje thioredoxin, thioredoxin reduktázu a nikotinamid adenindinukleotid fosfát. Tento systém redukuje proteinové disulfidy a peroxidy a udržuje proteiny v jejich redukovaném stavu.

Neenzymatické antioxidační systémy:

1. Glutathion: tripeptid složený z glutaminu, cysteinu a glycinu, který působí jako klíčový intracelulární antioxidant. GSH přímo vychytává RONS a plní úlohu substrátu pro GPx nebo kofaktoru pro další enzymy.

2. Vitamin C – kyselina askorbová: ve vodě rozpustná sloučenina, která může přímo poskytovat elektrony k neutralizaci RONS, jako jsou superoxidové radikály, peroxid vodíku a singletový kyslík. Vitamin C také působí v regeneraci vitamínu E z jeho oxidované formy.

3. Vitamin E – tokoferol chrání PUFA před oxidací tím, že působí jako antioxidant rozpustný v tucích v buněčných membránách. Působí jako donor atomu vodíku lipoperoxylovým radikálům, čímž ukončuje řetězovou reakci lipoperoxidace, která by jinak vedla k oxidaci mastných kyselin v lipidové dvojvrstvě membrán. Jakmile α -tokoferol daruje atom vodíku radikálu, stane se z něj tokoferoxylový radikál, který je ovšem relativně stabilní a může být redukován zpět na aktivní α -tokoferol jinými antioxidanty v těle, jako je kyselina askorbová, koenzym Q, či glutathion, ale také bilirubin (Sies & Ursini, 2022). Kromě toho může α -tokoferoxylový radikál také reagovat s jiným lipidovým peroxylovým radikálem, čímž jsou odstraněny dva radikály. Tato antioxidační ochrana je zvláště důležitá v přítomnosti vyšších koncentrací PUFA, pro jejich náchylnost k lipoperoxidaci. Je také diskutována signalizační funkce tokoferolu (Traber & Head, 2021). Tokoferol má více izomérů, přičemž pro lidský organismus je zásadní právě α -tokoferol, proto je v případě závislosti na PEV důležitá jeho substituce v rámci lipidových emulzí (Raman et al., 2017). Je proto významná i znalost jeho množství v emulzích obsažených. Studie ukazují, že v tomto směru panuje významná variabilita nejen v rámci jednotlivých emulzí, ale i v jejich šaržích (Xu et al., 2015). Vysoké dávky však mohou působit i pro-oxidačně (Zaloga, 2021).

Dále mají svou roli v antioxidačním systému například karotenoidy, flavonoidy a polyfenoly, kyselina močová, koenzym Q10 (který v mitochondriích mj. působí proti peroxidaci lipidů, regeneruje vitamin E), kyselina alfa-lipoová, bilirubin a nepřímo také proteiny vázající kovy jako feritin, transferin, ceruloplasmin, albumin, které vážou kovové ionty (železo, měď), čímž omezují jejich schopnost katalyzovat produkci RONS prostřednictvím Fentonovy reakce.

Jako další endogenní antioxidanty jsou popisovány tzv. plasmalogeny, což je specifický typ fosfolipidu s éterovou vazbou na pozici 1 a PUFA vázanou na pozici 2 uhlíku glycerolu, které brání propagaci lipoperoxidace. Kromě toho zřejmě zastávají i další signalizační a modulační funkce (Bozelli et al., 2021).

Antioxidanty často fungují synergicky v rámci sítí a zvyšují tak buněčnou ochranu. Například radikál vitamínu E může být redukován zpět do aktivní formy vitamínem C, který je následně regenerován glutathionem, čímž se udržuje celková redoxní rovnováha buňky.

Při OS mohou buňky zvýšit expresi antioxidačních proteinů a enzymů. To je např. zprostředkováno transkripčními faktory, jako je NRF2, který zvyšuje expresi široké škály antioxidantů. Jeho aktivita je rovněž ovlivňována PUFA (Papackova & Cahova, 2015).

Jak už bylo zmíněno, antioxidační systémy nemají svou roli pouze v neutralizaci reaktivních molekul, ale hrají také roli v buněčné signalizaci a regulaci apoptózy.

OS pak vzniká při nerovnováze mezi pro-oxidanty a antioxidanty směrem k nadbytku pro-oxidantů. To může způsobit poškození kritických biologických molekul, což vede k poškození buněk a má svou patofyziologickou roli řadě akutních i chronických onemocnění. V ochraně proti OS a minimalizaci jeho účinků buňky aktivují signální dráhy, které zesilují expresi ochranných genů, jako jsou proteiny tepelného šoku a antioxidační enzymy. Tato adaptivní reakce je nezbytná pro přežití v různých stresových podmínkách (Sies et al., 2017).

Paraoxonáza-1 (PON1) je jedním ze tří enzymů v rodině paraoxonáz, mající esterázové a laktonázové aktivity, které mu umožňují hydrolyzovat různé substráty, včetně organofosfátů, esterů aromatických karboxylových kyselin, karbamátů a laktonů. PON1 je syntetizována primárně v játrech a je uvolňována do krve, kde se váže na částice lipoproteinů s vysokou hustotou (HDL), resp. s apolipoproteinem A-I. Svým působením potenciálně pomáhá modulovat zánětlivé reakce v těle (Kotani et al., 2021). Aktivita laktonázy a esterázy PON1 umožňuje hydrolyzovat a degradovat peroxidy lipidů v lipoproteinech s nízkou a vysokou hustotou. Tato degradace nejen zabraňuje oxidativní modifikaci lipoproteinů, která je prozánětlivá a proaterogenní, ale také snižuje OS, faktor zhoršující zánět. Dále inhibuje syntézu chemokinového ligandu CCL2, či monocyte chemoattractant proteinu-1 (MCP-1), čímž nepřímo řídí infiltraci a aktivaci imunitních buněk a může snižovat jaterní poškození (Marsillach et al., 2009). Zajímavá je také asociace transkripce PON1 v hepatocytech s expresí PPAR- δ . Dále hydrolyzou quorum sensing molekul, jako jsou laktony N-acyl-homoserinu, užívané gramnegativními bakteriemi ke koordinaci chování kolonií a tvorbě biofilmu. PON1 narušuje vývoj biofilmu a potenciálně zvyšuje schopnost imunitního systému v obraně proti bakteriální infekci. Krom toho se podílí na metabolismu xenobiotik, ochraně beta buněk, či regulaci endoteliální homeostázy. Aktivita PON1 by také mohla potenciálně sloužit jako biomarker OS v souvislosti s NAFLD (Kotani et al., 2021).

III. Cíle studie

Cílem studie bylo otestovat a popsat efekt 3 různých IVLE a následné eskalace dávky n-3 PUFA na zánětlivou odpověď, antioxidační kapacitu a patologii jater u pacientů s CIF na dlouhodobé DPV:

1. Sledovat změny ve spektru MK v plazmatických a erytrocytárních fosfolipidech.
2. Stanovit koncentrace cytokinů v séru
3. Analyzovat *in vitro* LPS stimulovanou produkci cytokinů v plné krvi ve vztahu k zastoupení n-3 PUFA v jednotlivých IVLE
4. Sledovat účinek jednotlivých IVLE a zejména eskalace n-3 PUFA na antioxidační kapacitu
5. Stanovit koncentrace žlučových kyselin, FGF19 a aktivity jaterních enzymů vzhledem k patologii jaterní tkáně při IFALD

IV. Popis studie

Studie byla navržena jako zkřížená (crossover), částečně zaslepená klinická intervenční studie s pacienty na DPV (DPVP).

Probíhala v období od ledna 2012 do července 2016, kdy byli všichni v té době registrovaní pacienti v programu DPV 4.interní kliniky VFN zváženi ke způsobilosti zařazení. Celkem šlo o 55 pacientů, z nichž bylo zařazeno 12 vhodných a se studií souhlasících pacientů.

Kritéria pro zařazení do studie byla: věk > 18 let, podávání parenterální výživy > 4 dny/týden s předpokládanou dobou trvání > 8 měsíců a stabilní klinický stav bez komplikací v posledních minimálně 2 měsících.

Vylučovacími kritérii byly: aktivní nádorové onemocnění nebo jeho léčba, prokázaný imunodeficit a pokročilá orgánová dysfunkce v důsledku chronického onemocnění.

Každému pacientovi na DPV byly v rámci individuálně připravovaných roztocích PEV podávány následující komerčně dostupné tukové emulze ve třech základních cyklech (bazální režimy):

Smoflipid™ (deklarovaný obsah 30 % sójového oleje, 30 % MCT, 25 % olivového oleje; 15 % rybího oleje),

Lipoplus™ (40 % sójový olej, 50 % MCT, 10 % rybí olej reesterifikovaný)

a Clinoleic™ (20 % sójový olej, 80 % olivový olej).

První tukovou emulzí byl u všech pacientů Smoflipid, který byl užíván minimálně 12 týdnů.

Poté byl u všech na další 4 týdny přidán Omegaven (obsahující 10 % rybí olej), v dávce 100 ml, tj 10 gramů, nahrazujících proporcionalní část základní tukové emulze.

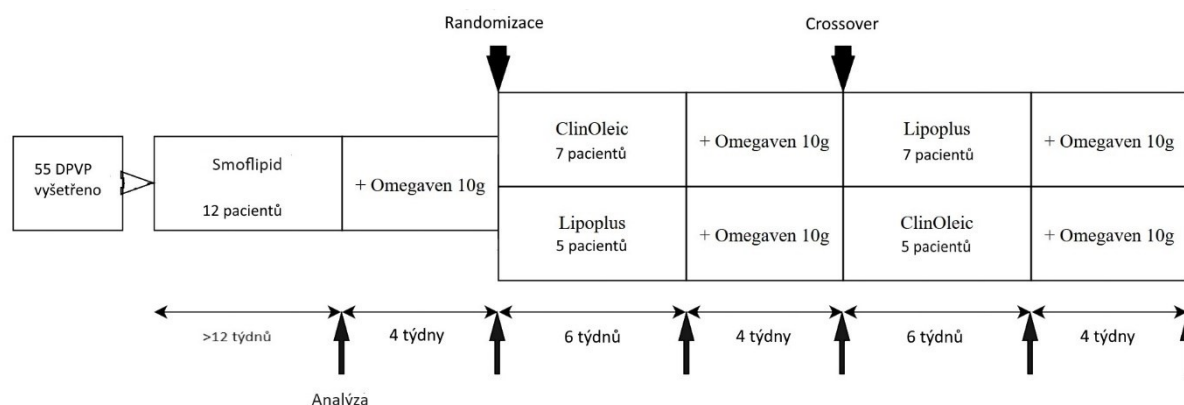
Po tomto cyklu byli pacienti randomizováni, dostávali dva cykly s Lipoplus, nebo Clinoleic po dobu 6 týdnů a následně 4 týdny přidaného Omegavenu po každém cyklu, ve zkříženém designu. Celková dávka tuků, stejně jako složení dalších nutrientů zůstaly tedy zachovány.

Z tohoto hlediska byla výživa pro daného pacienta po celou dobu izokalorická, měnily se pouze tukové emulze. Po každém cyklu byly odebrány vzorky krve pro následné analýzy.

Odběry byly provedeny po minimálním 5hodinovém lačnění, resp. odpojení výživového vaku.

Celkové schéma studie shrnuje [obrázek 1](#). Příprava všech individuálních vaků („all-in-one“) s PEV probíhala na Oddělení sterilních příprav Nemocniční lékárny Všeobecné fakultní nemocnice v Praze.

Obrázek 1: Schéma studie



DPVP, pacient na domácí parenterální výživě

Níže uvedené tabulky shrnují složení použitých složení IVLE dle lékopisných údajů výrobce a zastoupení jednotlivých tříd MK dle našich provedených analýz ([tabulka 1](#)). [Tabulka 2](#) poté charakterizuje dávky některých makronutrientů a tekutin podávaných DPVP v jednotlivých režimech.

Tabulka 1: Složení tukových emulzí a dávkování rybího oleje včetně popisu jejich analýz

Složení IVLE	Smoflipid		Lipoplus		Clinoleic	
	základní	+ Omegaven	základní	+ Omegaven	základní	+ Omegaven
Sójový olej (g) ⁺	16	12	20	16	10	8
MCT olej (g) ⁺	15	12	25	20	-	-
Olivový olej (g) ⁺	12,5	10	-	-	40	32
Rybí olej (g) ⁺	6,5	16	5	14	-	10
Vaječné fosfolipidy(g) ⁺	4	4	4	4	4	4
Vitamin E (mg/l) ⁺	50	60	50	60	~ 16*	~ 32,5*
SFA (mol%)	44,3	39,9	61,1	53,4	18,0	18,8
MUFA (mol%)	30,4	28,9	12,5	14,5	62,2	54,3
n-6 PUFA (mol%)	19,2	16,5	20,2	17,2	18,3	15,7
n-3 PUFA (mol%)	6,1	14,7	6,3	14,9	1,6	11,2

⁺ Údaje o množství olejů převzaty z příslušných lékopisů jednotlivých přípravků IVLE.

Zastoupení tříd MK v IVLE vyjádřeno v mol%, jde o průměry laboratorního měření 2 vzorků IVLE metodikou popsanou dále.

* Clinoleic není suplementován α -tokoferolem, ale obsahuje jiné tokoferoly obsažené v přírodním oleji.

IVLE, intravenózní lipidové emulze; MCT, triacylglyceroly se středním řetězcem; MUFA, mononenasyčené mastné kyseliny;

n-3 PUFA, omega-3 polynenasycené mastné kyseliny; n-6 PUFA, omega-6 polynenasycené mastné kyseliny;

SFA, nasycené mastné kyseliny

Tabulka 2: Přehled dávek parenterální výživy a makronutrientů v jednotlivých režimech

	Smoflipid		Lipoplus		Clinoleic	
	základní	+ Omegaven	základní	+ Omegaven	základní	+ Omegaven
Počet infuzí za týden	6±1	6±1	6±1	6±1	6±1	6±1
Objem infuzí za týden (v litrech)	19,89±8,4	21,17±8,6	20,20±8,5	20,33±8,5	20,14±8,4	20,32±8,5
Parenterálních aminokyselin (g/kg těl.hm/den)	0,86±0,2	0,86±0,2	0,87±0,2	0,88±0,2	0,87±0,2	0,87±0,2
Parenterální glukóza (g/kg těl.hm./den)	2,48±1,3	2,46±1,3	2,5±1,4	2,55±1,4	2,52±1,4	2,51±1,4
Parenterální tuk (g/kg těl.hm/den)	0,79± 0,1	0,79± 0,1	0,80± 0,1	0,81± 0,1	0,80± 0,1	0,80± 0,1
Parenterální rybí olej (g/kg těl.hm/den)	0,12± 0,02	0,25± 0,04	0,08± 0,01	0,23± 0,04	-	0,16± 0,03
Parenterální dávka EPA+DHA (g/kg)	0,05± 0,01	0, 12± 0,02	0,03± 0,01	0,10± 0,02	-	0,07± 0,01

* EPA + DHA z rybího oleje; EPA, kyselina eikosapentaenová; DHA, kyselina dokosahexaenová

Všechny testované IVLE byly dobře snášeny a nebyly zaznamenány žádné s nimi související komplikace. Veškeré složky parenterální výživy byly použity v souladu s Evropským souhrnem údajů o přípravku. Protokol studie byl schválen etickou komisí Všeobecné fakultní nemocnice v Praze. Před zařazením do studie byl od všech účastníků získán písemný informovaný souhlas. Studie byla provedena v souladu s Helsinskou deklarací a směrnicí o klinickém hodnocení a byla registrována v databázi ClinicalTrials.gov: NT13236-4/2012. Před zařazením do studie byl od všech účastníků získán písemný informovaný souhlas. Dále bylo do studie zařazeno 12 zdravých jedinců jako kontrolní skupina (HC), kteří byli s pacienty párováni podle věku (± 5 let) a pohlaví.

V [tabulce 3](#) jsou uvedeny klasifikace střevního selhání a charakteristiky jednotlivých DPVP. Během studie jsme zaznamenali jednu katérovou sepsi během 2520 katérových dnů sledování (odpovídá tedy 0,4 na 1000 katérových dnů). Odběr krve tohoto pacienta byl odložen až do úplného zotavení a data byla zahrnuta do analýzy studie.

Tabulka 3: Charakteristiky pacientů a zdravých kontrol

Pacienti DPV	Pohlaví	Věk	BMI	Patofyziologická klasifikace IF *	Klinická klasifikace IF*	Kontroly	Pohlaví	Věk	BMI
P1	M	85	25,9	SBS II.	C3	K1	M	89	24,2
P2	M	78	17,4	obstrukce	C1	K2	M	76	28,7
P3	M	28	19,8	SBS I.	D4	K3	M	32	20,9
P4	Ž	57	24,1	SBS III.	C3	K4	Ž	62	26,4
P5	Ž	66	22,1	SBS III.	C3	K5	Ž	71	24,7
P6	M	68	19,2	malabsorpce	D2	K6	M	73	24,9
P7	Ž	53	21,4	SBS III.	C4	K7	Ž	53	28,3
P8	Ž	31	24,3	SBS I.	C3	K8	Ž	36	22,4
P9	Ž	57	32,2	SBS I.	B4	K9	Ž	60	20,2
P10	Ž	63	26,3	SBS I.	D4	K10	Ž	61	23,5
P11	Ž	38	22,3	SBS I.	D4	K11	Ž	41	30,5
P12	Ž	76	25,5	SBS I.	C3	K12	Ž	73	26,8
N=12	Ž/M	Průměr±SO	Průměr±SO	SBS/jiné		N=12	Ž/M	Průměr±SO	Průměr±SO
	8/4	58,3±17,6	23,4±3,7	10/2			8/4	60,6±16,6	25,1±3,0

BMI, Body mass index; DPV, domácí parenterální výživa; IF, intestinální selhání; SBS, Syndrom krátkého střeva;

SO, směrodatná odchylka; M, muž; Ž, žena

* dle ESPEN klasifikace (Pironi, 2023); velkým písmenem označen denní průměr celkové energie (kcal/kg tělesné hmotnosti) podané za týden: 1-10 (B), 11-20 (C), >20 (D) a číslicí označen denní průměr celkového objemu (ml) podaného za týden.

V. Metody

1/ Analýza mastných kyselin ve fosfolipidech erytrocytů

Erytrocytární fosfolipidy (EFL) byly extrahovány podle Rose a Oklander (Rose & Oklander, 1965). EFL byly separovány jednorozměrnou tenkovrstvou chromatografií (0,5 mm Silica Gel H, Merck, Německo) za použití směsi rozpouštědel hexan-ether-kyselina octová (70:30:1 v/v/v) a detekovány pomocí 2,7-dichlorfluoresceinu (0,005 % v methanolu) pod UV.

Metylestery MK (fatty acids methyl esters, FAME) byly připraveny ze čtyř komerčních lipidových emulzí použitých ve studii a z EFL. FAME byly následně separovány a detekovány plynovou chromatografií (Tvrzická et al., 2002)

2/ Analýza mastných kyselin ve fosfolipidech plazmy

Plazmatické fosfolipidy (PFL) byly extrahovány podle modifikované metody Folch et al. (Folch et al., 1957). Plazma (1 ml) byla rozpuštěna v 21 ml směsi chloroform-methanol (2:1) a protřepána v baňce. Precipitát bílkovin byl odstraněn filtrací a poté bylo přidáno 10 ml směsi chloroform-methanol-voda (3:48:47 v/v/v). PFL byly separovány jednorozměrnou tenkovrstvou chromatografií (0,5 mm Silica Gel H, Merck) za použití směsi rozpouštědel hexanu, éteru a kyseliny octové (70:30:1 obj./obj.) a detekovány pomocí 2,7-dichlorfluoresceinu (0,005 % v methanolu) pod UV. Pro přípravu FAME byl do zkumavek se silikagelem přidán 1 mol/l methanolátu sodného; zkumavky byly inkubovány 60 minut při pokojové teplotě ve tmě. Reakční směs byla neutralizována 1 mol/l kyseliny octové; FAME byly dvakrát extrahovány do hexanu a propasírovány přes kolonu (5 × 20 mm) bezvodého síranu sodného. Kombinované extrakty byly vysušeny dusíkem, rozpuštěny v příslušném objemu isooktanu a poté uloženy při -20 °C až do analýzy. FAME byly poté separovány a detekovány plynovou chromatografií. FAME byly rozpuštěny ve 100 µl hexanu a 2 µl byly vstříknuty v režimu split (split poměr 30:1) do plynového chromatografu (FOCUS GC s autosamplérem AI 1310, Thermo Fisher Scientific). Teplota injektoru a detektoru byla nastavena na 240 °C. Průtok nosného plynu, vodíku, byl udržován přes kolonu (CP WAX 52CB 25 m × 0,25 mm ID, 0,2 µm, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) v režimu konstantního tlaku (60 kPa). Teplota pece byla naprogramována takto: počáteční teplota 80 °C byla udržována po dobu 1 minuty a poté byla zvyšována rychlostí 20 K/min na 150 °C; teplota byla zvyšována na druhou rampu 230 °C rychlostí 3 K/min a následovalo závěrečné udržování po dobu 3 minut. FAME byly identifikovány podle retenčních časů v porovnání se standardní směsí FAME Nu-CHECK 566C (Nu-Chek Prep, Elysian, MN, USA) (Vecka et al.,

2002). Stejnou metodou byly připraveny a analyzovány FAME pro čtyři komerční lipidové emulze použité ve studii.

