

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Studijní program: kombinovaný

Studijní obor: biochemie a patobiochemie



MUDr. Jaroslav Macáček

Metabolismus mastných kyselin u onemocnění pankreatu

Metabolism of fatty acids in pancreatic diseases

Typ závěrečné práce: Dizertační

Školitel:

RNDr. Eva Tvrzická, CSc., 4. interní klinika 1. LF UK

Praha, 2014

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, 30. 6. 2014

Jaroslav Macášek

Identifikační záznam:

MACÁŠEK, Jaroslav: Metabolismus mastných kyselin u onemocnění pankreatu. Praha, 2014. 83 s, 1 příloha. Disertační práce. Univerzita Karlova v Praze, 1. Lékařská fakulta, IV. Interní klinika; Vedoucí závěrečné práce/školitel: RNDr. Eva Tvrzická, CSc.

Abstrakt

Úvod: Chronická pankreatitida (ChP) je vleklé zánětlivé onemocnění, které vede k destrukci parenchymu slinivky břišní a její náhradě vazivovou tkání. Karcinom pankreatu (KP) je velmi závažné onkologické onemocnění se špatnou prognózou. Obě onemocnění jsou doprovázena změnou složení mastných kyselin (fatty acids, FA). Složení FA v lipidech je ovlivňováno mnoha faktory včetně nutričního stavu, složení přijímané potravy a působením chorobných stavů (zánětlivá a nádorová onemocnění). Předmětem studií zahrnutých v této disertační práci byla analýza složení FA v lipidových třídách plasmy u pacientů s ChP, ChP s diabetes mellitus (DM) typu 3c, KP a DM 2. typu, s cílem zjistit, se kterými klinickými a biochemickými odchylkami jsou změny FA u pacientů asociovány.

Materiál a metody: První soubor sestával z 39 pacientů (30/9 M/Ž) s ChP+DM, 39 pacientů (30/9 M/Ž) s chronickou pankreatitidou bez DM, 38 pacientů (30/8 M/Ž) s DM 2. typu a 39 zdravých osob (30/9 M/Ž) párovaných podle věku a pohlaví. Druhý soubor zahrnoval 84 pacienty (47/37 M/Ž) s adenokarcinomem pankreatu a 68 zdravých osob (36/32 M/Ž). Antropometrické a biochemické parametry byly stanoveny rutinními vyšetřovacími metodami. Složení FA v plasmatických lipidech bylo vyšetřeno kapilární plynovou chromatografií.

Výsledky: Nejvýraznějšími změnami pacientů s ChP a KP ve všech lipidových třídách byly zvýšené koncentrace celkových MUFA, na kterých se podílely především kyseliny palmitolejová, olejová a vakcenová. Zvýšené byly i aktivity $\Delta 9$ -desaturázy kyseliny palmitové a olejové. Současně měli tito nemocní snížené koncentrace celkových PUFA n-6, především kyseliny linolové. Pacienti s DM 2. typu měli v CE a PL zvýšený obsah kyseliny arachidonové. Změny koncentrací celkových PUFA n-6 i kyseliny linolové byly stejné jako u pacientů s ChP a KP.

Závěr: Prokázali jsme změny ve složení FA u pacientů s různými onemocněními pankreatu, což dokazuje nejen poruchu příjmu a trávení lipidů, ale i zvýšenou lipoperoxidaci a změny v metabolismu FA.

Klíčová slova: mastné kyseliny, chronická pankreatitida, pankreatogenní diabetes mellitus typu 3c, diabetes mellitus 2. typu, karcinom pankreatu

Abstract

Introduction: Chronic pancreatitis (ChP) is a progressive inflammatory disorder characterized by the destruction of parenchyma that is replaced by fibrous tissue. Pancreatic cancer (PC) is a serious oncologic disease with poor prognosis. There is evidence that deregulation of fatty acid (FA) metabolism is connected with a number of diseases. We decided to analyze profile of FA in plasma lipid classes in patients with ChP, with 2 type diabetes mellitus (DM), with PC and healthy people. Pattern of FA is affected by many factors including starvation, dietary intake and various pathological states. The aim of the study was to analyze FA pattern in all lipid classes in all groups of patients, to elicit eventual deficiency of essential FA and to detect relationship between clinical or biochemical disturbances and FA profile.

Material and methods: Patients with ChP (n= 39, 30/9 M/F), patients with ChP+DM (n=39, 30/9 M/F), patients with 2 type DM (n=38, 30/8 M/F) and healthy persons paired by the sex and age (n=39, 30/9 M/F) were included in the first group. Second group consisted of 84 patients with pancreatic adenocarcinoma (47/37 M/F) and 68 healthy volunteers (36/32 M/F). Anthropometric and biochemical parameters were examined by conventional methods. Profile of FA in plasma lipids was determined by capillary gas chromatography.