3/ Cytokiny

Cytokiny v séru a supernatantech kultur z plné krve byly analyzovány pomocí enzymatických imunoanalýz, a to IL-1 β a IL-8 (Thermo Fisher Scientific, CA, USA), TNF- α IL-6 (Beckman-Coulter, Česká republika).

4/ Stimulace lipopolysacharidem z plné krve

Pro stimulaci krevních buněk LPS *in vitro* byla plná krev zředěna v poměru 1:10 HEPES pufovaným médiem RPMI 1640 (Gibco, Thermo Fisher Scientific) doplněným penicilinem (100 U/ml, Sigma-Aldrich), streptomycinem (100 μ g/ml, Sigma-Aldrich), L-glutaminem (2 mmol, Sigma Aldrich) a autologním sérem (10 %). Naředěná krev (1,8 ml) byla kultivována na 24jamkových destičkách s 0,2 ml bakteriálního LPS o konečné koncentraci 10 μ g/ml (*E. coli* 0111:B4, Sigma-Aldrich) po dobu 24 h ve zvlhčené atmosféře 95 % (37 °C, 5 % CO₂) (Yaqoob et al., 2000). Konečná koncentrace LPS a doba inkubace byly zvoleny na základě předběžných experimentů s cílem vyvolat maximální odpověď.

5/ Analýza FGF-19

Sérové koncentrace FGF19 byly stanoveny pomocí enzymatické imunosorpční analýzy (FGF19 Quantikine ELISA kit, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) podle návodu výrobce.

6/ Stanovení cholesteru a žlučových kyselin

Cholesten (7 α -hydroxy-4-cholesten-3-on; C4) a ŽK byly měřeny pomocí kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií, vzorek byl připraven ze 100 μ l purifikovaného séra smíchaného s 320 μ l acetonitrilu, vše poté 15 minut centrifugováno při 13 000 g, následně byl odebrán supernatant. Vzorek byl separován na systému HPLC (Dionex Ultimate 3000, Dionex Softron GmbH, Německo) vybaveném kolonou Hypersil GOLD (150 \times 2,1 mm, 3 μ m, Thermo Scientific, USA) a kolonou SecurityGuard (Phenomenex, USA). Mobilní fáze se skládala z vody, metanolu a octanu amonného; průtoková rychlost byla 0,3 ml/min, přičemž komora kolony byla nastavena na 40 °C (Lenicek et al., 2016).

7/ Stanovení aktivity antioxidantních enzymů

Aktivity antioxidantních enzymů byly měřeny v erytrocytech spektrofotometricky pomocí dříve publikovaných kinetických metod (Kodydková et al., 2009; Vavrova et al., 2016).

Aktivita glutathionperoxidázy 1 (GPx1) byla měřena pomocí terc-butyhydroperoxidu jako substrátu a byla sledována rychlost degradace NADPH. Přesněji, 580 μ l 172,4 mmol tris-HCl

pufri obsahujícího 0,86 mmol EDTA, pH = 8,0; 100 μ l 20 mmol GSH, 100 μ l 10 U/ml GR, 100 μ l 2 mmol NADPH a 100 μ l naředěného vzorku byly pipetovány do kyvet. Reakce byla spuštěna po 10 minutách inkubace při 37 °C přidáním 20 μ l roztoku 9,99 mmol terc-butylhydroperoxidu. Rychlost NADPH byla sledována spektrofotometricky při 340 nm. Aktivita GPx1 byla vypočtena pomocí molárního extinkčního koeficientu NADPH 6220 M⁻¹ cm⁻¹ a vyjádřena v U/g hemoglobinu. Jedna jednotka GPx1 (U) je definována jako 1 μ mol NADPH oxidovaný na 1 μ mol NADP za minutu.

Aktivita glutathionreduktázy (GR) byla měřena sledováním rychlosti degradace NADPH. V této metodě bylo 700 μ l 0,127 mol. draslíku fosfátového pufri obsahujícího 0,633 mmol Na₂EDTA-2H₂O, pH = 7,2 bylo přidáno do kyvety a následně 100 μ l 22 mmol oxidovaného glutathionu (GSSG) a 100 μ l zředěného GSSG. Reakce byla spuštěna po 10 minutách inkubace při teplotě 37 °C přidáním 100 μ l 1,7 mmol NADPH. Rychlost NADPH byla sledována spektrofotometricky při hodnotě 340 nm. Aktivita GR byla vypočtena pomocí molárního extinkčního koeficientu NADPH 6220 mol⁻¹ cm⁻¹ a vyjádřena jako U/g hemoglobinu. Jedna jednotka GR (U) je definována jako množství enzymu katalyzující redukci 1 μ mol GSSG za minutu.

Aktivita katalázy (CAT) - reakční směs v kyvetách obsahovala 876 μ l 50 mmol fosfátového pufri, pH = 7,2 a 25 μ l pufri naředěného vzorku. Reakce byla zahájena po 10 min. při 30 °C přidáním 99 μ l 10 mmol H₂O₂. Rychlost rozkladu H₂O₂ byla sledována spektrofotometricky při 240 nm. Kataláza byla vypočtena pomocí molárního extinkčního koeficientu katalázy H₂O₂ 43,6 mol⁻¹ cm⁻¹ a vyjádřena jako kU/g hemoglobinu. Jedna jednotka CAT (U) je definována jako 1 μ mol rozkladu H₂O₂ za minutu.

Aktivita superoxidodismutázy (SOD1) byla měřena sledováním rychlosti tvorby nitroblue tetrazolium-formazanu (NBT-). Reakční směs v kyvetách obsahovala 700 μ l 50 mmol fosfátového pufri, pH = 7,2; 50 μ l xantinoxidázy; 100 μ l NBT a 50 μ l zředěného vyšetřovaného vzorku. Reakce byla zahájena po 10 minutách inkubace při 25 °C přidáním 100 μ l 1 mmol xanthinu. Rychlost tvorby NBT-formazanu byla sledována spektrofotometricky při 540 nm. Pro každý vzorek byl proveden slepý pokus. Aktivita superoxidodismutázy byla vypočtena pomocí kalibrační křivky a vyjádřena v U/g hemoglobinu. Jedna jednotka SOD (U) je definována jako množství enzymu potřebné k tomu, aby vykazovala 50% dismutaci superoxidového radikálu. Standard superoxid dismutázy (kat. č. S9636-1kU) byl zakoupen od společnosti Sigma Aldrich (St. Louis, MO USA).

Aktivita arylesterázy paraoxonázy 1 (PON1) byla měřena za použití fenylacetátu jako substrátu. Při reakci bylo 900 μ l 20 mmol pufri tris-HCl obsahujícího 1 mmol CaCl₂ (pH =

8,0) přidáno do kyvety a následně k tomu 50 μ l zředěného vzorku séra. Reakce byla zahájena přidáním 50 μ l 100 mmol fenylacetátu. Rychlost tvorby fenolu byla sledována spektrofotometricky při 270 nm. Pro každý vzorek byl proveden slepý pokus. Arylesterázová aktivita PON1 byla pak vypočtena pomocí molárního extinkčního koeficientu $1310 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ a vyjádřena v U/ml séra. Jedna jednotka PON1 (U) je definována jako 1 μ mol degradace fenylacetátu na fenol za minutu.

Koncentrace PON1 byla měřena soupravou Human Paraoxonase 1 Elisa (BioVendor research and Diagnostic products, sro, Heidelberg, Německo).

Měření ox-LDL bylo provedeno pomocí oxidovaného LDL ELISA kitu (Merckodia, Uppsala, Švédsko).

Všechna rutinní klinická vyšetření byla provedena v Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky Všeobecné fakultní nemocnice v Praze aktuálně zavedenými metodami.

8/ Statistické hodnocení

Analýza statistické síly byla provedena s použitím příslušných údajů o variabilitě pro hlavní třídy mastných kyselin a za předpokladu oboustranné 5% hladiny významnosti. Velikost vzorku 12 osob byla shledána za dostatečnou k zajištění 80% síly jednosměrné analýzy rozptylu (ANOVA) a schopnosti detekovat rozdíly v průměrných poměrech mastných kyselin (Klek et al., 2013).

Normalita rozdělení dat byla testována pomocí Shapiro-Wilkova testu.

Pro parametrické analýzy byly rozdíly mezi DPVP a HC hodnoceny pomocí jednocestné (one-way) variační analýzy ANOVA s porovnáním Newman-Keulsovým post hoc testem. Pro neparametrické analýzy byl použit Kruskal-Wallisův ANOVA test.

Pro závislé analýzy rozdílů mezi výchozími DPVP vzájemně byla použita Friedman ANOVA, mezi výchozími režimy a režimy + Omegaven byl použit párový t-test. Pro neparametrické srovnání základních režimů a +Omegaven byl použit Wilcoxonův signed-rank test.

Spearmanovy korelační koeficienty byly vypočteny pro asociace mezi FGF19 a SOD1, ALP a C4, ALP a ŽK a také stimulované produkce IL-6 a dávky EPA a DHA. Hranice statistické významnosti byla stanovena na $p < 0,05$.

Všechny statistické analýzy byly provedeny pomocí softwaru StatSoft Statistica 12 CZ.

Grafy a tabulky byly vytvořeny v programu MS Office Excel 365.

VI. Výsledky

1/ Třídy mastných kyselin v lipidových emulzích a fosfolipidech erytrocytů

Hlavní třídy MK v jednotlivých IVLE (průměrné hodnoty ze dvou různých měřených šarží vzorků) jsou uvedeny v oddílu IV. Popis studie v [tabulce 1](#).

MUFA představují hlavní složku Clinoleic. Největší podíl celkových SFA byl v přípravku Lipoplus, a to především díky složce MCT oleje.

Ve Smoflipid bylo zastoupení SFA a MUFA ve srovnání s ostatními základními LE nejvyrovnanější. Podíl n-6 byl ve všech základních IVLE podobný, zatímco podíl n-3 PUFA byl v Clinoleic menší a v ostatních dvou IVLE podstatně vyšší. Příklad přípravku Omegaven snížil významně poměr n-6/n-3 PUFA ve srovnání s příslušným základním režimem IVLE ([obrázek 2](#) část C).

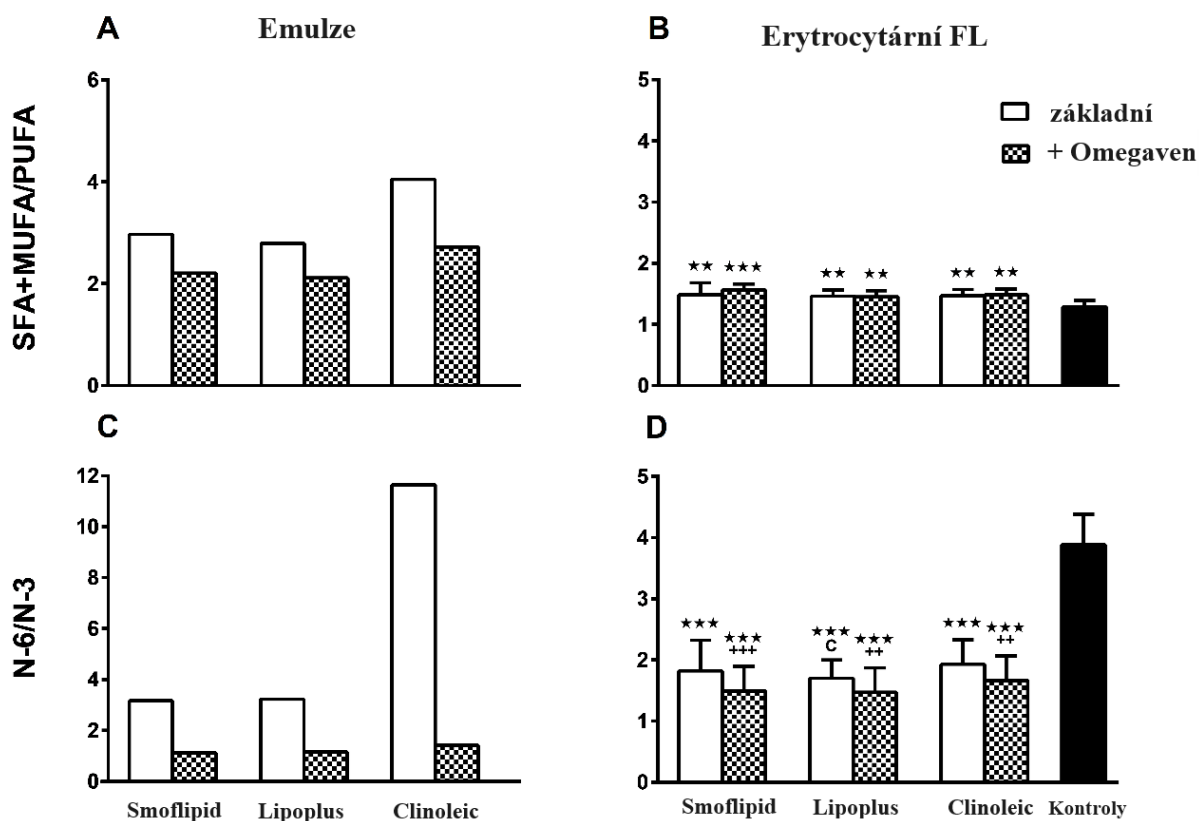
2/ Třídy mastných kyselin ve fosfolipidech erytrocytů.

Srovnání EFL DPVP s EFL HC ukázalo, že DPVP mají vyšší podíl MUFA a n-3 PUFA, ale nižší podíl n-6 PUFA v EFL bez ohledu na podávanou IVLE.

Poměr SFA+MUFA/PUFA byl vyšší u Clinoleic ve srovnání s ostatními IVLE ([obrázek 2](#), část A), ale tyto rozdíly se neodrazilily v rozdílech EFL u jednotlivých DPVP. Nicméně tento poměr byl vyšší v EFL všech DPVP oproti HC u všech režimů IVLE. ([obrázek 2](#), část B).

Poměr n-6/n-3 PUFA byl srovnatelný u Smoflipid i Lipoplus, ale u Clinoleic byl podstatně vyšší ([obrázek 2](#), část C). Mezi DPVP a s ohledem na základní IVLE jsme pozorovali nižší n-6/n-3 u režimu Lipoplus ve srovnání s režimem Clinoleic. Následné podávání přípravku Omegaven tento parametr dále snížilo u všech režimů. EFL u DPVP měly nižší n-6/n-3 PUFA oproti EFL u HC ([obrázek 2](#), část D).

Obrázek 2: Grafy poměrů tříd MK v použitých IVLE (A, C) a EFL (B, D)



Hodnoty v IVLE jsou průměry měření 2 vzorků. Hodnoty v EFL jsou vyjádřeny jako průměr a směrodatná odchylka SD.

* DPVP vs. kontroly; počítáno one-way ANOVA; ^C Lipoplus vs. Clinoleic; počítáno Friedmann ANOVA; + Omegaven vs. základní emulze; počítáno párovým t-testem

^C $p < 0,05$; **,++ $p < 0,01$; ***,+++ $p < 0,001$

SFA, nasycené mastné kyseliny; MUFA, mononenasycené mastné kyseliny; PUFA, polynenasycené mastné kyseliny; n-6, omega-6 polynenasycené mastné kyseliny; n-3, omega-3 polynenasycené mastné kyseliny; FL, fosfolipidy

Převzato a upraveno z (Novak et al., 2019)

3/ Profil mastných kyselin ve fosfolipidech erytrocytů

Detailní příslušné podíly jednotlivých MK naměřené v EFL DPVP a HC jsou uvedeny v [tabulce 4](#). Při podávání výchozích LE jsme pozorovali vyšší koncentrace kyseliny stearové (18:0) v EFL u DPVP na režimech Smoflipid i Lipoplus ve srovnání s režimem Clinoleic. Byl také zjištěn vyšší podíl kyseliny arachidonové (20:4n-6, ARA) v EFL na režimu Smoflipid než na režimu Lipoplus. Dále pak v EFL DPVP na režimu Lipoplus byl pozorován nižší poměr ARA/EPA (20:4n-6/ 20:5n-3 ve srovnání s režimem Clinoleic. Kyseliny palmitová (16:0), olejová (18:1n-9), EPA (20:5n-3) a DHA (22:6n-3) byly zvýšené a naopak LA (18:2n-6), dihomog- γ -linolová (20:3n-6), ARA (20:4n-6) a celkové PUFA byly v EFL u všech režimů IVLE sniženy ve srovnání s jejich hladinami u HC. Tyto rozdíly vedly k nižším poměrům 20:4n-6/20:5n-3 a 20:4n-6/20:6n-3 v EFL DPVP ve srovnání s HC.

4/ Třídy mastných kyselin v plazmatických fosfolipidech

Jak shrnuje [tabulka 5](#), analyzovali jsme profil mastných kyselin v PFL DPVP a HC. Zvýšený byl podíl palmitové (16:0), EPA, (20:5n-3), dokosapentaenové (22:5n-3, DPA), DHA (22:6n-3), celkových SFA a n-3 PUFA. Naopak LA (18:2n-6), ALA (18:3 n-3), dihomog- γ -linoleová (20:3n-6), ARA (20:4n-6), celkové n-6 PUFA a celkové PUFA byly u PFL sniženy u všech režimů IVLE ve srovnání s jejich hodnotami u HC. Tyto rozdíly vedly k nižším poměrům 20:4n-6/20:5n-3 a 20:4n-6/22:6n-3 a vyšším poměrům 22:6n-3/18:3n-3 v PFL u DPVP ve srovnání s HC.

Při porovnání DPVP na základních emulzích jsme pozorovali nižší podíly dihomog- γ -linoleové kyseliny (20:3n-6) a celkových n-6 PUFA, a naopak vyšší podíly 20:5n-3 a celkových n-3 PUFA v PFL na režimu Smoflipid ve srovnání s režimem Clinoleic.

Tyto rozdíly vedly k nižšímu poměru 20:4n-6/20:5n-3 a 20:4n-6/22:6n-3 a vyššímu poměru 22:6n-3/18:3n-3. Mezi režimy Smoflipid vs. Lipoplus a Lipoplus vs. Clinoleic nebyly zjištěny žádné rozdíly. A konečně přidání přípravku Omegaven k základním režimům LE dále snížilo podíl n-6 a zvýšilo podíl n-3 PUFA u všech těchto intervencí.

Tabulka 4: Spektrum mastných kyselin v erytrocytárních fosfolipidech.