Results: Increased proportion of total monounsaturated FA (MUFA) in all patient groups as well as in all plasma lipid classes was observed. We proved elevations of palmitoleic, oleic and vaccenic acids. These changes were connected with increased $\Delta 9$ -desaturase of palmitic and oleic acids. We found decreased sum of n-6 polyunsaturated FA (PUFA), especially linoleic acid, in ChP and PC groups. In the 2 type DM group, proportion of arachidonic acid in phospholipids and cholesteryl esters was increased. Proportions of α -linolenic, dihomo- γ -linolenic, eicosapentaenoic acids as well as the sum of PUFA n-3 in plasma phospholipid showed negative trend with tumor staging.

Conclusion: Plasma lipid FA pattern in ChP, 2 type DM and PC patients was changed. Changes in FA profile implicated decreased fat intake, increased lipoperoxidation and some pathophysiological mechanisms responsible for disturbed FA metabolism in diseases and importance of appropriate nutritional support.

Key words: fatty acids, chronic pancreatitis, type 3c diabetes mellitus, type 2 diabetes mellitus, pancreatic cancer

Poděkování

Děkuji RNDr. Evě Tvrzické, CSc. za odborné vedení disertační práce a prof. MUDr. A. Žákovi, DrSc. za účinnou pomoc a nesčetné rady. Mgr. Barboře Staňkové, RNDr. Markovi Veckovi, PhD, RNDr. Lucii Vávrové, PhD a RNDr. Janě Rychlíkové, PhD za pomoc při zpracování biologického materiálu a statistických výpočtů.

Práce byla podpořena výzkumnými projekty:

RVO-VFN 641265/2012 Ministerstva zdravotnictví České republiky

PRVOUK-P25/LF1/2 Karlovy Univerzity v Praze

IGA NR/8806-3 Ministerstva zdravotnictví České republiky

Obsah

Seznam zkratk	8
1 Úvod	11
1.1 Onemocnění pankreatu	11
1.2 Hypotézy a cíle práce	12
2 Literární přehled	14
2.1 Mastné kyseliny	14
2.1.1 Základy chemie a biochemie mastných kyselin	14
2.1.2 Názvosloví mastných kyselin	15
2.1.3 Funkce mastných kyselin	16
2.1.3.1 Mastné kyseliny jako energetický substrát	16
2.1.3.2 Izolátory	17
2.1.3.3 Funkce mastných kyselin jako signálních molekul	17
2.1.3.4 Mastné kyseliny a metabolismus eikosanoidů	18
2.1.4 Transport mastných kyselin přes cytoplazmatickou membránu	19
2.1.5 Metabolismus mastných kyselin	20
2.1.5.1 Katabolismus mastných kyselin	20
2.1.5.2 Biosyntéza mastných kyselin	21
2.1.5.3 Elongace a desaturace mastných kyselin	22
2.1.6 Mastné kyseliny jako strukturální komponenty lipidů	25
2.1.7 Klasifikace a biologické funkce	25
2.1.7.1 Nasycené mastné kyseliny	26
2.1.7.2 Mononenasyčené mastné kyseliny	27
2.1.7.3 Vícenenasyčené mastné kyseliny	29
2.1.7.4 Konjugované mastné kyseliny	30
2.1.7.5 Mastné kyseliny a biomembrány	31
2.1.7.6 Mastné kyseliny a struktura intracelulárních druhých poslů	32
2.1.7.7 Prekurzory eikosanoidů a substrát pro lipoperoxidaci	32
2.1.7.8 Acylace proteinů	34
2.1.7.9 Signální funkce a modulátory genové transkripce	34
2.1.7.10 Ligandy receptorů	35
2.1.7.11 Nereceptorové interakce mezi proteiny a mastnými kyselinami	35
2.1.8 Základy patofyziologie mastných kyselin	35