MK	SMOFLipid		Lipoplus		ClinOleic		Kontroly
	základní	+ Omegaven	základní	+ Omegaven	základní	+ Omegaven	
14:00	0,19±0,1 **	0,23±0,1 *	0,21±0,1 *	0,21±0,1 *	0,21±0,1 *	0,199±0,0 *	0,29±0,1
16:00	23,98±1,9 ***	25,42±2,1 ***	24,02±1,5 ***	24,38±1,2 ***	24,38±2,0 ***	23,75±0,9 ***	21,40±0,7
18:00	15,51±1,1 **,C1	15,38±0,9 **	15,39±1,1 **,C2	15,25±1,1 **	14,75±1,0 ***	14,72±2,0 ***	16,87±0,7
18:1n-9	16,38±1,0 *	16,33±0,9 *	16,22±1,1 *	15,82±1,5 *	16,80±1,8 **	17,02±1,3 ***	14,79±0,6
18:1n-7	1,47±0,2	1,46±0,2	1,48±0,3	1,44±0,3	1,48±0,2	1,52±0,2	1,34±0,1
18:2n-6	8,76±1,3 **	8,33±1,1 ***,+	9,45±1,8 **	9,13±2,1 **	9,18±1,7 **	8,96±1,9 **	11,57±1,5
18:3n-6	0,05±0,0	0,05±0,0	0,31±0,9	0,57±1,8	0,49±1,5	0,34±0,8	0,09±0,0
18:3n-3	0,11±0,0	0,11±0,0	0,13±0,1	0,16±0,1	0,15±0,1	0,23±0,3	0,18±0,0
20:1n-9	0,20±0,0	0,18±0,0	0,22±0,1	0,22±0,1	0,25±0,1	0,37±0,4	0,31±0,1
20:3n-6	1,73±0,3 C1	1,41±0,3 *,++	1,75±0,4	1,50±0,2 ++	1,94±0,4	1,60±0,2 ++	1,82±0,3
20:4n-6	13,03±1,81 ***,L1	11,36±2,1 ***,+++	11,92±1,7 ***	10,82±1,3 ***,++	12,55±1,9 ***	11,72±1,5 ***,+	17,04±1,0
20:5n-3	2,72±0,8 ***	3,74±1,4 ***,+++	2,88±1,0 ***	3,78±1,3 ***,+++	2,32±0,8 **	3,43±1,4 ***,+++	0,89±0,3
22:5n-3	4,14±0,5 ***	4,06±0,4 ***	4,1±0,5 ***	4,11±0,6 ***	3,94±0,5 ***	4,37±1,5 ***	2,86±0,4
22:6n-3	8,38±1,0 ***	8,76±1,0 ***	8,52±1,0 ***	9,12±1,3 ***,++	8,06±1,2 ***	8,30±1,2 ***	4,98±0,7
n-6+n-3	40,54±2,5 **	39,16±2,1 ***	40,82±2,1 **	40,84±1,9 **	40,65±2,2 **	40,34±1,7 **	43,63±1,2
20:4/20:5	5,29±2,0 ***	3,45±1,5 ***,+++	4,62±1,7 ***,cl	3,17±1,1 ***,+++	6,23±2,7 ***	3,94±1,6 ***,+++	20,76±6,9
20:4/18:2	1,52±0,33 L1	1,40±0,4 +	1,31±0,4	1,25±0,4	1,43±0,4	1,37±0,4	1,5±0,2
20:4/22:6	1,59±0,4 ***	1,32±0,3 ***,+++	1,43±0,4 ***	1,22±0,3 ***,+++	1,61±0,4 ***	1,46±0,3 ***,+	3,48±0,5
22:6/18:3	56,88±23,8 **	59,02±19,1 **	57,27±38,0 **	57,13±31,1 **	46,33±20,3 *	40,33±20,6 *	18,66±3,0
EPA+DHA vs. stim-IL-6#	-0,67 p=0,017	-0,7 p=0,012	-0,69 p=0,013	-0,18 p=0,58	-0,63 p=0,028	-0,6 p=0,041	xx

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ pro srovnání DPVP a zdravých kontrol, počítáno one-way ANOVA

+ $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$; +++ $p < 0,001$ ve srovnání +Omegaven a základního režimu IVLE, počítáno párovým t-testem;

C1 $p < 0,05$; C2 $p < 0,01$ srovnání základního režimu vs. Clinoleic; L1 $p < 0,05$; srovnání základního režimu vs. Lipoplus, počítáno Friedman ANOVA testem.

Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka

EPA+DHA vs stim-IL-6 vypočteny Spearman korelační koeficienty; $p < 0,05$ jako signifikantní

DHA, kyselina dokosaheptaenová; EPA, kyselina eikosapentaenová; MK, mastné kyseliny; stim. IL-6, liposacharidem stimulovaná produkce interleukinu-6

Tabulka 5: Spektrum plazmatických mastných kyselin.

	Smoflipid		Lipoplus		Clinoleic		Kontroly
	základní	+ Omegaven	základní	+ Omegaven	základní	+ Omegaven	
16:00	31,40±1,61 ***	31,52±2,8 ***	30,61±1,2 **	30,27±1,6 **	30,27±1,7 **	29,97±0,95 **	27,89±1,6
16:1n-7	0,61±0,2	0,62±0,2	0,64±0,3	0,63±0,3	0,65±0,3	0,61±0,2	0,59±0,2
18:00	12,70±1,7	12,92±1,8	12,91±1,4	13,28±1,42	12,73±1,2	12,83±1,0	13,88±1,2
18:1n-9	11,5±1,2	11,28±1,5	11,73±2,0	11,42±2,3	11,89±1,7	12,65±1,9 *	10,38±1,1
18:2n-6	16,67±2,2 ***	15,13±2,2 ***,+	17,76±3,3 **	16,57±3,6 ***,+	17,38±3,1 **	16,92±3,0 ***	21,84±3,1
18:3n-3	0,16±0,04 *	0,15±0,1 **	0,16±0,04 *	0,17±0,1 *	0,18±0,06 *	0,14±0,01 **	0,22±0,04
20:3n-6	2,75±1,1 C1	2,08±1,0 *,++	2,83±1,1	2,14±0,8 *,+	3,69±1,3	2,16±0,8 *,+++	3,284±0,6
20:4n-6	8,66±2,0 ***	7,20±1,7 ***,+++	8,36±1,5 ***	7,48±1,6 ***,+++	9,57±2,1 *	7,64±1,6 ***,+++	11,89±1,4
20:5n-3	3,34±1,0 **,C2	5,18±1, ***,+++	3,08±1,5 **	4,96±2,074 ***,+++	2,18±1,0	4,55±2,0 ***,+++	1,1±0,4
22:5n-3	1,52±0,3 **	1,66±0,4 ***	1,475±0,3 **	1,53±0,4 **	1,37±0,3 *	1,26±0,23 ++	1,038±0,07
22:6n-3	6,98±1,3 ***	8,70±2,9 ***	6,68±1,4 ***	7,93±1,5 ***,+++	6,09±1,9 ***	7,4±1,5 ***,+++	3,58±1,0
Σ SFA	45,22±1,4 **	45,66±2,6 **	44,43±2,1	44,48±1,6	43,89±1,2	43,69±0,8	42,83±0,9
Σ MUFA	14,19±1,38	13,91±1,62	14,45±2,46	14,11±2,54	14,74±1,88	15,47±1,92 *	12,96±1,2
Σ n-6 PUFA	28,81±2,2 ***,C2	25,13±3,4 ***,+++	29,81±3,2 ***	26,92±3,6 ***,+++	31,61±3,0 ***	27,53±3,7 ***,+++	38,16±2,2
Σ n-3 PUFA	11,78±2,2 ***,C1	15,3±4,2 ***,++	11,31±2,1 ***	14,49±2,9 ***,+++	9,76±2,8 **	13,31±3,1 ***,+++	6,05±1,4
n-6+n-3	40,58±2,0 **	40,43±2,9 **	41,11±2,5 **	41,41±2,6 **	41,37±2,2 **	40,84±2,1 **	44,21±1,4
20:4/20:5	2,88±1,2 ***,C1	1,57±0,7 ***,+++	3,35±1,6 ***	1,71±0,6 ***,++	5,44±2,8 ***	2,03±1,0 ***,+++	3,56±1,4
20:4/22:6	1,27±0,4 ***,C1	0,9±0,3 ***,+++	1,3±0,4 ***	0,96±0,2 ***,+++	1,77±0,9 ***	1,07±0,3 ***,++	3,52±0,9
22:6/18:3	31,42±15,1 ***, C1	44,98±24,0 ***	29,99±16,6 *	35,74±16,3 **	22,73±12,7 ***	34,01±10,0 **,+++	11,46±3,6

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ pro srovnání DPVP a kontrol počítáno one-way ANOVA

+ $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$; +++ $p < 0,001$ ve srovnání +Omegaven a základního režimu IVLE počítáno párovým t-testem;

C1 $p < 0,05$; C2 $p < 0,01$ srovnání základního režimu vs. Clinoleic počítáno Friedman ANOVA; Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka

SFA, nasycené mastné kyseliny; MUFA, mononenasyčené mastné kyseliny; n-6 PUFA, omega-6 polynenasycené mastné kyseliny; n-3 PUFA, omega-3 polynenasycené mastné kyseliny; FL, fosfolipidy

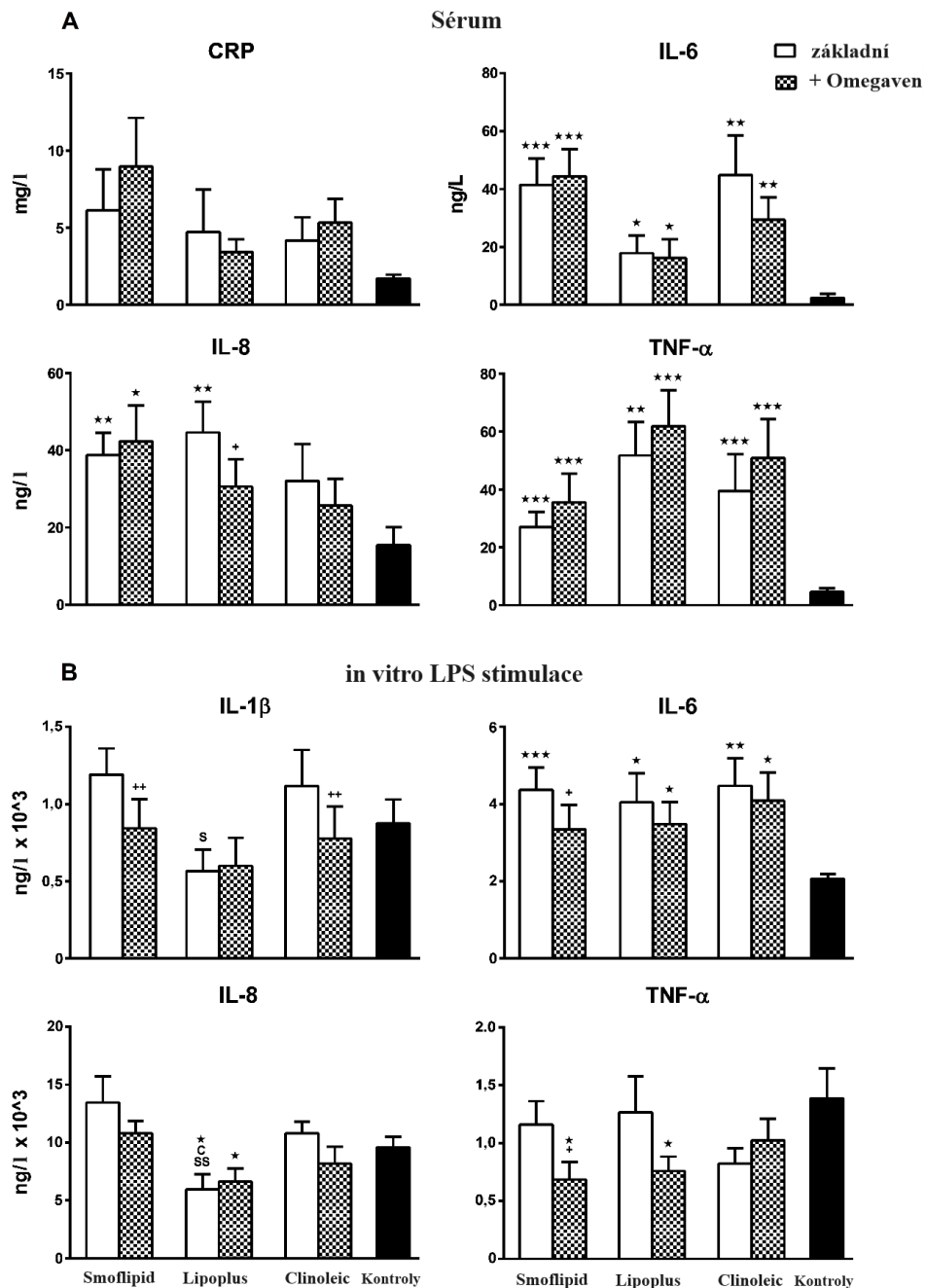
5/ Hodnoty cytokinů v séru a stimulované LPS *in vitro*

Nezaznamenali jsme žádné významné rozdíly v sérových cytokinech mezi základními režimy IVLE. Podávání přípravku Omegaven nemělo vliv na žádné sérové parametry s výjimkou snížení koncentrace IL-8 u režimu Lipoplus ([Obrázek 3](#), část A). Zvýšení, nebo trendy ke zvýšení koncentrací IL-6, IL-8 a TNF- α byly nicméně pozorovány u všech režimů DPVP ve srovnání s HC. Počet leukocytů a hodnota hemoglobinu (uvedeno dále v tabulce 6) se pohybovaly v rozmezí normálních hodnot jak u DPVP, tak u HC, bez významného rozdílu. Srovnání jednotlivých výchozích IVLE prokázalo nižší LPS stimulovanou produkci IL-1 β u pacientů v režimu Lipoplus ve srovnání s pacienty, kterým byl podáván Smoflipid a Clinoleic, a také nižší IL-8 ve srovnání s pacienty užívajícími režim Smoflipid.

Omegaven přidaný k přípravku Smoflipid snížil produkci IL-1 β , IL-6 a TNF- α , zatímco Omegaven přidaný k přípravku Clinoleic snížil pouze produkci IL-1 β . Omegaven neměl žádný vliv na produkci cytokinů stimulovaných LPS během režimu Lipoplus. Koncentrace IL-6 byla vyšší u DPVP než u HC pro všechny základní IVLE.

Produkce IL-1 β , IL-8 a TNF- α se mezi DPVP při všech základních režimech LE a HC významně nelišila. S výjimkou hodnoty IL-8, která byla nižší u pacientů na režimu Lipoplus ([Obrázek 3](#), část B). Hodnoty jsou zaznamenány jako rozdíl v koncentracích se stimulací a bez stimulace. Rovněž jsme zaznamenali výraznou negativní korelaci mezi dávkou EPA+DHA v podaných IVLE a hodnotami LPS stimulované produkce IL-6 ve všech DPVP režimech s výjimkou Lipoplus+Omegaven.

Obrázek 3: Grafy hodnot CRP a cytokinů v séru (A) a *in vitro* LPS-stimulované produkce cytokinů (B).



Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměry a směrodatná odchylka SD.

* DPVP vs. kontroly počítáno one-way ANOVA; ^S Lipoplus vs. Smoflipid; ^C Lipoplus vs. Clinoleic počítáno Friedmann ANOVA testem; + Omegaven vs. základní režim emulze počítáno párovým t-testem; ^{*,C,+} $p < 0,05$; ^{**SS,++} $p < 0,01$; ^{***,+++} $p < 0,001$

CRP, C-reaktivní protein; IL-6, interleukin 6; IL-8, interleukin 8, TNF-α, tumor necrosis factor-α, LPS, lipopolysacharid Převzato a upraveno z (Novak et al., 2019)

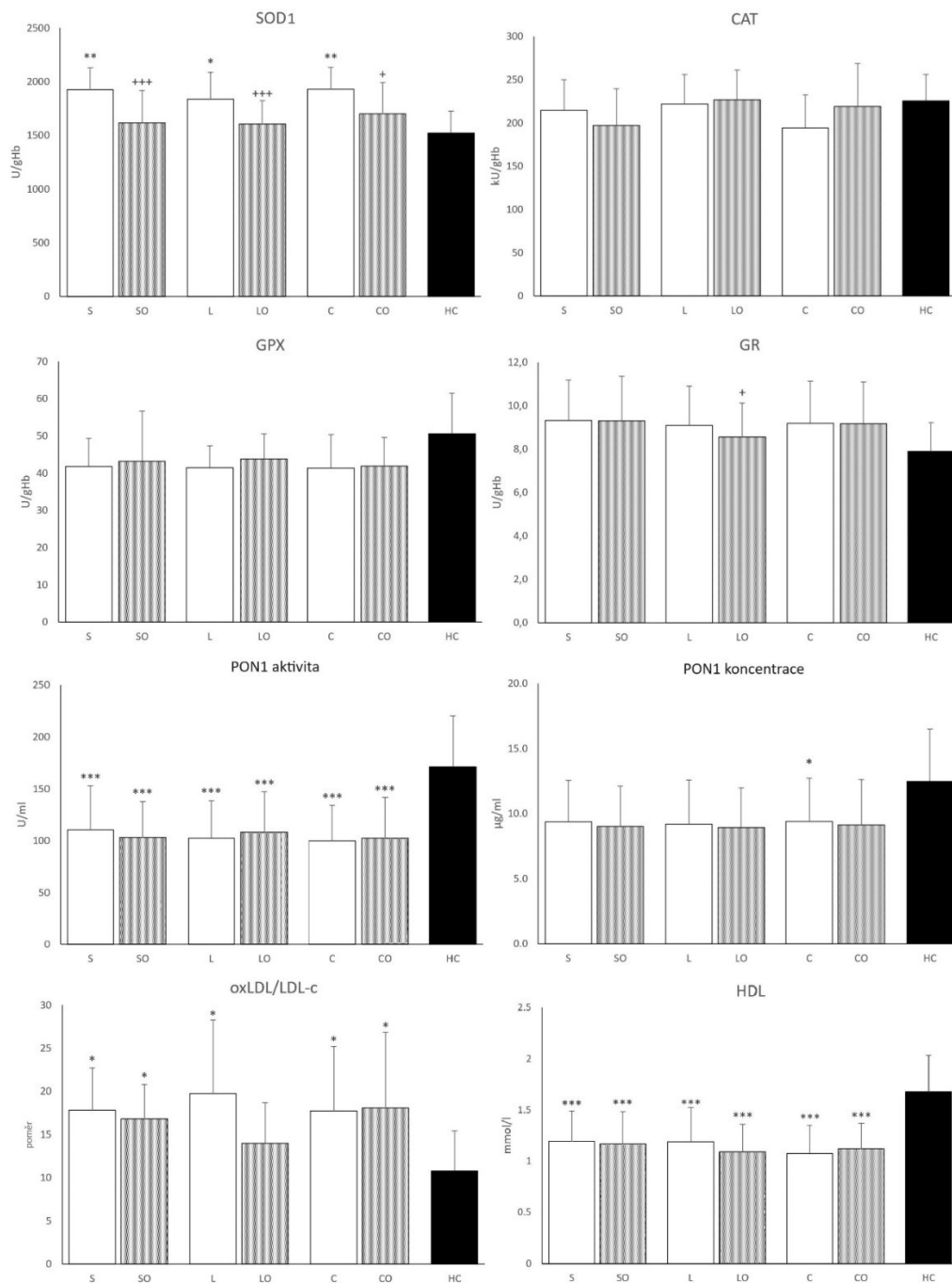
6/ Antioxidační enzymy

Aktivity antioxidačních enzymů v erythrocytech jsou vyjádřeny v grafech na [obrázku 4](#). Pozoruhodné výsledky byly pozorovány u aktivit SOD1. Ve všech základních režimech DPVP byly hodnoty SOD1 zvýšené ve srovnání s hodnotami ve skupině HC. Přidaný Omegaven pak významně snížil aktivity SOD1 směrem k aktivitám pozorovaným u HC, resp. prakticky na jejich úroveň.

Aktivity CAT v erythrocytech se nelišily mezi jednotlivými režimy DPVP ani vzhledem k HC. Aktivity GPx1 a GR byly mírně odlišné od HC, ale bez statistické významnosti. Pouze aktivita GR byla významně nižší v režimu Lipoplus + Omegaven ve srovnání s bazálním režimem Lipoplus.