2.1.9	Terapeutické využití vícenenasycených mastných kyselin	36
2.1.10	Analytické přístupy	37
2.2	Chronická pankreatitida	39
2.2.1	Definice	39
2.2.2	Incidence a prevalence	39
2.2.3	Formy a etiologické faktory chronické pankreatitidy	39
2.2.4	Patofyziologie vzniku chronické pankreatitidy	40
2.2.5	Klinické příznaky chronické pankreatitidy	41
2.2.6	Diagnostika chronické pankreatitidy	42
2.2.7	Klasifikace chronické pankreatitidy	42
2.2.8	Chronická pankreatitida a mastné kyseliny	44
2.2.8.1	Ethylestery mastných kyselin a jejich úloha v patogenezi pankreatitidy	44
2.2.8.2	Protektivní role n-3 vícenenasycených mastných kyselin v etiopatogenezi poškození pankreatu	45
2.2.9	Chronická pankreatitida a diabetes mellitus typu 3c	46
2.3	Diabetes mellitus 2. typu a mastné kyseliny	46
2.4	Karcinom pankreatu	47
3	Materiál a metody	49
3.1	Výběr pacientů	49
3.2	Vyšetřovací metody	50
3.3	Statistické zpracování	50
4	Výsledky	52
4.1	Chronická pankreatitida	52
4.2	Karcinom pankreatu	65
5	Diskuze	66
6	Závěr	71
7	Použitá literatura	72
	Seznam publikací	84
	Příloha 1	90

Seznam zkratek

AIF	apoptózu indukující faktor
ALA	kyselina α -linolenová
ALP	alkalická fosfatáza
ALT	alanin-aminotransferáza
ARDS	syndrom dechové tísně dospělých
AST	aspartát-aminotransferáza
ATP	adenosintrifosfát
BMI	body mass index
cAMP	cyklický adenosinmonofosfát
CD/LDL	konjugované dieny v lipoproteinech LDL
cGMP	cyklický guanosinmonofosfát
CFTR	cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
CN	počet uhlíkových atomů, carbon number
COX	cyklooxygenáza
CRP	C-reaktivní protein
DG	diacylglycerol
DHA	kyselina dokosaheptaenová
DHGLA	kyselina dihomogamma-linolenová
DIC	diseminovaná intravaskulární koagulace
DM	diabetes mellitus
EKG	elektrokardiogram
EPA	kyselina eikosapentaenová
ERCP	endoskopická retrográdní cholangiopankreatikografie
EUS	endoskopické ultrazvukové vyšetření pankreatu
ETF	electron-transferring flavoprotein
FA	fatty acids, mastné kyseliny
FABP	mastné kyseliny vázající protein, fatty acid binding protein
FAD, FADH ₂	flavinadenin nukleotid
FAEE	ethylestery mastných kyselin, fatty acid ethyl esters
FAT/CD 36	translokáza mastných kyselin, fatty acid translocase
FNA	aspirační biopsie tenkou jehlou, fine needle aspiration biopsy
GGT	gamma-glutamyl-transferáza
GLC	gas liquid chromatography
GSH	redukovaný glutathion
HDL-C	high density lipoprotein-cholesterol
HEPE	hydroxyeikosapentaenová
HETE	hydroxyeicosatetraenová kyselina
HEtrE	15-hydroxyeikosatrienová kyselina
HNF	žaterní nukleární faktor
9-HODE,13-HODE	kyseliny 9- a 13-hydroxy oktadekadienová

HOMA-IR	homeostasis model assessment for insulin resistance
HPETE	hydroperoxyeicosatetraenovou
13-HPODE	kyselina 13-hydroperoxy oktadekadienová
ChP	chronická pankreatitida
ICAM-1	intercelulární adhezní molekula 1
ICHS	ischemická choroba srdeční
IL-1, IL-6, IL-8	interleukin-1, 6, 8
IM	infarkt myokardu
LCFA	mastné kyseliny s dlouhým uhlíkovým řetězcem
LDL-C	low density lipoprotein- cholesterol
LOX	lipoxygenáza
LPL	lipoproteinová lipáza
LT	leukotrieny
LX	lipoxiny
LXR	jaterní receptor X
MCT	triacylglyceroly se středně dlouhým řetězcem
MDA	malondialdehyd
MRCP	magnetická resonance žlučových cest a pankreatu
NADH, NADPH	nikotinamidadeninukleotid
NFκB	nukleární faktor κB
NSAID	nesteroidní antirevmatika (nonsteroidal antiinflammatory druha)
13-OXO	kyselina 13-keto-oktadeka-9,11-dienová
PAF	destičky aktivující faktor (platelet activating factor)
PG	prostaglandiny
PGE ₁	prostaglandin série 1
PIF	proteolýzu indukující faktor, proteolysis inducing factor
PIP2	fosfatidylinositol 4,5-difosfát
PIP3	fosfatidylinositol 1,4,5-trifosfát (PIP3)
PMCA	plasma membrane calcium ATPase pump
PPAR γ, α	peroxisome proliferator activated receptor γ, α
PSC	pankreatické hvězdicové buňky, pancreatic stellate cells
PUFA	vícenenasycené mastné kyseliny, polyunsaturated fatty acids
PTCA	perkutánní transluminální koronární angioplastika
REE	resting energy expenditure
ROS	reaktivní kyslíkové sloučeniny, reactive oxygen species
RP-HPLC	reversed phase-high performance liquid chromatography
RV	resolviny
SCFA	mastné kyseliny s krátkým řetězcem, short chain fatty acids
SERCA	sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium ATPase pump
SPINK1	serin protease inhibitor gene
SREBP-1	sterol regulatory element-binding protein 1

TC	celkový cholesterol, total cholesterol
TGF- β	transforming growth factor β
TAG	triacylglyceroly
TK	krevní tlak
TNF- α	tumor nekrotizující faktor, tumour necrosis factor - α
TX	thromboxany
UCP	uncoupling protein
USG	ultrasonografie
VCAM-1	vascular cell adhesion molecule 1
VLCFA	masné kyseliny s velmi dlouhým řetězcem, very long chain fatty acids
WHCR	poměr obvodu pas/boky, waist/hip circumference ratio

1 ÚVOD

1.1 Onemocnění pankreatu

Onemocnění pankreatu patří mezi závažné stavy doprovázené značnou morbiditou a mortalitou. Řadíme sem některá vrozená onemocnění sekundárně postihující pankreas jako například cystickou fibrózu, hemochromatózu, dále choroby primárně zasahující slinivku břišní jako akutní pankreatitidu (AP), chronickou pankreatitidu (ChP), karcinom pankreatu (KP), ale i metabolické choroby, při kterých se důležité patofyziologické změny odehrávají v pankreatu, jako diabetes mellitus (DM) 1. a 2. typu. V poslední době je dokonce popisován i DM 3. typu jako přímý důsledek poškození pankreatu při AP a ChP či KP. Karcinom pankreatu je velmi závažné nádorové onemocnění, v České republice je 4. nejčastější příčinou úmrtí na onkologická onemocnění. Chronická pankreatitida je chronicky probíhající choroba, která je spjata se zvýšenou morbiditou a invalidizací postiženého pacienta. Z těchto důvodů se výzkumu onemocnění pankreatu věnuje zvýšené úsilí. Intenzivně se zkoumají patofyziologické mechanismy vzniku těchto onemocnění, možnosti jejich včasné diagnostiky a především kauzální léčby. Výše uvedená onemocnění se podle dřívějších poznatků dominantního patologickoanatomického poškození dělila na choroby primárně postihující exokrinní část slinivky - ChP a KP a choroby primárně postihující endokrinní část pankreatu - různé typy DM. V poslední době však přibývá znalostí o komplexním vlivu onemocnění pankreatu na obě složky již od iniciačních stádií. Je také známo, že složení mastných kyselin (fatty acids, FA) v plasmatických membránách i lipoproteinech reflektuje řadu patologických změn organismu, např. DM, zánětlivé procesy, onkologická onemocnění. Z tohoto důvodu jsme se v této studii snažili analyzovat složení FA u obou typů poškození pankreatu. Znalosti o změnách v profilu FA mohou přispět do složité mozaiky poznatků o pankreatopatiích a přispět k pokroku v péči o tyto pacienty.

1.2 Hypotézy a cíle práce

Cílem této studie bylo analyzovat složení FA v lipidových třídách plasmy u pacientů s různými onemocněními pankreatu – DM 2. typu, ChP, ChP s pankreatogenním DM typu 3c a KP. V naší studii jsme chtěli ověřit hypotézu, zdali se změny ve složení FA u onemocnění pankreatu podobají změnám u jiných patologických stavů.

Otázkám vlivu ChP na složení FA bylo dosud věnováno málo pozornosti. Složení FA bylo analyzováno u myši s experimentální pankreatitidou (Weylandt et al., 2008). Dosud publikované klinické studie se zaměřily na sledování složení FA u etylické ChP (Marosvolgyi et al., 2010) a vliv diabetické poruchy na složení FA u ChP (Quilliot et al., 2003).

Vycházeli jsme z poznatků o tom, že složení mastných kyselin v plasmatických lipidech je ovlivněno příjmem FA potravou v předchozích několika týdnech, endogenním metabolismem FA (syntéza FA *de novo*, β -oxidace, enzymatická desaturace a elongace, enzymatická i neenzymatická lipoperoxidace, [Riccardi et al., 2004]) a patologickými vlivy, které zasahují komplexně oba předchozí faktory. Změny ve složení FA byly popsány u mnoha chorobných stavů, jako jsou onkologická onemocnění, sepse, popáleniny, ARDS, deprese, dále u kardiovaskulárních chorob, při obezitě či DM 2. typu (Vigneri et al., 2009). Na změnách ve složení FA u pankreatopatií se může podílet několik příčin, jako jsou maldigestce tuků a esenciálních FA (EFA), jejich zvýšená degradace v důsledku zvýšené úrovně zánětu, oxidačního stresu a lipoperoxidace, pankreatogenního DM typu 3c, případně další faktory ovlivňující metabolické přeměny FA jako β -oxidace, desaturace a elongace (Tvrzická et al., 2011, Kremmyda et al., 2011, Žák et al., 2007, Žák et al., 2008, Kodydková et al., 2013).