Aktivita PON1 byla nižší u všech režimů DPVP ve srovnání s HC. Koncentrace PON1 obecně sledovala hodnoty jeho aktivity, ale rozdíl mezi DPVP a HC neměl statistickou významnost vyjma režimu Clinoleic. Podobně i koncentrace HDL cholesterolu byly nižší u režimů DPVP ve srovnání s HC. Poměr oxLDL cholesterolu k celkovému LDL cholesterolu byl vyšší u všech DPVP s výjimkou režimu Lipoplus + Omegaven, kde rozdíl oproti HC nebyl významný. Mezi režimy DPVP rozdíl pozorován nebyl.

Obrázek 4: Grafy aktivit antioxidantních enzymů v séru a sérové koncentrace HDL.



Režimy v horizontální ose: S, Smoflipid; SO, Smoflipid+Omegaven; L, Lipoplus; LO, Lipoplus+Omegaven; C, Clinoleic; CO, Clinoleic+Omegaven. HC, zdravé kontroly

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ pro srovnání DPVP a kontrol počítáno one-way ANOVA.

+ $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$; +++ $p < 0,001$ ve srovnání +Omegaven a základního režimu IVLE počítáno párovým t-testem. Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr a směrodatná odchylka SD.

SOD1, Cu/Zn-superoxid dismutáza, CAT, kataláza, GPX, glutathionperoxidáza 1, PON1, paraoxonáza-1, oxLDL/LDL-c, poměr oxidovaný lipoprotein s nízkou hustotou/celkový lipoprotein s nízkou hustotou; HDL, lipoprotein o vysoké hustotě

Převzato a upraveno z (Sevela et al., 2024)

7/ Biochemické parametry

Biochemické parametry jsou shrnuty v [tabulce 6](#).

U všech režimů DPV byly hladiny celkového cholesterolu, HDL cholesterolu, apoprotein A1, apoprotein B nižší v porovnání s HC. V hodnotách triacylglycerolů, LDL cholesterolu a lipoproteinu (a) nebyly významné rozdíly. Dále byla nižší koncentrace vápníku, naopak vyšší množství transferinu u DPVP ve srovnání s HC. Ferritin by sice v průměru vyšší u DPVP, ale vykazoval také velký rozptyl a statistická významnost potvrzena nebyla. Hodnota sérového amyloidu A (SAA) se statisticky nelišila.

Pokud jde o základní biochemické jaterní parametry, tj koncentrace celkového bilirubinu, aktivity enzymů AST, ALT a GGT se mezi režimy a oproti HC nelišily se statistickou významností (tabulka 8). V hodnotách ALP jsme však zaznamenali vyšší aktivitu u všech DPVP ve srovnání s HC. Nicméně hodnoty byly stále ve rozmezí fyziologických hodnot. Přidání přípravku Omegaven snížilo aktivitu ALP pouze u režimu Smoflipid.

Tabulka 6: Biochemické parametry, hemoglobin a leukocyty

		Smoflipid		Lipoplus		Clinoleic		Kontroly
		základní	+ Omegaven	základní	+ Omegaven	základní	+ Omegaven	
TAG	(mmol/l)	1,21±0,44	1,21±0,5	1,34±0,6	1,54±0,8	1,56±0,6	1,43±0,6	1,16±0,5
TC	(mmol/l)	4,30±1,0 *	4,36±1,0 **	4,22±1,0 *	4,32±1,1 **	3,98±1,0 **	4,12±0,8 **	5,60±1,1
LDL-C	(mmol/l)	2,57±0,9	2,65±1,0	2,43±0,9	2,54±1,0	2,20±0,9	2,41±0,8	3,4±1,0
HDL-C	(mmol/l)	1,19±0,29 ***	1,17±0,32 ***	1,19±0,34 ***	1,09±0,27 ***	1,08±0,27 ***	1,12±0,25 ***	1,68±0,35
Apo A1	(g/l)	1,43±0,3	1,28±0,3 ***	1,29±0,4 ***	1,26±0,4 ***	1,31±0,3 ***	1,19±0,3 ***	1,67±0,3
Apo B	(g/l)	0,91±0,34 ***	0,87±0,35 ***	0,89±0,33 ***	0,93±0,41 ***	0,69±0,24 ***	1,07±0,46 ***	1,09±0,39
Lp(a)	(g/l)	0,21±0,21	0,21±0,19	0,3±0,29	0,28±0,23	0,27±0,25	0,2±0,16	0,14±0,27
SAA	(mg/l)	24,80±15,6	33,57±18,6	25,55±20,4	27,98±14,2	31,50±21,0	34,12±15,6	19,96±24,3
HCY	(μmol/l)	13,3±3,4	14,2±4,6	13±4	13,6±4,9	13,5±2,8	14,8±4,6	13±2,5
Ca	(mmol/l)	2,24±0,1 **	2,20±0,1 **	2,24±0,1 *	2,24±0,1 **	2,22±0,1 **	2,27±0,1 **	2,37±0,06
Fe	(μmol/l)	14,22±7,47 ^{c1}	13,72±5,32	15,09±7,58	15,61±6,5	17,89±10,25	14,37±6,5	22,2±10,1
Transferin	(mg/l)	3,47±0,81 *	3,45±0,85 *	3,46±0,78 *	3,5±0,79 *	3,31±0,74 *	3,25±0,79 *	2,45±0,34
Ferritin	(μg/l)	151±220,2	130,7±167,9	145,7±185,6	152,5±185,3	152,8±232,2	220,1±223,4 ⁺	94,5±69
Leukocyty	(x10 ⁹ /l)	6,1±2,5	6±2,4	6,3±2,4	6,3±2,5	6,4±2,1	6,6±3,3	5,8±1,4
Hemoglobin	(g/l)	131±11	130±13	132±11	131±15	128±14	131±14	144±9

*, DPVP vs. kontrola, počítáno one-way ANOVA; +, Omegaven vs. základní emulze počítáno párovým t-testem; C1, Smoflipid vs Clinoleic režim počítáno Friedman ANOVA testem; *,+,c1 p < 0,05; **, p < 0,01; ***, p < 0,001; Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka SD.

TAG, triacylglyceroly, TC, celkový cholesterol, LDL-C, cholesterol lipoproteinu s nízkou hustotou; HDL-C, cholesterol lipoproteinu s vysokou hustotou, Apo A1, apolipoprotein A1; Apo B, apolipoprotein B; Lp(a), lipoprotein (a); SAA, sérový amyloid A; HCY, homocystein; Ca, celkový vápník; Fe, železo

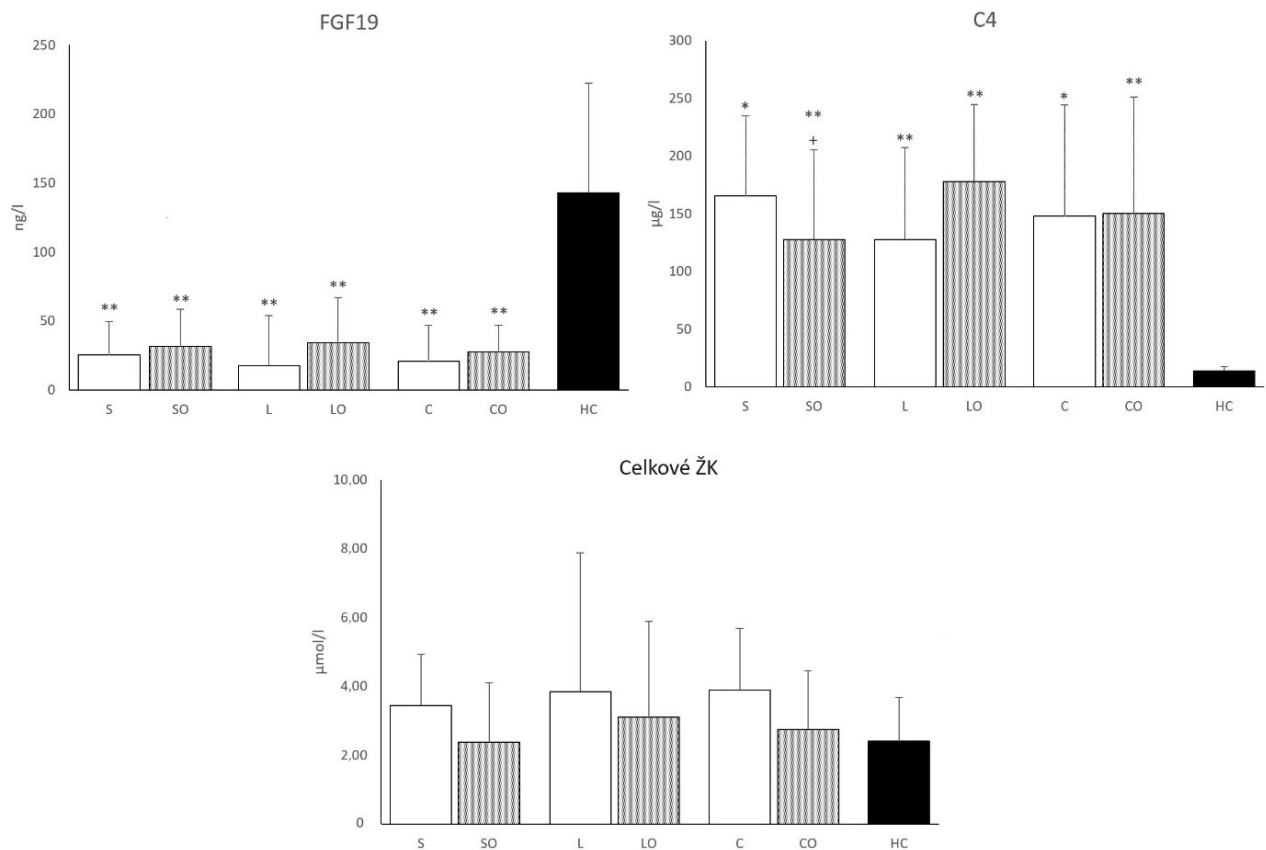
8/ FGF19 a žlučové kyseliny

Zjistili jsme významně nižší hodnoty FGF19, a naopak vyšší koncentrace cholestenu (C4) u všech DPVP oproti skupině HC. Přidání přípravku Omegaven statisticky významně snížilo koncentraci C4 pouze u režimu Smoflipid a u všech režimů byl zaznamenán mírný vzestupný trend FGF19, ale bez statistické významnosti.

Koncentrace celkových ŽK měly tendenci k vyšším hodnotám ve všech bazálních režimech oproti HC, nikoli však se statistickou významností. Grafické vyjádření je na [obrázku 5](#).

[Tabulka 7](#) pak shrnuje spektrum ŽK. Sérová koncentrace konjugované kyseliny glykocodeoxycholové byla významně nižší ve všech skupinách DPVP a nekonjugovaná kyselina lithocholová byla nižší pouze v režimech Smoflipid, Lipoplus, Clinoleic a Clinoleic + Omegaven ve srovnání s HC. V ostatních koncentracích ŽK nebyly zjištěny žádné rozdíly. U všech DPVP byl ve srovnání s HC shledán zvýšený poměr primárních a sekundárních ŽK. Zaznamenali jsme také významnou pozitivní korelaci mezi FGF19 a SOD1 vyskytující se pouze v základních režimech DPVP, která po přidání přípravku Omegaven vymizela. Dále aktivita ALP pozitivně korelovala s koncentrací C4 a také s poměrem primární/sekundární ŽK ([tabulka 8](#)).

Obrázek 5: Grafy FGF19, cholestenu a celkových žlučových kyselin v séru.



Režimy v horizontální ose: S, Smoflipid; SO, Smoflipid+Omegaven; L, Lipoplus; LO, Lipoplus+Omegaven; C, Clinoleic; CO, Clinoleic+Omegaven. HC, zdravé kontroly

Hodnoty pro FGF19, C4 a celkové ŽK jsou vyjádřeny jako medián a 75% percentil

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ pro srovnání DPVP a zdravých kontrol počítáno Kruskal-Wallis testem

+ $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$ pro srovnání +Omegaven a základního režimu počítáno Wilcoxon signed-rank testem

FGF19, fibroblastový růstový faktor 19; C4, cholesten, ŽK, žlučové kyseliny

Převzato a upraveno z (Sevela et al., 2024)

Tabulka 7: Spektrum žlučových kyselin

		Smoflipid		Lipoplus		ClinOleic		Kontroly
		základní	+Omegaven	základní	+Omegaven	základní	+Omegaven	
CA	($\mu\text{mol/l}$)	0,1 [0,1;0,17]	0,1 [0,1;0,2]	0,24 [0,1;0,8]	0,1 [0,1;0,48]	0,1 [0,1;0,89]	0,1 [0,1;0,19]	0,1 [0,1;0,19]
gCA	($\mu\text{mol/l}$)	0,714 [0,438;1,902]	0,743 [0,375;1,454]	0,877 [0,31;1,962]	0,877 [0,305;1,886]	0,777 [0,368;2,185]	0,768 [0,292;2,102]	0,343 [0,274;0,467]
CDCA	($\mu\text{mol/l}$)	0,1 [0,1;1,53]	0,21 [0,1;1,24]	0,45 [0,1;2,41]	0,11 [0,1;1,51]	0,49 [0,1;1,74]	0,18 [0,1;0,72]	0,13 [0,1;0,92]
gCDCA	($\mu\text{mol/l}$)	1,89 [0,53;2,06]	0,74 [0,39;1,74]	1,64 [1,14;2,26]	1,35 [0,65;2,25]	1,68 [0,95;1,99]	1,5 [1,22;1,72]	0,85 [0,68;1,6]
DCA	($\mu\text{mol/l}$)	0,1 [0,1;0,68]	0,13 [0,1;0,56] *	0,22 [0,1;1,07] *	0,1 [0,1;0,68]	0,24 [0,1;0,78] *	0,12 [0,1;0,36] *	0,1 [0,1;0,42]
gDCA	($\mu\text{mol/l}$)	0,1 [0,1;0,1]	0,1 [0,1;0,1]	0,1 [0,1;0,1]	0,1 [0,1;0,1]	0,1 [0,1;0,1]	0,1 [0,1;0,11]	0,39 [0,16;0,59]
LCA	($\mu\text{mol/l}$)	0,1 [0,1;0,1]	0,1 [0,1;0,1]	0,1 [0,1;0,1]	0,1 [0,1;0,1]	0,1 [0,1;0,1]	0,1 [0,1;0,1]	0,1 [0,1;0,1]
gLCA	($\mu\text{mol/l}$)	0,1 [0,1;0,1]	0,1 [0,1;0,1]	0,1 [0,1;0,1]	0,1 [0,1;0,1]	0,1 [0,1;0,1]	0,1 [0,1;0,1]	0,1 [0,1;0,1]
UDCA	($\mu\text{mol/l}$)	0,1 [0,1;0,1]	0,1 [0,1;0,1]	0,1 [0,1;0,1]	0,1 [0,1;0,1]	0,1 [0,1;0,1]	0,1 [0,1;0,13]	0,1 [0,1;0,28]
Σ primární ŽK	($\mu\text{mol/l}$)	3,96 [2,94;4,9]	2,4 [2,14;4,63]	4,42 [3,14;6,63]	3,65 [2,39;5,02]	4,18 [2,63;6,33]	3,8 [2,4;5]	1,48 [1,3;3,25]
Σ sekundární ŽK	($\mu\text{mol/l}$)	0,45 [0,17;0,94]	0,31 [0,17;0,94]	0,55 [0,17;1,44]	0,43 [0,17;0,97]	0,38 [0,17;0,92]	0,23 [0,17;0,85]	0,65 [0,44;1,17]
Poměr p/s ŽK		6,6 [2,9;30,6] *	6,6 [2,7;32] *	6,9 [2,7;31,4] *	9,2 [2,3;53,1] *	7,8 [3,2;47,7] *	9,1 [3;31,7] *	2,7 [1,5;4,8]
Poměr k/nk ŽK		13,6 [0,1;51,8]	7,4 [0,1;48,4]	5,9 [0,1;43,3]	12,4 [0,1;91,6]	2,5 [0,3;66]	7 [0,1;59]	5,4 [0,9;16,5]

Žlučové kyseliny jsou vyjádřeny jako medián [horní;dolní kvartil]

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ pro srovnání DPVP a zdravých kontrol.

+ $p < 0,05$; pro srovnání +Omegaven a základního režimu

CA, cholová kyselina, gCA, glykocholová kyselina; CDCA, chenodeoxycholová kyselina; gCDCA, glykochenodeoxycholová kyselina; DCA, deoxycholová kyselina; gDCA glykodeoxycholová kyselina; LCA, lithocholová kyselina; gLCA, glykolitocholová kyselina; UDCA, ursodeoxycholová kyselina; ŽK žlučové kyseliny; p/s, primární/sekundární; k/nk, konjugované/nekonjugované ŽK

Tabulka 8: Základní jaterní enzymy, celkový bilirubin a korelační koeficienty

		Smoflipid		Lipoplus		ClinOleic		Kontroly
		základní	+Omegaven	základní	+Omegaven	základní	+Omegaven	
ALT	($\mu\text{cat/l}$)	0,61 \pm 0,35	0,7 \pm 0,44	0,89 \pm 0,75	0,9 \pm 0,81	0,91 \pm 0,94	0,69 \pm 0,43	0,36 \pm 0,08
AST	($\mu\text{cat/l}$)	0,48 \pm 0,17	0,53 \pm 0,19	0,58 \pm 0,22	0,6 \pm 0,27	0,61 \pm 0,34	0,55 \pm 0,14	0,41 \pm 0,07
GGT	($\mu\text{cat/l}$)	0,6 \pm 0,54	0,65 \pm 0,54	0,73 \pm 0,57	0,74 \pm 0,44	0,82 \pm 0,72	0,83 \pm 0,48	0,31 \pm 0,19
ALP	($\mu\text{cat/l}$)	1,82 \pm 0,48 ^{*,+}	1,67 \pm 0,41 [*]	1,79 \pm 0,43 [*]	1,71 \pm 0,4 [*]	1,78 \pm 0,38 ^{**}	1,82 \pm 0,35 [*]	1,21 \pm 0,54
Celkový bilirubin	($\mu\text{mol/l}$)	13,3 \pm 9,8	15,6 \pm 13,2	17,9 \pm 20,4	18,3 \pm 17,7	19,4 \pm 24,2	16,6 \pm 14,3	10,4 \pm 4,5
FGF19 vs SOD1	#	0,82 p=0,001	0,38 p=0,228	0,7 p=0,011	0,47 p=0,88	0,76 p=0,004	0,39 p=0,21	0,2478 p=0,43
ALP vs C4	#	0,43 p=0,166	0,47 p=0,122	0,79 p=0,002	0,58 p=0,047	0,72 p=0,008	0,71 p=0,009	-0,08 p=0,81
ALP vs p/s ŽK	#	0,65 p=0,021	0,57 p=0,053	0,51 p=0,088	0,64 p=0,026	0,69 p=0,012	0,63 p=0,028	0,601 p=0,04

Bilirubin a jaterní enzymy jsou vyjádřeny jako průměr \pm směrodatná odchylka SD.

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$, pro srovnání DPVP a zdravých kontrol počítáno one-way ANOVA.

+ $p < 0,05$; pro srovnání +Omegaven a základního režimu, počítáno párovým t-testem

ALT, alanintransferáza; AST, aspartáttransferáza; GGT, γ -glutamyltransferáza; ALP, alkalická fosfatáza; FGF19, fibroblastový růstový faktor 19; SOD1, Cu/Zn-superoxid dismutáza C4, cholesten

p/s ŽK, primární/sekundární žlučové kyseliny;

Spearman korelační koeficienty; $p < 0,05$ jako signifikantní

VII. Diskuze

Cílem naší studie bylo zjistit, jaký vliv bude mít dlouhodobé podávání tří různých IVLE s následnou eskalací n-3 PUFA v podobě čistého rybiho oleje na imunitní a zánětlivou odpověď, antioxidační ochranu, a jaterní parametry. Primárně jsme však stanovili spektrum MK ve fosfolipidech plazmy a membránách erytrocytů, abychom monitorovali jejich zastoupení ovlivněné podáním jednotlivých IVLE.

1/ Spektrum mastných kyselin

Obecně, emulze s RO způsobily navýšení EPA a DHA a eskalace RO Omegavenem dále jejich podíl zvýšila s poklesem poměru n-6/n-3 PUFA. Emulze s OO zvýšila zejména podíl MUFA.

Profil MK v EFL je považován za marker stavu tkáňového profilu MK (Harris et al., 2004). Studie zkoumající inkorporaci n-3 PUFA do membrány erytrocytů během perorální suplementace ukázaly, že ekvilibrace MK v EFL trvá nejméně 1-2 měsíce. Intravenózní cesta suplementace je však účinnější z důvodu úplné biologické dostupnosti u zdravých dobrovolníků i v různých populacích pacientů, s dobou zabudování 3–5 dní a vymývání 2–3 týdny (Katan et al., 1997; Ling et al., 2001). S ohledem na to byly při plánování této studie považovány 6týdenní cykly podávání výchozích IVLE (Lipoplus a Clinoleic) za dostatečné. Nicméně výsledky průřezové studie Pironi a kol., v níž také sledovali zastoupení jednotlivých MK v EFL u DPVP v režimech Smoflipid a Clinoleic, byly plně v souladu s našimi výsledky pouze pro Smoflipid, ale nikoli pro Clinoleic, zejména co se týká podílů DHA a ARA (Pironi et al., 2017). Inkorporace MK po podání Omegavenu měla však významný klesající účinek na ARA a zvyšující se účinek na EPA v EFL u DPVP, které vedly k dalšímu poklesu poměru n-6/n-3, a tak potvrdily úspěšnou inkorporaci MK z Omegaven podávaného po všech základních režimech IVLE. Změny v profilu MK PFL byly podobné těm, které jsme popsali u EFL. To znamená, že byl významný pokles podílu ARA a vyšší podíl EPA a DHA v PFL u DPVP. Nicméně, musíme konstatovat, že režimy následující po Omegavenu byly stále ovlivněny vysokou dávkou RO. Týká se to zejména IVLE režimu s Clinoleic.

2/ Zánětlivá imunitní odpověď

Při srovnávání jednotlivých výchozích režimů IVLE jsme nezaznamenali žádné statisticky významné rozdíly v sérové koncentraci CRP, leukocytů a SAA ani mezi DPVP samotnými,

ani vůči HC. Nicméně byly patrné zvýšené hodnoty IL-6, TNF- α a zčásti také IL-8 (vyjma režimů s Clinoleic) u DPVP ve srovnání s HC.

Podobně několik studií srovnávalo DPVP po dlouhodobém podávání různých komerčně dostupných IVLE. Vahedi a kol. porovnávali Clinoleic vs Intralipid (lipidová emulze ze SojO), přičemž nepozorovali žádné rozdíly v koncentracích CRP (Vahedi et al., 2005). Podobně srovnání režimů Smoflipid vs Intralipid neprokázalo žádné rozdíly v sérových koncentracích CRP, IL-6 nebo TNF solubilního receptoru II v další studii (Klek et al., 2013). Náhrada původních IVLE Intralipid nebo Medialipid (50 % MCT a 50 % SojO) přípravkem Clinoleic u DPVP nezměnila zánětlivé parametry po jednom, ani po třech měsících podávání u DPVP ve starší studii (Reimund et al., 2005).

Na druhé straně, Osowska a kol. zkoumali účinek změny DPV z Intralipidu na Smoflipid nebo Clinoleic. Smoflipid neovlivnil sérové cytokiny, leč Clinoleic snižoval sérové koncentrace IL-8 (podobně jako v naší studii), ale také GGT (Osowska et al., 2019). V rámci srovnávání s naší studii je ovšem, že dávky IVLE ve studii Osowské byl relativně nízké, PEV obsahovala pouze 20 g lipidů, zatímco v našem souboru jsme podávali 50 g na dávku PEV. Ve studii Bohnert a kol. srovnávali 2 režimy IVLE, druhogenerační emulzi (MCT/SojO) s čtvrté generace (MCT/SojO/RO). Přesto, že byly po 8 týdnech výrazné změny ve spektru MK, neshledali rozdíly v CRP, ani zánětlivých cytokinech IL-6, TNF- α , či protizánětlivém IL-10 (Bohnert et al., 2018).

V naší studii vedlo přidání RO v podobě Omegavenu ke snížení LPS stimulované produkce IL-1 β , IL-6 a TNF- α během cyklu Smoflipid ve srovnání se základní emulzí. V souladu s tím, Omegaven snížil LPS-stimulovanou produkci IL-1 β v režimu Clinoleic. Nicméně přídavek Omegavenu již neměl žádný významný vliv na cyklus s Lipoplus. Je patrné, že koncentrace cytokinů již během základního režimu Lipoplus byly podobné koncentracím cytokinů v jiných režimech IVLE po přidání Omegavenu. Kromě toho byl Lipoplus + Omegaven jediným režimem, v němž nebyla žádná korelace mezi dávkou EPA+DHA v podávané IVLE a IL-6. Možným vysvětlením tohoto vztahu je plató efekt odpovědi na dávku, resp. že už v rámci cyklů a podávání RO již došlo k takovému nasycení n-3 PUFA, že se další vliv již neprojevil. Výsledky jiných studií *in vitro* stimulačních účinků LPS na leukocyty po suplementaci RO jsou spíše rozporuplné. U zdravých dobrovolníků bylo prokázáno, že krátkodobá parenterální suplementace čistého RO nemá žádný vliv na LPS-indukované produkce cytokinů ani ve srovnání se suplementací emulzí na bázi SojO. Neprokázali rovněž žádné rozdíly v TBARS, markerech oxidace a v aktivitách antioxidantních enzymů (Versleijen et al., 2012). Šlo zde o krátkodobé podávání IVLE, a byť s prokázaným efektem na složení PFL, srovnatelnost s

námi je tímto omezená. V další studii Guarini a kol prokázali zvýšení EPA a DHA v neutrofilech zdravých dobrovolníků suplementovaných perorálním RO, ale bez jakéhokoli vlivu na funkci neutrofilů, naopak SojO zvýšil tvorbu superoxidu (Guarini et al., 1998). Další výsledky Reese a kol. naznačují určitý protizánětlivý efekt RO, neboť u nich byla u zdravých dobrovolníků po perorální suplementaci RO, s prokázaným efektem na MK v PFL a fosfolipidech monocytů, zaznamenána snížená produkce prostaglandinu E2 indukovaná LPS (Rees et al., 2006). U studie na populaci septických pacientů, nálezy Mayera a kol prokázaly pokles LPS indukované produkce prozánětlivých cytokinů monocytů po parenterálním podání RO ve srovnání s infuzí SojO (Mayer et al., 2003). Na zvířecím modelu pak Yakah a kol. prokázali výrazné snížení LPS indukované produkce IL-1 β , ale ne dalších cytokinů u IVLE s RO (Yakah et al., 2021)

Existuje několik možných vysvětlení těchto nejednotností. Zásadní rozdíl zřejmě spočívá mezi akutním zánětlivým stavem po operaci či po traumatu a u pacientů se sepsí ve srovnání se stavy s nízkou mírou chronického zánětu, jako je u našich pacientů s chronickým intestinálním selháním, a také v odlišnosti od zdravých jedinců.

Další faktor může spočívat také ve velikosti podávané dávky RO a také na době podávání, eventuálně i cestě této suplementace. Tento pohled může podporovat srovnání několika studií, a to studie se suplementací 1400 mg EPA+DHA po dobu 18 týdnů, která nesnížila běžné markery systémového zánětu u zdravých dospělých, ani neovlivnila produkci IL-6 *in vitro* (Muldoon et al., 2016). Ferguson a kol podávali per os buď nízké (900 mg/d), nebo vysoké (3600 mg/d) dávky EPA+DHA po dobu 28 týdnů zdravým dobrovolníkům a prokázali, že v případě vysoké dávky byla signifikantně zmírněná horečka po LPS a byl zaznamenán trend ke snížení produkce zánětlivých mediátorů (J. F. Ferguson et al., 2014). V souladu s tímto prokázala další studie potlačení *in vitro* LPS indukované zánětlivé reakce monocytů odebraných skupině DPVP, kterým byla podávána velmi vysoká dávka Omegavenu. Naopak tato reakce byla zesílena přidáním SojO. V této studii byl Omegaven v dávce 1g/kg/d, 5x týdně po dobu 4 měsíců podáván 2 pacientům s IFALD, přičemž u nich zlepšil klinické parametry, markery fibrózy a snížil zánětlivé parametry včetně IL-1 β , IL-8, IL-6 a TNF- α až na úroveň zdravých kontrol. Tento účinek nicméně vymizel po ukončení podávání vysokých dávek RO a návratu k původním IVLE (Pastor-Clerigues et al., 2014). Další studie Kleka a kol. v retrospektivní analýze srovnávala podávání poměrně vysokých dávek RO kolem 0,4g/kg váhy u skupin pacientů s CIF, ale také se s nespecifickým střevním zánětem (IBD). Pozorovali snížení produkce IL-6 při intervenci RO, bohužel však detailnější parametry zánětu stanovovali jen u IBD skupiny, kterou sledovali 12 týdnů. V případě CIF sledovali

pouze základní CRP a jaterní parametry, přičemž zaznamenali jen nesignifikantní snížení bilirubin a CRP (Klek et al., 2020).

Z našich výsledků rovněž vyplývá, že DPVP vykazovali (a to bez ohledu na druhy IVLE) mírný chronický prozánětlivý stav, potvrzený vyššími koncentracemi cytokinů v séru a také *in vitro* LPS stimulovanou produkcí cytokinů, navzdory nižším hodnotám poměru n-6/n-3 PUFA ve srovnání s HC. S tímto zjištěním se shoduje řada dalších studií zabývajících se pacienty s CIF (Bizari et al., 2016; Hise et al., 2006; Kosek et al., 2020).

Rovněž ve studii Kleka a kol srovnávající 2 skupiny DPVP, které dostávaly buď emulzi se SojO (Intralipid), nebo Smoflipid po dobu 1 měsíce došli k tomuto závěru (Klek et al., 2013). V naší studii byla *in vitro* LPS stimulovaná produkce IL-1 β nižší v režimu Lipoplus ve srovnání s režimem Smoflipid, produkce IL-8 byla v režimu Lipoplus rovněž nižší ve srovnání s ostatními základními režimy, v souladu s nižšími poměry n-6/n-3 PUFA u DPVP. Další možné vysvětlení rozdílů může také spočívat v různých zdrojích RO v IVLE. Zatímco ve Smoflipidu je obsažen přírodní RO (Pharmacopoeia, 2014), Lipoplus obsahuje reesterifikovaný RO obohacený EPA+DHA (Pharmacopoeia, 2012). RO v Lipoplus by tedy mohl poskytnout více protizánětlivých mediátorů na jednotku objemu než Smoflipid. Dále je zde už zmíněná skutečnost určitého nasycení RO v režimech následujících po podání Smoflipidu + Omegaven. Dosud nebyl publikován žádný výzkum, který by porovnával účinky přirozené vs. reesterifikovaného RO v parenterální výživě v rámci lidské populace. Fell a kol. provedli studii na myším modelu, kde prokázali, že zatímco vysoká dávka parenterálně podávané přirozeného RO byla bezpečná, podávání vysokých dávek reesterifikovaného RO mělo škodlivé účinky na orgány (Fell et al., 2017).

Dalším vysvětlením rozdílného účinku Lipoplus, ve srovnání s jinými IVLE, je jeho vysoký obsah přímo metabolizovaného MCT oleje, složeného z 6- až 12uhlíkových MK. Ve vodě relativně lépe rozpustné MK se středně dlouhým řetězcem se přímo portálním řečištěm rychleji dostávají do jater, kde jsou snadněji oxidovány než MK s dlouhým řetězcem (Carlson et al., 2015; Mundi et al., 2017). Navíc MK se středně dlouhým řetězcem nejsou inkorporovány do membránových fosfolipidů, postrádají tedy biologické účinky. Skutečné poměry SFA+MUFA/PUFA v emulzích s MCT (Lipoplus a Smoflipid) dostupnými pro začlenění do EFL byly ve skutečnosti nižší, zejména pro Lipoplus (1,76 bez C6-C12 MK vs 2,79 při zahrnutí všech MK) a Smoflipid (2,34 oproti 2,97). Tento nálezn může být podpořen studií na zvířatech, která ukazuje, že přidání MCT do RO diety může snížit zánětlivou odpověď hostitele (Carlson et al., 2015).

Je však třeba poznamenat, že klinický význam snížené imunitní reaktivity je zcela neznámý. Může být jak prospěšný, ale i potenciálně škodlivý. Není dostatečně znám ani vliv oslabení normální imunitní reakce na chronický zánět nebo sepsi. Suplementace může být užitečná pro pacienty s vystupňovanou zánětlivou odpovědí, ale škodlivá pro pacienty s imunopresivním a hypoinflamatorním stavem.

3/ Antioxidační systém

Vliv suplementace n-3 PUFA na redoxní stav u DPVP je kontroverzní problematika (Heshmati et al., 2019). Většina studií potvrzuje, že n-3 PUFA díky velkému počtu dvojných vazeb zvyšují OS, což zároveň stimuluje expresi transkripčních faktorů navyšující kapacitu antioxidačních systémů (Zaloga, 2021). Velký vliv v tomto má i parenterální podávání tukové emulze, která je k lipoperoxidaci náchylná. Zvýšený OS je jedním z hlavních mechanismů přispívajících k patogenezi několika chronických onemocnění spojených se zánětem nízkého stupně a podílí se rovněž mimo jiné na poškození jater (Heshmati et al., 2019; Koek et al., 2011), přičemž nízký zánět byl pozorován také u našich DPVP. Tento předpoklad podporuje naše zjištění signifikantně vyšší aktivity SOD1 erytrocytů a koncentrace oxLDL v plazmě ve všech bazálních režimech DPV při srovnání s HC. Zvýšení intracelulární exprese SOD1 je zřejmě účinným prostředkem ke zmírnění poškození buněk během zvýšeného OS (Vogt et al., 1998).

Ve studii (Kosek et al., 2020) byl potvrzen zvýšený OS u DPVP, a to jak při podávání IVLE s obsahem RO, tak v režimu Clinoleic + RO, vyjádřený vyššími koncentracemi malondialdehydu (MDA), proteinových karbonylů a sníženým redoxním statutem (GSH/GSSG). Pozorovali rovněž pozitivní korelaci MDA s n-3 PUFA. Hodnoty SOD1 a GPx-1 se však nelišily. V naší studii jsme nicméně jasné zvýšení OS při eskalaci dávky RO neprokázali, byť jasnější porovnání je v tomto omezeno absencí srovnatelných markerů oxidačního stresu či redoxního statusu. Jako nepřímý ukazatel OS máme k dispozici zvýšené hodnoty oxLDL ve všech IVLE režimech, pouze v režimu Lipoplus + Omegaven jsme zaznamenali určitý pokles. Pokud jde o Omegaven, ten naopak snížil aktivitu SOD1 po všech třech režimech téměř na úroveň HC.

Částečné vysvětlení rozporů se srovnávanou studií Kosek a spol. může spočívat v již diskutované skutečnosti, že 6týdenní vymývací období pro Omegaven před následnou bazální emulzí bylo příliš krátké, a tak v režimu Clinoleic zůstal membrány pacientů se zvýšeným obsahem n-3 PUFA, jak dokazuje složení MK jak v EPL, tak v PFL.

Antioxidační kapacita u DPVP byla rovněž zkoumána skupinou Rogulska a kol., kteří konstatovali její snížení vůči zdravým kontrolám. Srovnání různých IVLE (Smoflipid, Intralipid a Clinoleic) ukázalo nejmenší hodnoty MDA v případě podávaného Smoflipidu. Případné komorbidity pacientů hodnoty MDA významně navýšily (Rogulska et al., 2021). Ve studii zaměřené na OS u pacientů s 2. typem IF bylo popsáno snížení MDA u pacientů, kteří dostávali IVLE obohacenou RO (Flores-López et al., 2023). Srovnatelnost ovšem omezuje kratší doba podávání 7 dní a subakutní typ IF.

Vliv suplementace n-3 PUFA na aktivitu SOD1 v séru byl studován v 10 studiích. A byť šlo vesměs o perorální aplikaci, metaanalýza těchto studií neprokázala žádný významný rozdíl v aktivitě SOD1 v séru mezi skupinami suplementovanými n-3 PUFA ve srovnání se skupinami, kterým bylo podáváno placebo, a to bez ohledu na délku podávání nebo dávku n-3 PUFA (200–2500 mg EPA+ DHA). Rovněž další metaanalýza 25 obdobných studií konstatovala snížení MDA při podávání n-3 PUFA (Heshmati et al., 2019). Srovnatelnost je samozřejmě omezená, neboť nešlo o aplikaci IVLE.

Můžeme nicméně konstatovat, že v naší studii jsme podávali mnohem vyšší dávky RO přidáním Omegavenu (odpovídající průměrně 90 mg/kg tělesné hmotnosti a den u Clinoleic + Omegaven, až 120 mg/kg těl.váhy a den u Lipoplus + Omegaven, v přepočtu na absolutní hodnoty 6300–8400 mg EPA+DHA v režimech s Omegaven). V tomto směru není zatím známa žádná srovnatelná intervence u lidských subjektů.

V rámci zvířecích modelů, Miloudi a kol. měřili jaterní markery OS u novorozených morčat, kterým byla po dobu 4 dnů podávána tuková emulze buď SojO (Intralipid 20%), nebo čistý Omegaven v poměrně vysoké dávce. Prokázali, že Omegaven u nich snížil OS vyjádřený markery lipoperoxidace a také poškození jater (Miloudi et al., 2012).

Při uvažování a posuzování antioxidační rovnováhy a IVLE je třeba vzít úvahu i antioxidační účinek α -tokoferolu, který byl pacientům podáván společně s vysokou dávkou rybího tuku. Existují studie, které potvrzují ochranný účinek tohoto vitamínu proti peroxidaci PUFA, ale obecně jsou výsledky značně kontroverzní; existují rovněž studie prokazující jeho prooxidační účinek (Traber & Head, 2021; Zaloga, 2021). Přímé sérové koncentrace jsme sice neměřili, nicméně z obsahu α -tokoferolu v podávaných IVLE je patrné, že jeho dávky byly rovněž navýšené v režimech s RO, leč stále bezpečné z hlediska možné toxicity. Toxické jsou v řádech stovek mg (Traber & Head, 2021), přičemž pacienti dostávali desítky mg.

Je rovněž zajímavé, že nedávno byl popsán vztah mezi FGF19 a OS několika možnými mechanismy zahrnující mj. modulaci reakce na OS aktivací antioxidačních drah (Shimizu & Sato, 2022). Toto může být v souladu s naším zjištěním úzké korelace mezi koncentrací

FGF19 a aktivitou SOD1 ve všech bazálních emulzích, které mizí po podání Omegavenu, u kterého se normalizovalo SOD1 téměř na hodnoty HC.

Naše výsledky ukazují, že další suplementace n-3 PUFA pomocí Omegavenu neměla žádný účinek na hodnoty oxLDL což naznačuje, že nedochází k žádné další eskalaci OS. Tento výsledek by mohl naznačovat, že antioxidační systém byl dostatečně stimulován, aby zvládl další n-3 PUFA podáním Omegavenu, což také může ukazovat normalizovaná aktivita SOD1. Je rovněž zajímavé, že hodnoty dalších antioxidačních enzymů se při střídání IVLE neměnily. V režimu Lipoplus + Omegaven byl zaznamenán mírný, leč signifikantní pokles glutathion reductázy.

PON1 je protein spojený s HDL, jehož úlohou je chránit částice LDL před oxidačními modifikacemi tím, že snižuje tvorbu prozánětlivých oxidovaných fosfolipidů (Vakili et al., 2014). Pokud jde o naše DPVP, vykazující zánětlivý stav nízkého stupně, aktivita i koncentrace PON1 byly ve srovnání s HC sníženy (aktivita signifikantně). Snížení aktivity PON1 je rovněž popisováno u zánětlivého onemocnění střev, odrážející aktivitu a závažnost zánětu (Boehm et al., 2009).