Pro inspiraci ke studiu složení FA u KP jsme vycházeli z bohatších literárních zdrojů, ve kterých jsou prokázány úzké vztahy mezi lipidovým metabolismem a onkologickými onemocněními. V několika studiích bylo prokázáno, že příjem tuku a nasycených mastných kyselin je asociován s rizikem vzniku onkologických onemocnění včetně karcinomu pankreatu (Howe and Burch, 1996, Stolzenberg-Solomon et al., 2002, Thiébaud et al., 2009). U obézních jedinců došlo ke snížení rizika vzniku karcinomu pankreatu při zvýšeném příjmu vícenasycených mastných kyselin na úkor těch nasycených (Nkondjock et al., 2005). Vysoký příjem vícenasycených mastných kyselin řady n-6 (polyunsaturated fatty acids, PUFA), zvláště kyseliny linolové, zvyšuje riziko vzniku nádoru trávicího traktu (kolorektální karcinom, karcinom pankreatu), karcinomu prsu a prostaty, zatímco PUFA řady n-3 působí proti vzniku nádorových onemocnění (Berquin et al., 2008). Obecně lze říci, že PUFA n-6 podporují proliferaci tumoru, invazivitu, metastazování a obecně reakci organismu

(zánětlivou, imunitní atd.), kdežto vícenenasycené mastné kyseliny řady n-3 působí opačně (Wendel a Heller, 2009). U některých druhů nádorů je zvýšena *de novo* syntéza FA na podkladě zvýšené exprese syntázy FA a stearyl-CoA desaturázy (SCD-1). Syntáza FA je enzym, který je fyziologicky exprimován pouze v tukové tkáni a játrech (Semenkovich et al., 1995, Lupu a Menendez, 2006). V rakovinných buňkách je exprimován za účelem uspokojení nutričních potřeb těchto buněk (Lupu a Menendez, 2006, Flowers a Ntambi, 2008).

2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 Mastné kyseliny

2.1.1 Základy chemie a biochemie mastných kyselin

Mastné kyseliny (fatty acids, FA) jsou základními strukturálními jednotkami biochemicky heterogenní skupiny lipidů. Z chemického hlediska to jsou monokarboxylové kyseliny s rovným alifatickým řetězcem. V biologických systémech se v drtivé většině nacházejí nerozvětvené FA se sudým počtem uhlíkových atomů. Sudý počet dvojných vazeb je dán způsobem syntézy FA z dvouhlíkatých (acetylových) zbytků. Počet uhlíkových atomů se pohybuje od 2 do 36. Rozeznáváme FA s krátkou délkou řetězce s počtem C4-C6, střední délkou řetězce C8-C10, dlouhým řetězcem C12-C18 a s velmi dlouhým řetězcem C18-C30. U živočichů i rostlin převažují FA s délkou uhlíkového řetězce C16-C18, kyseliny s kratším řetězcem než 14 nebo delším než 22 tvoří minoritní část. Mastné kyseliny jsou dále charakterizovány nasyceným či nenasyceným uhlíkovým řetězcem - FA s nenasyceným uhlíkovým řetězcem se dělí na mononenasycené s přítomností jedné dvojně vazby a na vícenenasycené (polynenasycené) s 2-6 dvojnými vazbami. Dvojně vazby mohou být buď v cis či v trans konfiguraci. Přírozně se vyskytující FA mají dvojně vazby v cis konfiguraci. Trans konfigurace dvojně vazby se vyskytuje u FA, které vznikají při tzv. hydrogenaci (ztužování) tuků, jejich účinek na lidské zdraví je spíše negativní (dyslipidémie, aterogenní vlastnosti). Nejhojněji je zastoupená kyselina elaidová. Nenasycené FA s trans konfigurací dvojně vazby jsou též produkovány fermentačními pochody v žaludku přežvýkavců – jejich hlavním představitelem je kyselina trans-vakcenová. V případě mononenasycených FA je pozice dvojně vazby většinou lokalizována mezi C-9 a C-10 (Δ^9). Dvojně vazby polynenasycených FA nejsou téměř nikdy konjugované (konjugovaný = střídání dvojně a jednoduché vazby), ale mají tzv. pentadienové uspořádání, tj. střídání 2 jednoduchých a 1 dvojně vazby.