Existují také důkazy, že množství a složení lipidů v potravě jsou klíčovými faktory při modulaci PON1. Zapojené molekulární mechanismy zahrnují účinek na jaterní syntézu nebo sekreci PON1 či modifikaci interakcí PON1 s HDL. Změny aktivity PON1 by také mohly souviset s příjmem oxidovaných lipidů, které se chovají jako inhibitory PON1 (Ferretti & Bacchetti, 2012). Fuhrman a kol. hodnotili oxidaci séra u myši suplementovaných různými MK nebo oleji. DHA (purifikovaná mastná kyselina) a RO (typ nespecifikovaný) zvýšily oxidaci séra a snížily aktivitu PON1 ve srovnání s kyselinou olejovou, OO, kyselinou linolovou a SojO (Fuhrman et al., 2006). Účinek byl potvrzen i u lidí další studií Freese a kol., kteří ale neprokázali signifikantní změny v markerech lipoperoxidace (Freese et al., 2002).

4/ Markery stavu jaterní tkáně

S ohledem na důležitou roli ŽK nejen ve střevním, ale i jaterním metabolismu a také rozvoji IFALD jsme se rozhodli prozkoumat jejich změny u pacientů s CIF a případný vliv n-3 PUFA. Až na mírně vyšší hodnoty DCA a trendy k vyšším gCA a gCDCA jsme nezjistili významné rozdíly v hodnotách celkových ŽK v séru ani rozdíly vzhledem k HC. Poměr primárních a sekundárních ŽK byl nicméně vyšší u všech DPVP ve srovnání s HC vlivem vyšších primárních a mírně nižších sekundárních ŽK u DPVP. Na druhé straně rozdíly

pozorované u FGF19 a C4 mezi DPVP a HC ukazují změnu metabolismu ŽK ve smyslu zvýšené syntézy ŽK pro pokrytí střevních ztrát, při zachování celkového poolu ŽK. Celkově jsou naše zjištění v souladu s dříve publikovanou studií zaměřenou na spektrum ŽK u syndromu krátkého střeva, kde byl zjevný vzestup poměru primární/sekundární ŽK, nepozorovali ani zvýšení celkových ŽK v séru (Boutte et al., 2022). Další studie Budínské a kol. zkoumající vztah mikrobiomu u DPVP a metabolismu ŽK popsala také významné změny, mj. rovněž vyšší primární ŽK a pokles až absenci LCA (Budinska et al., 2020). Nicméně v naší studii jsme vzhledem k heterogenitě kohorty DPVP, komplexnosti metabolomu ŽK a relativně nízkému počtu pacientů pozorovali zásadní změny v rámci suplementace RO.

Problematicke IFALD a jeho vztahu nejen k IVLE se věnuje řada prací založených na kazuistických sděleních, společně konstatujících zlepšení známek jaterního poškození při podávání emulzí s RO (Hurt & Mundi, 2017), ale také změnou IVLE ze SojO na směsnou emulzi Smoflipid, která navíc umožnila zvýšit dávku lipidů (Mundi et al., 2018). Příznivé ovlivnění jaterních markerů ALT, AST a bilirubinu zaznamenali také při podávání Smoflipidu ve srovnání se SojO IVLE ve studii Kleka a kol. již zmíněné v souvislosti s cytokiny (Klek et al., 2013). V této studii navíc shledali signifikantní zvýšení sérového α -tokoferolu u skupiny Smoflipidu.

Zajímavá je dále studie na animálním modelu Chen a kol., kteří podávali 2 týdny buď RO IVLE, nebo MCT/LCT (II. generace IVLE), přičemž shledali, že emulze s RO snížila zánětlivou odpověď (vyjádřenou mj. snížením TNF- α , IL-1 β), zlepšila oxidaci MK a snížila rovněž známky OS (zejm. snížení MDA). Navíc prokázali v RO skupině změnu mikrobioty ve prospěch eubacterií a bifidobacterií a zřejmě s tím související změny spektra ŽK (Chen et al., 2022). V tomto směru se ukazuje další možný potenciál a mechanismus působení zvýšené substituce n-3 PUFA.

Další animální studie Bechyňské a kol. zkoumala vliv n-3, n-6 PUFA podávaných v IVLE a enterálně. U IVLE pak došli k závěrům, že podávání n-3 PUFA má ochranné účinky svým pozitivním vlivem na antioxidační kapacitu ve srovnání s n-6 PUFA, které bylo spojeno s jejím snížením. Také bylo konstatováno normální spektrum ŽK při podávání RO IVLE. (Bechynska et al., 2019).

Všechny režimy DPVP byly spojeny s vyššími aktivitami ALP ve srovnání s HC, byť ty se stále nacházely v rozmezí stanovených fyziologických hodnot. Účinek přidaného Omegavenu byl pozorován pouze v režimu Smoflipid, kde došlo ke snížení aktivity ALP. Enzym ALP se tradičně používá jako marker cholestázy a také jako zástupný marker retence ŽK (Poupon,

2015). ŽK jsou také hlavními determinanty ovlivňující jaterní aktivity a sekrece ALP. Avšak je známo, že LPS také indukuje aktivitu ALP, což může hrát roli v protizánětlivé odpovědi (Pike et al., 2013; Tuin et al., 2006). V naší studii jsme dále našli pozitivní korelaci hodnot ALP s poměrem primárních a sekundárních ŽK spolu s trendem k negativní korelaci se sekundárními ŽK. Dále zde byla pozitivní korelace mezi hodnotami ALP a C4. Tyto výsledky patrně naznačují souvislost mezi možným zánětem nízkého stupně, vycházející ze střevní sliznice a zvýšeným průnikem LPS do portálního oběhu a jater, a narušením metabolismu a enterohepatálního cyklu ŽK u DPVP.

Zkřížený design a dlouhodobě stabilní klinické nastavení nám umožnily kontrolovat genetické rozdíly a do značné míry i další nutriční vlivy. PEV poskytovaná pacientům během celé studie byla izokalorická a jediné změny spočívaly právě v poskytnutých IVLE. Zahrnutí párovaných zdravých kontrol nám dovolilo lepší porovnání a interpretaci nálezů.

Navíc je studie přínosná a specifická především v množství n-3 mastných PUFA podaných v IVLE pacientům a také dlouhé době podávání.

Na druhé straně, relativně malý počet pacientů představuje jedno z omezení této studie. Také určitá heterogenita v etiologii intestinálního selhání pacientů znamenala možné ovlivnění výsledků a ztížení interpretace zejména v metabolismu žlučových kyselin.

Za nedostatek také považujeme absenci více parametrů oxidačního stresu, resp. oxidačních produktů lipoperoxidace, která ztížila interpretaci výsledků SOD1. Z dalších parametrů, které mohly být změřeny, uvažujeme např. hladiny vitamínu E, který má k lipoperoxidaci také úzký vztah. Další rezervou je nestanovení některých protizánětlivých cytokinů, jako IL-10.

Možností by také bylo zapojení dalších metod k posouzení stavu jaterního parenchymu a funkce, např. ultrazvukové a elastografické vyšetření. Metodickým problémem je také již diskutovaná doba podávání lipidových emulzí, která se projevila nedostatečnou, s ohledem na pravděpodobné ovlivnění následujících režimů základní IVLE předchozím podáváním Omegavenu.

VIII. Závěr

Intravenózní lipidové emulze jsou základní složkou DPV u pacientů s CIF. Tento stav je mimo jiné charakterizovaný mírným zánětem, poruchou oxidační rovnováhy a jaterním poškozením.

V této studii jsme zkoumali ovlivnění některých parametrů související s těmito stavy podáváním tří různých komerčně vyráběných IVLE a následným navýšením suplementace n-3 PUFA emulzí rybího oleje.

Hlavní výsledky:

- Prokázali jsme úspěšnou inkorporaci n-3 PUFA, zejm. EPA a DHA do erytrocytárních a plazmatických fosfolipidů.
- Shledali jsme signifikantní nárůsty EPA a DHA vůči ARA s poklesem poměru n-6/n-3 PUFA. Významným zjištěním je také delší snížení poměru n-6/n-3 PUFA po eskalované dávce RO.
- Výsledky dále nasvědčují, že dlouhodobé podávání IVLE doplněné o RO má vliv na nižší *in vitro* reaktivitu leukocytů, vyjádřenou sníženou produkcí cytokinů stimulovanou LPS. Produkce IL-6 stimulovaná LPS také v našem souboru negativně korelovala s množstvím EPA+DHA v PEV, ale také s jejich podílem v EFL, což naznačuje jejich možný protizánětlivý účinek. Hypotéza, že suplementace RO by mohla snížit produkci prozánětlivých cytokinů, byla výsledky studie podpořena.
- Konstatujeme, že DPVP ve srovnání s HC vykazovaly mírný chronický prozánětlivý stav, jak je ukázáno zvýšenými koncentracemi cytokinů v séru a jejich *in vitro* LPS stimulovanou produkcí, a to navzdory nižším hodnotám poměru n-6/n-3 PUFA vůči zdravým kontrolám.
- Všechny základní režimy DPV jsou spojeny se zvýšenými aktivitami SOD1 související zřejmě se zvýšeným OS a diskutovaným zánětem. Intervence přidáním RO významně snížila hodnoty SOD1 na úroveň HC, na čemž se mohlo podílet snížení OS. Nicméně vzhledem k absenci dalších parametrů oxidačního stresu je obtížné se k tomuto s jistotou vyjádřit.
- Klinický význam tohoto zjištění není zatím jasný a jsou zapotřebí další studie k objasnění vlivu přidané RO na antioxidační stav u DPV.
- Zaznamenali jsme narušení metabolismu žlučových kyselin především ve smyslu jejich zvýšené syntézy, snížení FGF19 a mírného zvýšení ALP u DPVP. Ovlivnění

jejich metabolismu jednotlivým podávanými IVLE ani při eskalaci dávky RO jsme však neprokázali.

V budoucnu bude jistě vhodné na tuto studii navázat s větším důrazem na odstranění jejich nedostatků. Rovněž k lepší definici dávkování RO a načasování jeho podávání během zánětlivého procesu jsou zapotřebí další studie. Je také potřebné porovnat klinické účinky přirozené RO a reesterifikované RO u různých populací pacientů.

IX. Literatura

- Abeyrathne, E., Nam, K., & Ahn, D. U. (2021). Analytical Methods for Lipid Oxidation and Antioxidant Capacity in Food Systems. *Antioxidants (Basel)*, 10(10). <https://doi.org/10.3390/antiox10101587>
- Anez-Bustillos, L., Dao, D. T., Baker, M. A., Fell, G. L., Puder, M., & Gura, K. M. (2016). Intravenous Fat Emulsion Formulations for the Adult and Pediatric Patient: Understanding the Differences. *Nutr Clin Pract*, 31(5), 596-609. <https://doi.org/10.1177/0884533616662996>
- Anez-Bustillos, L., Dao, D. T., Fell, G. L., Baker, M. A., Gura, K. M., Bistrrian, B. R., & Puder, M. (2018). Redefining essential fatty acids in the era of novel intravenous lipid emulsions. *Clin Nutr*, 37(3), 784-789. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2017.07.004>
- Arterburn, L. M., Hall, E. B., & Oken, H. (2006). Distribution, interconversion, and dose response of n-3 fatty acids in humans. *Am J Clin Nutr*, 83(6 Suppl), 1467s-1476s. <https://doi.org/10.1093/ajcn/83.6.1467S>
- Ayala, A., Muñoz, M. F., & Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev*, 2014, 360438. <https://doi.org/10.1155/2014/360438>
- Ayee, M. A. A., Bunker, B. C., & De Groot, J. L. (2020). Membrane modulatory effects of omega-3 fatty acids: Analysis of molecular level interactions. *Curr Top Membr*, 86, 57-81. <https://doi.org/10.1016/bs.ctm.2020.08.001>
- Beath, S. V., & Kelly, D. A. (2016). Total Parenteral Nutrition-Induced Cholestasis: Prevention and Management. *Clin Liver Dis*, 20(1), 159-176. <https://doi.org/10.1016/j.cld.2015.08.009>
- Bechynska, K., Daskova, N., Vrzackova, N., Harant, K., Heczková, M., Podzimkova, K., Bratova, M., Dankova, H., Berkova, Z., Kosek, V., Zelenka, J., Hajslova, J., Sedlacek, R., Suttner, J., Hlavackova, A., Bartonova, L., & Cahova, M. (2019). The effect of ω -3 polyunsaturated fatty acids on the liver lipidome, proteome and bile acid profile: parenteral versus enteral administration. *Sci Rep*, 9(1), 19097. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54225-8>
- Belza, C., Courtney-Martin, G., Wong-Sterling, S., Garofalo, E., Silva, C., Yanchis, D., Avitzur, Y., & Wales, P. W. (2023). Composite lipid emulsion use and essential fatty acid deficiency in pediatric patients with intestinal failure with high parenteral nutrition dependence: A retrospective cohort study. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 47(7), 930-937. <https://doi.org/10.1002/jpen.2544>
- Bering, J., & DiBaise, J. K. (2023). Short bowel syndrome: Complications and management. *Nutr Clin Pract*, 38 Suppl 1, S46-s58. <https://doi.org/10.1002/ncp.10978>
- Bizari, L., da Silva Santos, A. F., Foss, N. T., Marchini, J. S., & Suen, V. M. (2016). Parenteral nutrition in short bowel syndrome patients, regardless of its duration, increases serum proinflammatory cytokines. *Nutr Res*, 36(7), 751-755. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2016.01.012>
- Boehm, D., Krzystek-Korpacka, M., Neubauer, K., Matusiewicz, M., Berdowska, I., Zielinski, B., Paradowski, L., & Gamian, A. (2009). Paraoxonase-1 status in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*, 15(1), 93-99. <https://doi.org/10.1002/ibd.20582>
- Bohnert, H., Maurer, M., Calder, P. C., Pratschke, J., Thul, P., & Müller, V. (2018). Efficacy of a long-term home parenteral nutrition regimen containing fish oil-derived n-3 polyunsaturated fatty acids: a single-centre, randomized, double blind study. *Nutr J*, 17(1), 113. <https://doi.org/10.1186/s12937-018-0419-x>

- Bond, A., Huijbers, A., Pironi, L., Schneider, S. M., Wanten, G., & Lal, S. (2019). Review article: diagnosis and management of intestinal failure-associated liver disease in adults. *Aliment Pharmacol Ther*, *50*(6), 640-653. <https://doi.org/10.1111/apt.15432>
- Boutte, H. J., Jr., Chen, J., Wylie, T. N., Wylie, K. M., Xie, Y., Geisman, M., Prabu, A., Gazit, V., Tarr, P. I., Levin, M. S., Warner, B. W., Davidson, N. O., & Rubin, D. C. (2022). Fecal microbiome and bile acid metabolome in adult short bowel syndrome. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, *322*(1), G154-G168. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00091.2021>
- Bozelli, J. C., Jr., Azher, S., & Eband, R. M. (2021). Plasmalogens and Chronic Inflammatory Diseases. *Front Physiol*, *12*, 730829. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.730829>
- Budinska, E., Gojda, J., Heczkova, M., Bratova, M., Dankova, H., Wohl, P., Bastova, H., Lanska, V., Kostovcik, M., Dastych, M., Senkyrik, M., Krizova, J., Mraz, M., Hradecky, J., Hajslova, J., Lenicek, M., Podzimkova, K., Chalupsky, K., Sedlacek, R., & Cahova, M. (2020). Microbiome and Metabolome Profiles Associated With Different Types of Short Bowel Syndrome: Implications for Treatment. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, *44*(1), 105-118. <https://doi.org/10.1002/jpen.1595>
- Buchman, A. L., Naini, B. V., & Spilker, B. (2017). The Differentiation of Intestinal-Failure-Associated Liver Disease from Nonalcoholic Fatty Liver and Nonalcoholic Steatohepatitis. *Semin Liver Dis*, *37*(1), 33-44. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1597771>
- Cahova, M., Bratova, M., & Wohl, P. (2017). Parenteral Nutrition-Associated Liver Disease: The Role of the Gut Microbiota. *Nutrients*, *9*(9). <https://doi.org/10.3390/nu9090987>
- Cai, W., Calder, P. C., Cury-Boaventura, M. F., De Waele, E., Jakubowski, J., & Zaloga, G. (2018). Biological and Clinical Aspects of an Olive Oil-Based Lipid Emulsion-A Review. *Nutrients*, *10*(6). <https://doi.org/10.3390/nu10060776>
- Calder, P. C. (2019). Intravenous Lipid Emulsions to Deliver Bioactive Omega-3 Fatty Acids for Improved Patient Outcomes. *Mar Drugs*, *17*(5). <https://doi.org/10.3390/md17050274>
- Calder, P. C. (2020). Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid derived specialised pro-resolving mediators: Concentrations in humans and the effects of age, sex, disease and increased omega-3 fatty acid intake. *Biochimie*, *178*, 105-123. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biochi.2020.08.015>
- Calder, P. C. (2020). n-3 PUFA and inflammation: from membrane to nucleus and from bench to bedside. *Proc Nutr Soc*, 1-13. <https://doi.org/10.1017/s0029665120007077>
- Calder, P. C., Waitzberg, D. L., Klek, S., & Martindale, R. G. (2020). Lipids in Parenteral Nutrition: Biological Aspects. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, *44* Suppl 1, S21-s27. <https://doi.org/10.1002/jpen.1756>
- Carlson, S. J., Nandivada, P., Chang, M. I., Mitchell, P. D., O'Loughlin, A., Cowan, E., Gura, K. M., Nose, V., Bistrrian, B. R., & Puder, M. (2015). The addition of medium-chain triglycerides to a purified fish oil-based diet alters inflammatory profiles in mice. *Metabolism*, *64*(2), 274-282. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2014.10.005>
- Cuerda, C., Pironi, L., Arends, J., Bozzetti, F., Gillanders, L., Jeppesen, P. B., Joly, F., Kelly, D., Lal, S., Staun, M., Szczepanek, K., Van Gossum, A., Wanten, G., Schneider, S. M., & Bischoff, S. C. (2021). ESPEN practical guideline: Clinical nutrition in chronic intestinal failure. *Clin Nutr*, *40*(9), 5196-5220. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2021.07.002>
- Dai, Y. J., Sun, L. L., Li, M. Y., Ding, C. L., Su, Y. C., Sun, L. J., Xue, S. H., Yan, F., Zhao, C. H., & Wang, W. (2016). Comparison of Formulas Based on Lipid Emulsions of Olive Oil, Soybean Oil, or Several Oils for Parenteral Nutrition: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Adv Nutr*, *7*(2), 279-286. <https://doi.org/10.3945/an.114.007427>

- de Almeida, A., de Oliveira, J., da Silva Pontes, L. V., de Souza Júnior, J. F., Gonçalves, T. A. F., Dantas, S. H., de Almeida Feitosa, M. S., Silva, A. O., & de Medeiros, I. A. (2022). ROS: Basic Concepts, Sources, Cellular Signaling, and its Implications in Aging Pathways. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 1225578. <https://doi.org/10.1155/2022/1225578>
- Demirci-Çekiç, S., Özkan, G., Avan, A. N., Uzunboy, S., Çapanoğlu, E., & Apak, R. (2022). Biomarkers of Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *J Pharm Biomed Anal*, 209, 114477. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2021.114477>
- Di Ciaula, A., Garruti, G., Lunardi Baccetto, R., Molina-Molina, E., Bonfrate, L., Wang, D. Q., & Portincasa, P. (2017). Bile Acid Physiology. *Ann Hepatol*, 16 Suppl 1, S4-S14. <https://doi.org/10.5604/01.3001.0010.5493>
- Diamond, I. R., de Silva, N. T., Tomlinson, G. A., Pencharz, P. B., Feldman, B. M., Moore, A. M., Ling, S. C., & Wales, P. W. (2011). The role of parenteral lipids in the development of advanced intestinal failure-associated liver disease in infants: a multiple-variable analysis. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 35(5), 596-602. <https://doi.org/10.1177/0148607111413598>
- Dinareello, C. A. (2013). Overview of the interleukin-1 family of ligands and receptors. *Semin Immunol*, 25(6), 389-393. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2013.10.001>
- Djuricic, I., & Calder, P. C. (2021). Beneficial Outcomes of Omega-6 and Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids on Human Health: An Update for 2021. *Nutrients*, 13(7). <https://doi.org/10.3390/nu13072421>
- Driscoll, D. F. (2017). Pharmaceutical and Clinical Aspects of Lipid Injectable Emulsions. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 41(1), 125-134. <https://doi.org/10.1177/0148607116673187>
- Driscoll, D. F. (2023). Proinflammatory mediators in lipid emulsions and parenteral nutrition-associated liver disease: Review of leading factors. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 47(6), 710-717. <https://doi.org/10.1002/jpen.2507>
- Dupont, H. L., Jiang, Z. D., Dupont, A. W., & Utay, N. S. (2020). The intestinal microbiome in human health and disease. *Trans Am Clin Climatol Assoc*, 131, 178-197.
- Fell, G. L., Cho, B. S., Pan, A., Nose, V., Anez-Bustillos, L., Dao, D. T., Baker, M. A., Nandivada, P., Gura, K. M., & Puder, M. (2017). A Comparison of Fish Oil Sources for Parenteral Lipid Emulsions in a Murine Model. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 41(2), 181-187. <https://doi.org/10.1177/0148607116640275>
- Ferguson, J. F., Mulvey, C. K., Patel, P. N., Shah, R. Y., Doveikis, J., Zhang, W., Tabita-Martinez, J., Terembula, K., Eiden, M., Koulman, A., Griffin, J. L., Mehta, N. N., Shah, R., Propert, K. J., Song, W. L., & Reilly, M. P. (2014). Omega-3 PUFA supplementation and the response to evoked endotoxemia in healthy volunteers. *Mol Nutr Food Res*, 58(3), 601-613. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201300368>
- Ferguson, T. I., Emery, S., Price-Davies, R., & Cosslett, A. G. (2014). A review of stability issues associated with vitamins in parenteral nutrition. *e-SPEN Journal*, 9(2), e49-e53. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.clnme.2014.01.001>
- Ferretti, G., & Bacchetti, T. (2012). Effect of dietary lipids on paraoxonase-1 activity and gene expression. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 22(2), 88-94. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2011.08.011>
- Flores-López, A., Guevara-Cruz, M., Avila-Nava, A., González-Garay, A. G., González-Salazar, L. E., Reyes-Ramírez, A. L., Pedraza-Chaverri, J., Medina-Campos, O. N., Medina-Vera, I., Reyes-García, J. G., Tovar, A. R., & Serralde-Zúñiga, A. E. (2023). n-3 Polyunsaturated Fatty Acid Supplementation Affects Oxidative Stress Marker Levels in Patients with Type II Intestinal Failure: A Randomized Double Blind Trial. *Antioxidants*, 12(8), 1493. <https://www.mdpi.com/2076-3921/12/8/1493>

- Folch, J., Lees, M., & Sloane Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem*, 226(1), 497-509.
- Freese, R., Alfthan, G., Jauhiainen, M., Basu, S., Erlund, I., Salminen, I., Aro, A., & Mutanen, M. (2002). High intakes of vegetables, berries, and apples combined with a high intake of linoleic or oleic acid only slightly affect markers of lipid peroxidation and lipoprotein metabolism in healthy subjects. *Am J Clin Nutr*, 76(5), 950-960. <https://doi.org/10.1093/ajcn/76.5.950>
- Fruhauf, P. (2017). Střevní mikrobiota a možnosti ovlivnění. *Pediatric pro praxi*, 18(4), 239-242.
- Fuhrman, B., Volkova, N., & Aviram, M. (2006). Postprandial serum triacylglycerols and oxidative stress in mice after consumption of fish oil, soy oil or olive oil: possible role for paraoxonase-1 triacylglycerol lipase-like activity. *Nutrition*, 22(9), 922-930. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2006.04.012>
- Gaschler, M. M., & Stockwell, B. R. (2017). Lipid peroxidation in cell death. *Biochem Biophys Res Commun*, 482(3), 419-425. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.10.086>
- Gershwin, M. E. (2020). *Liver immunology : principles and practice* (Third edition. ed.). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-51709-0>
- Ghanbari, M., Momen Maragheh, S., Aghazadeh, A., Mehrjuyan, S. R., Hussen, B. M., Abdoli Shadbad, M., Dastmalchi, N., & Safaralizadeh, R. (2021). Interleukin-1 in obesity-related low-grade inflammation: From molecular mechanisms to therapeutic strategies. *Int Immunopharmacol*, 96, 107765. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.107765>
- González-Becerra, K., Ramos-Lopez, O., Barrón-Cabrera, E., Riezu-Boj, J. I., Milagro, F. I., Martínez-López, E., & Martínez, J. A. (2019). Fatty acids, epigenetic mechanisms and chronic diseases: a systematic review. *Lipids Health Dis*, 18(1), 178. <https://doi.org/10.1186/s12944-019-1120-6>
- Goulet, O. (2024). An Overview of Parenteral Nutrition from Birth to Adolescence Based on a Composite Fish Oil Containing Lipid Emulsion and a Pediatric Amino Acid Solution. *Nutrients*, 16(3). <https://doi.org/10.3390/nu16030440>
- Grand, A., Jalabert, A., Mercier, G., Florent, M., Hansel-Esteller, S., Cambonie, G., Steghens, J. P., & Picaud, J. C. (2011). Influence of vitamins, trace elements, and iron on lipid peroxidation reactions in all-in-one admixtures for neonatal parenteral nutrition. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 35(4), 505-510. <https://doi.org/10.1177/0148607110381768>
- Guarini, P., Bellavite, P., Biasi, D., Carletto, A., Galvani, S., Caramaschi, P., Bambara, L. M., & Corrocher, R. (1998). Effects of dietary fish oil and soy phosphatidylcholine on neutrophil fatty acid composition, superoxide release, and adhesion. *Inflammation*, 22(4), 381-391. <https://doi.org/10.1023/a:1022368832035>
- Guo, G., Yang, W., Sun, C., & Wang, X. (2023). Dissecting the potential role of ferroptosis in liver diseases: an updated review. *Free Radic Res*, 57(4), 282-293. <https://doi.org/10.1080/10715762.2023.2232941>
- Guzior, D. V., & Quinn, R. A. (2021). Review: microbial transformations of human bile acids. *Microbiome*, 9(1), 140. <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01101-1>
- Hardy, G., & Puzovic, M. (2009). Formulation, stability, and administration of parenteral nutrition with new lipid emulsions. *Nutr Clin Pract*, 24(5), 616-625. <https://doi.org/10.1177/0884533609342445>
- Harris, W. S., Sands, S. A., Windsor, S. L., Ali, H. A., Stevens, T. L., Magalski, A., Porter, C. B., & Borkon, A. M. (2004). Omega-3 fatty acids in cardiac biopsies from heart transplantation patients: correlation with erythrocytes and response to supplementation. *Circulation*, 110(12), 1645-1649. <https://doi.org/10.1161/01.Cir.0000142292.10048.B2>

- He, Y., Hwang, S., Ahmed, Y. A., Feng, D., Li, N., Ribeiro, M., Lafdil, F., Kisseleva, T., Szabo, G., & Gao, B. (2021). Immunopathobiology and therapeutic targets related to cytokines in liver diseases. *Cellular & Molecular Immunology*, 18(1), 18-37. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-00580-w>
- Heshmati, J., Morvaridzadeh, M., Maroufizadeh, S., Akbari, A., Yavari, M., Amirinejad, A., Maleki-Hajiagha, A., & Sepidarkish, M. (2019). Omega-3 fatty acids supplementation and oxidative stress parameters: A systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Pharmacol Res*, 149, 104462. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2019.104462>
- Hippalgaonkar, K., Majumdar, S., & Kansara, V. (2010). Injectable lipid emulsions-advancements, opportunities and challenges. *AAPS PharmSciTech*, 11(4), 1526-1540. <https://doi.org/10.1208/s12249-010-9526-5>
- Hise, M. E., Compher, C., Harlan, L., Kohlmeier, J. E., Benedict, S. H., Gajewski, B., & Brown, J. C. (2006). Inflammatory mediators and immune function are altered in home parenteral nutrition patients. *Nutrition*, 22(2), 97-103. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2005.05.011>
- Hurt, R. T., & Mundi, M. S. (2017). Use of Mixed-Oil Fat Emulsion to Improve Intestinal Failure-Associated Liver Disease in Long-Term Home Parenteral Nutrition: A Case Report. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 41(1_suppl), 17S-19S. <https://doi.org/10.1177/0148607117741870>
- Hussey, B., Lindley, M. R., & Mastana, S. S. (2017). Omega 3 fatty acids, inflammation and DNA methylation: an overview. *Clinical Lipidology*, 12(1), 24-32. <https://doi.org/10.1080/17584299.2017.1319454>
- Chen, S., Xiao, Y., Liu, Y., Tian, X., Wang, W., Jiang, L., Wu, W., Zhang, T., Cai, W., & Wang, Y. (2022). Fish oil-based lipid emulsion alleviates parenteral nutrition-associated liver diseases and intestinal injury in piglets. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 46(3), 709-720. <https://doi.org/10.1002/jpen.2229>
- Chheng, M. L., Heidbreder, C., Btaiche, I. F., & Blackmer, A. B. (2013). Infectious complications with nondaily versus daily infusion of intravenous fat emulsions in non-critically ill adults. *Nutr Clin Pract*, 28(6), 737-744. <https://doi.org/10.1177/0884533613507085>
- Chiang, J. Y. L., & Ferrell, J. M. (2022). Discovery of farnesoid X receptor and its role in bile acid metabolism. *Mol Cell Endocrinol*, 548, 111618. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2022.111618>
- Chong, W. C., Shastri, M. D., & Eri, R. (2017). Endoplasmic Reticulum Stress and Oxidative Stress: A Vicious Nexus Implicated in Bowel Disease Pathophysiology. *Int J Mol Sci*, 18(4). <https://doi.org/10.3390/ijms18040771>
- Christian, V. J., Tallar, M., Walia, C. L. S., Sieracki, R., & Goday, P. S. (2018). Systematic Review of Hypersensitivity to Parenteral Nutrition. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 42(8), 1222-1229. <https://doi.org/10.1002/jpen.1169>
- Isaac, D. M., Alzaben, A. S., Mazurak, V. C., Yap, J., Wizzard, P. R., Nation, P. N., Zhao, Y. Y., Curtis, J. M., Sergi, C., Wales, P. W., Mager, D. R., & Turner, J. M. (2019). Mixed Lipid, Fish Oil, and Soybean Oil Parenteral Lipids Impact Cholestasis, Hepatic Phytosterol, and Lipid Composition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 68(6), 861-867. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000002313>
- Jomova, K., Raptova, R., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., & Valko, M. (2023). Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. *Arch Toxicol*, 97(10), 2499-2574. <https://doi.org/10.1007/s00204-023-03562-9>
- Katan, M. B., Deslypere, J. P., van Birgelen, A. P., Penders, M., & Zegwaard, M. (1997). Kinetics of the incorporation of dietary fatty acids into serum cholesteryl esters,

- erythrocyte membranes, and adipose tissue: an 18-month controlled study. *J Lipid Res*, 38(10), 2012-2022.
- Khalaf, R. T., & Sokol, R. J. (2020). New Insights Into Intestinal Failure-Associated Liver Disease in Children. *Hepatology*, 71(4), 1486-1498. <https://doi.org/10.1002/hep.31152>
- Kirk, C., Haigh, L., Thompson, N. P., Pearce, M., Jones, D. E., & Mathers, J. C. (2022). The effects of different parenteral nutrition lipid formulations on clinical and laboratory endpoints in patients receiving home parenteral nutrition: A systematic review. *Clin Nutr*, 41(1), 80-90. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2021.11.009>
- Klek, S., Chambrier, C., Singer, P., Rubin, M., Bowling, T., Staun, M., Joly, F., Rasmussen, H., Strauss, B. J., Wanten, G., Smith, R., Abraham, A., Szczepanek, K., & Shaffer, J. (2013). Four-week parenteral nutrition using a third generation lipid emulsion (SMOFlipid)--a double-blind, randomised, multicentre study in adults. *Clin Nutr*, 32(2), 224-231. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2012.06.011>
- Klek, S., Mankowska-Wierzbicka, D., Scislo, L., Walewska, E., Pietka, M., & Szczepanek, K. (2020). High Dose Intravenous Fish Oil Reduces Inflammation-A Retrospective Tale from Two Centers. *Nutrients*, 12(9). <https://doi.org/10.3390/nu12092865>
- Kodydková, J., Vávrová, L., Zeman, M., Jiráček, R., Macásek, J., Stanková, B., Tvrzická, E., & Zák, A. (2009). Antioxidative enzymes and increased oxidative stress in depressive women. *Clin Biochem*, 42(13-14), 1368-1374. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2009.06.006>
- Koek, G. H., Liedorp, P. R., & Bast, A. (2011). The role of oxidative stress in non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Chim Acta*, 412(15-16), 1297-1305. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2011.04.013>
- Kohout, P. e. a. (2021). Klinická výživa. In P. KOHOUT, Eduard HAVEL, Martin MATĚJOVIČ a Michal ŠENKYŘÍK (Ed.), *Klinická výživa*. (pp. 401-453). Galén.
- Kosek, V., Heczkova, M., Novak, F., Meisnerova, E., Novakova, O., Zelenka, J., Bechynska, K., Vrzacova, N., Suttner, J., Hlavackova, A., Dankova, H., Bratova, M., Daskova, N., Malinska, H., Oliyarnyk, O., Wohl, P., Bastova, H., Hajslova, J., & Cahova, M. (2020). The omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Oxidative Stress in Long-Term Parenteral Nutrition Dependent Adult Patients: Functional Lipidomics Approach. *Nutrients*, 12(8). <https://doi.org/10.3390/nu12082351>
- Kotani, K., Watanabe, J., Miura, K., & Gugliucci, A. (2021). Paraoxonase 1 and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: A Meta-Analysis. *Molecules*, 26(8). <https://doi.org/10.3390/molecules26082323>
- Lal, S., Pironi, L., Wanten, G., Arends, J., Bozzetti, F., Cuerda, C., Joly, F., Kelly, D., Staun, M., Szczepanek, K., Van Gossum, A., & Schneider, S. M. (2018). Clinical approach to the management of Intestinal Failure Associated Liver Disease (IFALD) in adults: A position paper from the Home Artificial Nutrition and Chronic Intestinal Failure Special Interest Group of ESPEN. *Clin Nutr*, 37(6 Pt A), 1794-1797. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.07.006>
- Lee, W. S., Chew, K. S., Ng, R. T., Kasmi, K. E., & Sokol, R. J. (2020). Intestinal failure-associated liver disease (IFALD): insights into pathogenesis and advances in management. *Hepatol Int*, 14(3), 305-316. <https://doi.org/10.1007/s12072-020-10048-8>
- Lenicek, M., Vecka, M., Zizalova, K., & Vitek, L. (2016). Comparison of simple extraction procedures in liquid chromatography-mass spectrometry based determination of serum 7 α -hydroxy-4-cholesten-3-one, a surrogate marker of bile acid synthesis. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 1033-1034, 317-320. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.08.046>

- Ling, P. R., Khaodhiar, L., Bistrrian, B. R., Keane-Ellison, M., Thibault, A., & Tawa, N. (2001). Inflammatory mediators in patients receiving long-term home parenteral nutrition. *Dig Dis Sci*, 46(11), 2484-2489. <https://doi.org/10.1023/a:1012388206553>
- Llop, J. M., Virgili, N., Moreno-Villares, J. M., García-Peris, P., Serrano, T., Forga, M., Solanich, J., & Pita, A. M. (2008). Phytosterolemia in parenteral nutrition patients: Implications for liver disease development. *Nutrition*, 24(11), 1145-1152. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2008.06.017>
- Lucchinetti, E., Lou, P. H., Wawrzyniak, P., Wawrzyniak, M., Scharl, M., Holtzhauer, G. A., Kramer, S. D., Hersberger, M., Rogler, G., & Zaugg, M. (2021). Novel Strategies to Prevent Total Parenteral Nutrition-Induced Gut and Liver Inflammation, and Adverse Metabolic Outcomes. *Mol Nutr Food Res*, 65(5), e1901270. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201901270>
- Manithody, C. S., Van Nispen, J., Murali, V., Jain, S., Samaddar, A., Armstrong, A., & Jain, A. (2020). Role of Bile Acids and Gut Microbiota in Parenteral Nutrition Associated Injury. *J Hum Nutr (Carson City)*, 4(1). <https://doi.org/10.36959/487/286>
- Marsillach, J., Camps, J., Ferré, N., Beltran, R., Rull, A., Mackness, B., Mackness, M., & Joven, J. (2009). Paraoxonase-1 is related to inflammation, fibrosis and PPAR delta in experimental liver disease. *BMC Gastroenterology*, 9(1), 3. <https://doi.org/10.1186/1471-230X-9-3>
- Mayer, K., Gokorsch, S., Fegbeutel, C., Hattar, K., Rosseau, S., Walmrath, D., Seeger, W., & Grimminger, F. (2003). Parenteral nutrition with fish oil modulates cytokine response in patients with sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*, 167(10), 1321-1328. <https://doi.org/10.1164/rccm.200207-674OC>
- Mays, A., Ayers, P., Monczka, J., & Cober, M. P. (2023). Safety in parenteral nutrition compounding. *Nutr Clin Pract*, 38(6), 1253-1262. <https://doi.org/10.1002/ncp.11064>
- McGrath, K., Pitt, J., & Bines, J. (2019). Small intestinal bacterial overgrowth in children with intestinal failure on home parenteral nutrition. *JGH Open*, 3. <https://doi.org/10.1002/jgh3.12174>
- Melendez, M., & Yeh, D. D. (2022). Exploring the long-term risk factors associated with intestinal failure-associated liver disease in pediatric and adult patients: The role of lipid injectable emulsions in the development of liver disease. *Nutr Clin Pract*, 37(5), 1142-1151. <https://doi.org/10.1002/ncp.10824>
- Miloudi, K., Comte, B., Rouleau, T., Montoudis, A., Levy, E., & Lavoie, J. C. (2012). The mode of administration of total parenteral nutrition and nature of lipid content influence the generation of peroxides and aldehydes. *Clin Nutr*, 31(4), 526-534. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2011.12.012>
- Muldoon, M. F., Laderian, B., Kuan, D. C., Sereika, S. M., Marsland, A. L., & Manuck, S. B. (2016). Fish oil supplementation does not lower C-reactive protein or interleukin-6 levels in healthy adults. *J Intern Med*, 279(1), 98-109. <https://doi.org/10.1111/joim.12442>
- Mundi, M. S., Martindale, R. G., & Hurt, R. T. (2017). Emergence of Mixed-Oil Fat Emulsions for Use in Parenteral Nutrition. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 41(1_suppl), 3s-13s. <https://doi.org/10.1177/0148607117742595>
- Mundi, M. S., McMahon, M. T., Carnell, J. J., & Hurt, R. T. (2018). Long-Term Use of Mixed-Oil Lipid Emulsion in Adult Home Parenteral Nutrition Patients: A Case Series. *Nutr Clin Pract*, 33(6), 851-857. <https://doi.org/10.1002/ncp.10014>
- Murray, R. K. e. a. (2012). Harperova ilustrovaná biochemie (M. B. e. al., Trans.). In (28. ed., pp. 133-143). Galén.
- Mutanen, A., Lohi, J., Heikkila, P., Jalanko, H., & Pakarinen, M. P. (2015). Loss of ileum decreases serum fibroblast growth factor 19 in relation to liver inflammation and