Fyzikální vlastnosti FA jsou podmíněny jejich chemickou strukturou, jsou silně závislé na délce uhlíkového řetězce a počtu nenasycených vazeb. Bod tání je ovlivněn přítomností dvojných vazeb. Při pokojové teplotě 25 °C mají nasycené FA s počtem uhlíkových atomů C12-24 tuhou konzistenci, kdežto nenasycené FA se stejným počtem uhlíkových atomů mají konzistenci oleje. Řetězec nasycených FA má díky volné rotaci kolem jednoduché vazby mezi dvěma uhlíkovými atomy velkou flexibilitu, což dovoluje molekulám FA uspořádat se do stabilních struktur, ve kterých je vzájemné mezimolekulární pnutí minimalizováno. Přítomnost dvojně vazby ovlivňuje prostorové uspořádání jednotlivých

molekul FA vedle sebe v tom smyslu, že snižuje sílu vzájemných van der Waalsových interakcí. Na základě tohoto fyzikálně-chemického jevu je potřeba menší množství termální energie k rozrušení molekulárního uspořádání. Tyto vlastnosti zásadním způsobem ovlivňují stavbu, fluiditu a sekundárně funkce buněčných membrán.

Mastné kyseliny se relativně dobře rozpouští v nepolárních rozpouštědlech; FA s krátkým řetězcem se rozpouštějí i ve vodném prostředí, ale tato jejich schopnost klesá s rostoucí délkou uhlíkového řetězce. Mastné kyseliny s délkou řetězce více než 12 uhlíkových atomů musí být v lidském organismu přenášeny ve vazbě na polární sloučeniny. Vzhledem k přítomnosti polární karboxylové skupiny se FA mohou chovat jako tzv. tenzidy snižující povrchové napětí a vyskytující se na rozhraní dvou fází (polární a nepolární fáze), ve které se orientují tak, že svojí karboxylovou skupinou směřují do polární fáze a alifatickým uhlíkovým řetězcem do nepolární fáze.

2.1.2 Názvosloví mastných kyselin

V biochemické literatuře je využíváno několika způsobů určování názvosloví FA. Velmi často užívané názvy jsou názvy triviální (viz níže uvedený přehled nejčastějších FA).

Důležité mastné kyseliny:

Vzorec ^x	Systematický název	Triviální název	Zkratka
12:0	dodekanová	laurová	
14:0	tetradekanová	myristová	
16:0	hexadekanová	palmitová	PA
16:1n-7	<i>cis</i> -9-hexadecenová	palmitolejová	POA
18:0	oktadekanová	stearová	SA
18:1n-9	<i>cis</i> -9-oktadecenová	olejová	OA
18:1n-7	<i>cis,cis</i> -11-oktadecenová	vakcenová	
18:2n-6	<i>cis,cis</i> -9,12-oktadekadienová	linolová	LA
18:3n-6	<i>cis,cis,cis</i> -6,9,12-oktadekatrienová	γ -linolenová	GLA
18:3n-3	<i>cis,cis,cis</i> -9,12,15-oktadekatrienová	α -linolenová	ALA
20:3n-6	<i>cis,cis,cis</i> -8,11,14-eikosatrienová	dihomo- γ -linolenová	DHGLA
20:4n-6	<i>cis,cis,cis,cis</i> -5,8,11,14-eikosatetraenová	arachidonová	AA
20:5n-3	<i>cis,cis,cis,cis,cis</i> -5,8,11,14,17-eikosapentaenová	timnodonová	EPA
22:5n-3	<i>cis,cis,cis,cis,cis</i> -7,10,13,16,19-dokosapentaenová		DPA
22:6n-3	<i>cis,cis,cis,cis,cis,cis</i> -4,7,10,13,16,19-dokosahexaenová	klupadonová	DHA

x/ číslo před dvojtečkou udává počet atomů uhlíku, za dvojtečkou počet dvojných vazeb; číslo za n značí umístění první dvojně vazby na atomu uhlíku počítáno od methylového (omega) konce mastné kyseliny.

Mastné kyseliny je možno charakterizovat obecným vzorcem $CN:p n-x$, kde CN = carbon number (uhlíkové číslo), p = počet dvojných vazeb, n = číslo uhlíkového atomu methylové skupiny, x = poloha první dvojně vazby od methylové skupiny. Standardní nomenklatura definuje uhlík karboxylové skupiny jako C-1, další uhlíky jsou očíslovány počítáním od tohoto uhlíku. Tzv. alfa uhlík je tedy první uhlík následující po uhlíku karboxylové skupiny atd. Pozice dvojně vazby je zapisována symbolem Δ ; za tímto symbolem jsou jako index zapisována čísla označující první uhlík dvojně vazby. Pro polynenasycené FA se používá názvosloví, které počítá uhlíkové atomy a podle toho i polohu dvojně vazby od posledního uhlíku řetězce mastné kyseliny. Jedná se o uhlíkový atom methylové skupiny označený jako ω (poslední písmenko řecké abecedy). Pozice dvojně vazby je charakterizována vůči tomuto ω uhlíkovému atomu, rozlišujeme pak tzv. $\omega-3$ a $\omega-6$ nenasycené mastné kyseliny (je také možné označení jako n-3, n-6 řada, což je použito v této práci), které mají velký význam pro biologii i patofyziologii organismu.