- fibrosis in pediatric onset intestinal failure. *J Hepatol*, 62(6), 1391-1397.
<https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.01.004>
- Nara, H., & Watanabe, R. (2021). Anti-Inflammatory Effect of Muscle-Derived Interleukin-6 and Its Involvement in Lipid Metabolism. *Int J Mol Sci*, 22(18).
<https://doi.org/10.3390/ijms22189889>
- Neelis, E., de Koning, B., Rings, E., Wijnen, R., Nichols, B., Hulst, J., & Gerasimidis, K. (2019). The Gut Microbiome in Patients with Intestinal Failure: Current Evidence and Implications for Clinical Practice. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 43(2), 194-205.
<https://doi.org/10.1002/jpen.1423>
- Nikkilä, K., Miettinen, T. A., Höckerstedt, K. V., & Isoniemi, H. (2005). Sterol parameters as markers of liver function in primary biliary cirrhosis before and after liver transplantation. *Transpl Int*, 18(2), 221-225. <https://doi.org/10.1111/j.1432-2277.2004.00002.x>
- Novak, F., Vecka, M., Meisnerova, E., Sevela, S., Vavrova, L., Rychlikova, J., Dolezalova, L., Myslivcova, D., Zak, A., Vitek, L., & Novakova, O. (2019). Fish oil supplementation with various lipid emulsions suppresses in vitro cytokine release in home parenteral nutrition patients: a crossover study. *Nutr Res*, 72, 70-79.
<https://doi.org/10.1016/j.nutres.2019.10.004>
- Osovska, S., Kunecki, M., Sobocki, J., Tokarczyk, J., Majewska, K., Burkacka, M., Radkowski, M., Makarewicz-Wujec, M., Fisk, H. L., Mashnafi, S., Baumgartner, S., Plat, J., & Calder, P. C. (2022). Potential for Omega-3 Fatty Acids to Protect against the Adverse Effect of Phytosterols: Comparing Laboratory Outcomes in Adult Patients on Home Parenteral Nutrition Including Different Lipid Emulsions. *Biology (Basel)*, 11(12). <https://doi.org/10.3390/biology11121699>
- Osovska, S., Kunecki, M., Sobocki, J., Tokarczyk, J., Majewska, K., Omid, M., Radkowski, M., Fisk, H. L., & Calder, P. C. (2019). Effect of changing the lipid component of home parenteral nutrition in adults. *Clin Nutr*, 38(3), 1355-1361.
<https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.05.028>
- Pajares, M., Cuadrado, A., Engedal, N., Jirsova, Z., & Cahova, M. (2018). The Role of Free Radicals in Autophagy Regulation: Implications for Ageing. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2450748. <https://doi.org/10.1155/2018/2450748>
- Pal, A., Metherel, A. H., Fiabane, L., Buddenbaum, N., Bazinet, R. P., & Shaikh, S. R. (2020). Do Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid Have the Potential to Compete against Each Other? *Nutrients*, 12(12). <https://doi.org/10.3390/nu12123718>
- Palomo, J., Dietrich, D., Martin, P., Palmer, G., & Gabay, C. (2015). The interleukin (IL)-1 cytokine family--Balance between agonists and antagonists in inflammatory diseases. *Cytokine*, 76(1), 25-37. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2015.06.017>
- Papackova, Z., & Cahova, M. (2015). Fatty acid signaling: the new function of intracellular lipases. *Int J Mol Sci*, 16(2), 3831-3855. <https://doi.org/10.3390/ijms16023831>
- Parthasarathy, S., Raghavamenon, A., Garelnabi, M. O., & Santanam, N. (2010). Oxidized low-density lipoprotein. *Methods Mol Biol*, 610, 403-417. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-029-8_24
- Pastor-Clerigues, A., Marti-Bonmati, E., Milara, J., Almudever, P., & Cortijo, J. (2014). Anti-inflammatory and anti-fibrotic profile of fish oil emulsions used in parenteral nutrition-associated liver disease. *PLoS One*, 9(12), e115404.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115404>
- Petrovic, S., Arsic, A., Ristic-Medic, D., Cvetkovic, Z., & Vucic, V. (2020). Lipid Peroxidation and Antioxidant Supplementation in Neurodegenerative Diseases: A Review of Human Studies. *Antioxidants (Basel)*, 9(11).
<https://doi.org/10.3390/antiox9111128>

- Pharmacopoeia, E. (2012). Omega-3-acid triglycerides. *European Pharmacopoeia*, 7(5), 4677-4678.
- Pharmacopoeia, E. (2014). Fish oil, rich in omega-3-acids. *European Pharmacopoeia*, 8, 3941-3943.
- Pike, A. F., Kramer, N. I., Blaauboer, B. J., Seinen, W., & Brands, R. (2013). A novel hypothesis for an alkaline phosphatase 'rescue' mechanism in the hepatic acute phase immune response. *Biochim Biophys Acta*, 1832(12), 2044-2056.
<https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.07.016>
- Pironi, L. (2023). Definition, classification, and causes of short bowel syndrome. *Nutr Clin Pract*, 38 Suppl 1, S9-S16. <https://doi.org/10.1002/ncp.10955>
- Pironi, L., Cuerda, C., Jeppesen, P. B., Joly, F., Jonkers, C., Krznaric, Z., Lal, S., Lamprecht, G., Lichota, M., Mundi, M. S., Schneider, S. M., Szczepanek, K., Van Gossum, A., Wanten, G., Wheatley, C., & Weimann, A. (2023). ESPEN guideline on chronic intestinal failure in adults - Update 2023. *Clin Nutr*, 42(10), 1940-2021.
<https://doi.org/10.1016/j.clnu.2023.07.019>
- Pironi, L., Guidetti, M., Verrastro, O., Iacona, C., Agostini, F., Pazzeschi, C., Sasdelli, A. S., Melchiorre, M., & Ferreri, C. (2017). Functional lipidomics in patients on home parenteral nutrition: Effect of lipid emulsions. *World J Gastroenterol*, 23(25), 4604-4614. <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i25.4604>
- Pironi, L., Konrad, D., Brandt, C., Joly, F., Wanten, G., Agostini, F., Chambrier, C., Aimasso, U., Zeraschi, S., Kelly, D., Szczepanek, K., Jukes, A., Di Caro, S., Theilla, M., Kunecki, M., Daniels, J., Serlie, M., Poullenot, F., Wu, J., . . . Lal, S. (2018). Clinical classification of adult patients with chronic intestinal failure due to benign disease: An international multicenter cross-sectional survey. *Clin Nutr*, 37(2), 728-738.
<https://doi.org/10.1016/j.clnu.2017.04.013>
- Poupon, R. (2015). Liver alkaline phosphatase: a missing link between cholestasis and biliary inflammation. *Hepatology*, 61(6), 2080-2090. <https://doi.org/10.1002/hep.27715>
- Raman, M., Almutairdi, A., Mulesa, L., Alberda, C., Beattie, C., & Gramlich, L. (2017). Parenteral Nutrition and Lipids. *Nutrients*, 9(4). <https://doi.org/10.3390/nu9040388>
- Ramos-Tovar, E., & Muriel, P. (2023). NLRP3 inflammasome in hepatic diseases: A pharmacological target. *Biochem Pharmacol*, 217, 115861.
<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2023.115861>
- Rees, D., Miles, E. A., Banerjee, T., Wells, S. J., Roynette, C. E., Wahle, K. W., & Calder, P. C. (2006). Dose-related effects of eicosapentaenoic acid on innate immune function in healthy humans: a comparison of young and older men. *Am J Clin Nutr*, 83(2), 331-342. <https://doi.org/10.1093/ajcn/83.2.331>
- Reimund, J. M., Rahmi, G., Escalin, G., Pinna, G., Finck, G., Muller, C. D., Duclos, B., & Baumann, R. (2005). Efficacy and safety of an olive oil-based intravenous fat emulsion in adult patients on home parenteral nutrition. *Aliment Pharmacol Ther*, 21(4), 445-454. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2005.02354.x>
- Robinson, D. T., Ayers, P., Fleming, B., Gura, K. M., Gutsul, L., Michalski, A., Holcombe, B., & Sacks, G. S. (2021). Recommendations for photoprotection of parenteral nutrition for premature infants: An ASPEN position paper. *Nutr Clin Pract*, 36(5), 927-941. <https://doi.org/10.1002/ncp.10747>
- Rogulska, J., Osowska, S., Kunecki, M., Sobocki, J., Ładyżyński, P., & Giebułtowicz, J. (2021). Antioxidant balance in plasma of patients on home parenteral nutrition: A pilot study comparing three different lipid emulsions. *Clin Nutr*, 40(6), 3950-3958.
<https://doi.org/10.1016/j.clnu.2021.04.006>
- Rogulska, J., Osowska, S., Zawada, K., & Giebułtowicz, J. (2023). Effect of different amino acid solutions on the oxidative stability of three different lipid emulsions in all-in-one

- admixture. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 47(5), 646-653.
<https://doi.org/10.1002/jpen.2511>
- Rochling, F. A. (2021). Intravenous Lipid Emulsions in the Prevention and Treatment of Liver Disease in Intestinal Failure. *Nutrients*, 13(3).
<https://doi.org/10.3390/nu13030895>
- Rose, H. G., & Oklander, M. (1965). Improved procedure for the extraction of lipids from human erythrocytes. *J Lipid Res*, 6, 428-431.
- Sadu Singh, B. K., Narayanan, S. S., Khor, B. H., Sahathevan, S., Abdul Gafor, A. H., Fiaccadori, E., Sundram, K., & Karupaiah, T. (2020). Composition and Functionality of Lipid Emulsions in Parenteral Nutrition: Examining Evidence in Clinical Applications. *Front Pharmacol*, 11, 506. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00506>
- Salvino, R., Ghanta, R., Seidner, D. L., Mascha, E., Xu, Y., & Steiger, E. (2006). Liver Failure Is Uncommon in Adults Receiving Long-Term Parenteral Nutrition. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 30(3), 202-208.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1177/0148607106030003202>
- Samaddar, A., van Nispen, J., Armstrong, A., Song, E., Voigt, M., Murali, V., Krebs, J., Manithody, C., Denton, C., Ericsson, A. C., & Jain, A. K. (2022). Lower systemic inflammation is associated with gut firmicutes dominance and reduced liver injury in a novel ambulatory model of parenteral nutrition. *Ann Med*, 54(1), 1701-1713.
<https://doi.org/10.1080/07853890.2022.2081871>
- Sasdelli, A., Agostini, F., Pazzeschi, C., Guidetti, M., Lal, S., & Pironi, L. (2019). Assessment of Intestinal Failure Associated Liver Disease according to different diagnostic criteria. *Clinical Nutrition*, 38(3), 1198-1205.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.04.019>
- Sasdelli, A. S., Guidetti, M., Pazzeschi, C., & Pironi, L. (2019). Intestinal failure associated liver disease in adult patients: a one-year prospective study. *Nutrition*, 65, 2.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.nut.2019.08.005>
- Sevela, S., Meisnerova, E., Vecka, M., Vavrova, L., Rychlikova, J., Lenicek, M., Vitek, L., Novakova, O., & Novak, F. (2024). High Dose Fish Oil Added to Various Lipid Emulsions Normalizes Superoxide Dismutase 1 Activity in Home Parenteral Nutrition Patients. *Nutrients*, 16(4). <https://doi.org/10.3390/nu16040485>
- Shimizu, M., & Sato, R. (2022). Endocrine Fibroblast Growth Factors in Relation to Stress Signaling. *Cells*, 11(3). <https://doi.org/10.3390/cells11030505>
- Schaur, R. J., Siems, W., Bresgen, N., & Eckl, P. M. (2015). 4-Hydroxy-nonanal-A Bioactive Lipid Peroxidation Product. *Biomolecules*, 5(4), 2247-2337.
<https://doi.org/10.3390/biom5042247>
- Schmidt-Arras, D., & Rose-John, S. (2016). IL-6 pathway in the liver: From physiopathology to therapy. *Journal of Hepatology*, 64(6), 1403-1415.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.02.004>
- Schneider, C. (2009). An update on products and mechanisms of lipid peroxidation. *Mol Nutr Food Res*, 53(3), 315-321. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200800131>
- Sies, H., Berndt, C., & Jones, D. P. (2017). Oxidative Stress. *Annu Rev Biochem*, 86, 715-748.
<https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061516-045037>
- Sies, H., & Ursini, F. (2022). Homeostatic control of redox status and health. *IUBMB Life*, 74(1), 24-28. <https://doi.org/10.1002/iub.2519>
- So, J., Wu, D., Lichtenstein, A. H., Tai, A. K., Matthan, N. R., Maddipati, K. R., & Lamon-Fava, S. (2021). EPA and DHA differentially modulate monocyte inflammatory response in subjects with chronic inflammation in part via plasma specialized pro-resolving lipid mediators: A randomized, double-blind, crossover study. *Atherosclerosis*, 316, 90-98. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2020.11.018>

- Steinberger, A. E., Tecos, M. E., Phelps, H. M., Rubin, D. C., Davidson, N. O., Guo, J., & Warner, B. W. (2022). A novel maladaptive unfolded protein response as a mechanism for small bowel resection-induced liver injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 323(3), G165-g176. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00302.2021>
- Stofan, M., & Guo, G. L. (2020). Bile Acids and FXR: Novel Targets for Liver Diseases. *Front Med (Lausanne)*, 7, 544. <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.00544>
- Sun, Q., Wu, Y., Zhao, F., & Wang, J. (2017). Maresin 1 Ameliorates Lung Ischemia/Reperfusion Injury by Suppressing Oxidative Stress via Activation of the Nrf-2-Mediated HO-1 Signaling Pathway. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 9634803. <https://doi.org/10.1155/2017/9634803>
- Tan, A., Sullenbarger, B., Prakash, R., & McDaniel, J. C. (2018). Supplementation with eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid reduces high levels of circulating proinflammatory cytokines in aging adults: A randomized, controlled study. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 132, 23-29. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2018.03.010>
- Tanaka, T., Narazaki, M., & Kishimoto, T. (2014). IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 6(10), a016295. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a016295>
- Traber, M. G., & Head, B. (2021). Vitamin E: How much is enough, too much and why! *Free Radic Biol Med*, 177, 212-225. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.10.028>
- Tuin, A., Huizinga-Van der Vlag, A., van Loenen-Weemaes, A. M., Meijer, D. K., & Poelstra, K. (2006). On the role and fate of LPS-dephosphorylating activity in the rat liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 290(2), G377-385. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00147.2005>
- Tvrzická, E., Stanková, B., Vecka, M., & Zák, A. (2009). [Fatty acids--1. occurrence and biological significance]. *Cas Lek Cesk*, 148(1), 16-24. (Mastné kyseliny. 1. Výskyt a biologický význam.)
- Tvrzická, E., Vecka, M., Staňková, B., & Žák, A. (2002). Analysis of fatty acids in plasma lipoproteins by gas chromatography–flame ionization detection: Quantitative aspects. *Analytica Chimica Acta*, 465, 337-350. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(02\)00396-3](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(02)00396-3)
- Vahedi, K., Atlan, P., Joly, F., Le Brun, A., Evard, D., Perennec, V., Roux-Haguenu, D., Bereziat, G., & Messing, B. (2005). A 3-month double-blind randomised study comparing an olive oil- with a soyabean oil-based intravenous lipid emulsion in home parenteral nutrition patients. *Br J Nutr*, 94(6), 909-916. <https://doi.org/10.1079/bjn20051550>
- Vakili, L., Navab, K. D., Shabihkhani, M., Pourtabatabaei, N., Vazirian, S., Barseghian, Z., Seyedali, S., & Hough, G. (2014). Systemic inflammation, intestine, and paraoxonase-1. *Adv Exp Med Biol*, 824, 83-88. https://doi.org/10.1007/978-3-319-07320-0_8
- Vavrova, L., Rychlikova, J., Mrackova, M., Novakova, O., Zak, A., & Novak, F. (2016). Increased inflammatory markers with altered antioxidant status persist after clinical recovery from severe sepsis: a correlation with low HDL cholesterol and albumin. *Clin Exp Med*, 16(4), 557-569. <https://doi.org/10.1007/s10238-015-0390-1>
- Vecka, M., Tvrzická, E., Stanková, B., & Zák, A. (2002). Effect of column and software on gas chromatographic determination of fatty acids. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 770(1-2), 91-99. [https://doi.org/10.1016/s1570-0232\(01\)00630-4](https://doi.org/10.1016/s1570-0232(01)00630-4)
- Versleijen, M. W., Roelofs, H. M., Rombouts, C., Hermans, P. W., Noakes, P. S., Calder, P. C., & Wanten, G. J. (2012). Short-term infusion of a fish oil-based lipid emulsion modulates fatty acid status, but not immune function or (anti)oxidant balance: a

- randomized cross-over study. *Eur J Clin Invest*, 42(3), 290-302.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2011.02582.x>
- Virella, G. (2019). *Medical Immunology, 7th Edition*. Taylor & Francis Group.
<http://ebookcentral.proquest.com/lib/cuni/detail.action?docID=5916484>
- Vogt, M., Bauer, M. K., Ferrari, D., & Schulze-Osthoff, K. (1998). Oxidative stress and hypoxia/reoxygenation trigger CD95 (APO-1/Fas) ligand expression in microglial cells. *FEBS Lett*, 429(1), 67-72. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(98\)00562-6](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(98)00562-6)
- Wichman, B. E., Nilson, J., Govindan, S., Chen, A., Jain, A., Arun, V., Derdoy, J., Krebs, J., & Jain, A. K. (2022). Beyond lipids: Novel mechanisms for parenteral nutrition-associated liver disease. *Nutr Clin Pract*, 37(2), 265-273.
<https://doi.org/10.1002/ncp.10830>
- Wijarnpreecha, K., Lou, S., Watthanasuntorn, K., Kroner, P. T., Cheungpasitporn, W., Lukens, F. J., Pungpapong, S., Keaveny, A. P., & Ungprasert, P. (2020). Small intestinal bacterial overgrowth and nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 32(5), 601-608.
<https://doi.org/10.1097/meg.0000000000001541>
- Xu, Z., Harvey, K. A., Pavlina, T. M., Zaloga, G. P., & Siddiqui, R. A. (2015). Tocopherol and tocotrienol homologs in parenteral lipid emulsions. *Eur J Lipid Sci Technol*, 117(1), 15-22. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201400182>
- Xu, Z. W., & Li, Y. S. (2012). Pathogenesis and treatment of parenteral nutrition-associated liver disease. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 11(6), 586-593.
[https://doi.org/10.1016/s1499-3872\(12\)60229-x](https://doi.org/10.1016/s1499-3872(12)60229-x)
- Yakah, W., Ramiro-Cortijo, D., Singh, P., Brown, J., Stoll, B., Kulkarni, M., Oosterloo, B. C., Burrin, D., Maddipati, K. R., Fichorova, R. N., Freedman, S. D., & Martin, C. R. (2021). Parenteral Fish-Oil Containing Lipid Emulsions Limit Initial Lipopolysaccharide-Induced Host Immune Responses in Preterm Pigs. *Nutrients*, 13(1). <https://doi.org/10.3390/nu13010205>
- Yang, J., Fernandez-Galilea, M., Martinez-Fernandez, L., Gonzalez-Muniesa, P., Perez-Chavez, A., Martinez, J. A., & Moreno-Aliaga, M. J. (2019). Oxidative Stress and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Effects of Omega-3 Fatty Acid Supplementation. *Nutrients*, 11(4). <https://doi.org/10.3390/nu11040872>
- Yaqoob, P., Pala, H. S., Cortina-Borja, M., Newsholme, E. A., & Calder, P. C. (2000). Encapsulated fish oil enriched in alpha-tocopherol alters plasma phospholipid and mononuclear cell fatty acid compositions but not mononuclear cell functions. *Eur J Clin Invest*, 30(3), 260-274. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2362.2000.00623.x>
- Zafirovska, M., Zafirovski, A., & Rotovnik Kozjek, N. (2023). Current Insights Regarding Intestinal Failure-Associated Liver Disease (IFALD): A Narrative Review. *Nutrients*, 15(14). <https://doi.org/10.3390/nu15143169>
- Zaloga, G. P. (2021). Narrative Review of n-3 Polyunsaturated Fatty Acid Supplementation upon Immune Functions, Resolution Molecules and Lipid Peroxidation. *Nutrients*, 13(2). <https://doi.org/10.3390/nu13020662>
- Zhang, Y. L., Li, Z. J., Gou, H. Z., Song, X. J., & Zhang, L. (2022). The gut microbiota-bile acid axis: A potential therapeutic target for liver fibrosis. *Front Cell Infect Microbiol*, 12, 945368. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.945368>