2.1.3 Funkce mastných kyselin

Mastné kyseliny jsou základní strukturální jednotkou mnoha tříd lipidů a jako takové plní v organismu mnoho funkcí. Lipidy jsou heterogenní skupinou sloučenin, které se vyskytují v biologických systémech a jsou charakterizovány rozpustností v organických rozpouštědlech. Lipidy a FA v nich obsažené plní řadu biologických funkcí: 1. zásobárna energie, 2. mechanické vlastnosti, 3. izolační vlastnosti, 4. funkce signálních látek, 5. prekurzory fyziologicky i patofyziologicky důležitých molekul, 6. stavební prvek biomembrán. V lidském organismu bylo identifikováno cca 60 různých FA, nicméně pouze minoritní část zastává relevantní fyziologické funkce. Složení FA je charakteristické jak pro jednotlivé živočišné druhy, tak i pro jednotlivé tkáně.

2.1.3.1 Mastné kyseliny jako energetický substrát

Mastné kyseliny jsou bohatým zdrojem energie; v buňkách jsou uchovávány v podobě molekul triacylglycerolů, ze kterých jsou při potřebě promptně uvolňovány. Triacylglyceroly a v nich navázané FA jsou vysoce redukováné chemické struktury, které při oxidaci uvolňují zhruba dvakrát tolik energie (cca 38 kJ/g) než proteiny či sacharidy téže hmotnosti. Energetická hustota FA se liší podle délky řetězce: pro MCFA je její hodnota 7,0 kcal/g, pro LCFA a VLCFA 9,1 kcal/g. Využití molekul triacylglycerolů v podobě zásobní energie je výhodné i vzhledem k jejich nepolárnímu charakteru, který nemění osmolaritu buňky a nezvyšuje svůj objem solvatací molekulami vody. Hlavní metabolickou dráhou katabolismu

FA je β -oxidace. Oxidace FA touto dráhou je hlavním katabolickým procesem získávajícím energii v mnoha orgánech a tkáních. Například v játrech a srdečním svalu zajišťuje za fyziologických okolností β -oxidace až 80% energetických nároků buněk. Proces β -oxidace probíhá v matrix mitochondrií. Je to čtyřstupňový proces, při kterém je řetězec FA se sudým počtem uhlíkových atomů postupně konvertován do acetyl-CoA. Mastné kyseliny s krátkým uhlíkovým řetězcem (short chain fatty acids, SCFA), jako jsou kyselina propionová a máselná, tvoří významný energetický substrát pro enterocyty; SCFA jsou produkovány střevními mikroorganismy při metabolizaci vlákniny.

2.1.3.2 Izolátory

Subkutánní a viscerální tuk obsahující triacylglyceroly slouží jako tepelný a mechanický izolátor. Mastné kyseliny s velmi dlouhým řetězcem jsou taktéž složkami sfingolipidů ceramidů, které se uplatňují jako agens snižující propustnost kůže pro vodu (Hamanaka et al., 1989, Gray et al., 1978, Bowser et al., 1985). Mastné kyseliny s velmi dlouhým uhlíkovým řetězcem jsou vylučovány tzv. Meibomovými žlázami tvořící bariéru mezi slzným filmem a kožními lipidy, která brání nadměrnému odpařování slz. Konečně, nervová tkáň je bohatá na lipidy. Kolem axonů je izolační vrstva tvořená lipidy zvaná myelinová vrstva, která umožňuje rychlý přenos signálu mezi jednotlivými neurony.

2.1.3.3 Funkce mastných kyselin jako signálních molekul

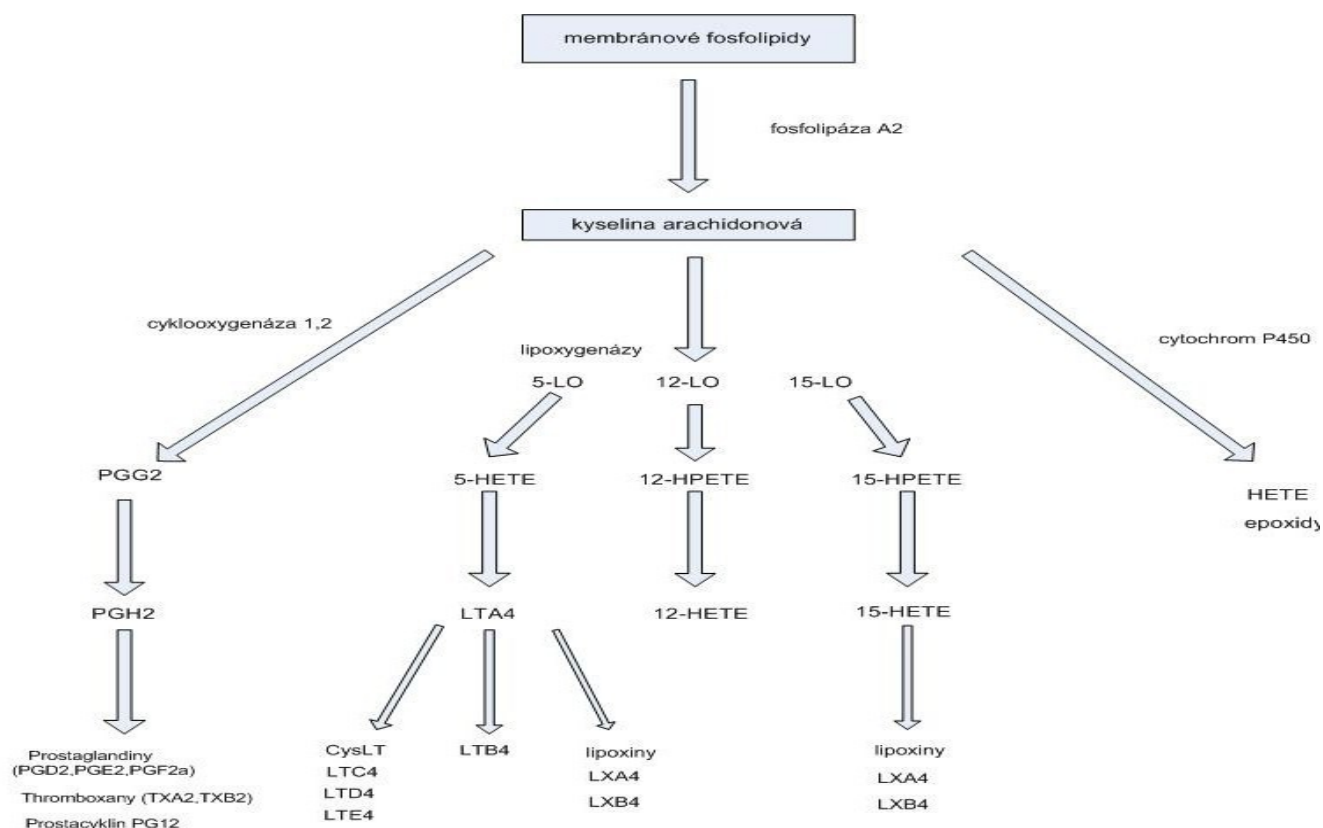
Mastné kyseliny mají důležitou funkci signálních látek. Je známo, že fungují jako extracelulární signální molekuly, které aktivují prostřednictvím vazby na membránové receptory různé intracelulární mechanismy (Zhou et al., 2012). Receptory pro volné FA jsou nejen v plasmatické membráně, ale jsou lokalizovány i v jádře a patří mezi transkripční faktory. Membránové receptory FA patří do skupiny tzv. G protein-coupled receptors (GPRs). G protein-coupled receptors hrají významnou roli v procesu adipogeneze, v glukózové homeostáze a v jiných metabolických dějích (Milligan et al., 2006). Např. receptor označený jako GPR40 (známý též jako free fatty acid receptor 1, FFAR1) zprostředkovává účinek FA na sekreci inzulinu v pankreatických β -buňkách (Salehi et al., 2005). Jsou známy další receptory pro volné FA jako FFAR2 a FFAR3, jejichž přirozenými ligandy jsou SCFA, s mnoha nově zkoumanými pozitivními účinky na metabolismus (Layden et al., 2013). Kyselina linolová potencuje endoteliální dysfunkci zvýšením exprese adhesních molekul (např. ICAM-1) na endoteliálních buňkách prostřednictvím aktivace Rho/Rho kinázové dráhy

(Jung et al., 2012). Mezi intracelulární signální molekuly odvozené od FA patří diacylglycerol (DAG) a fosfatidylinositol 3,4,5-trifosfát (PIP₃) (Im, 2004).

Mastné kyseliny plní funkci signálních molekul i kovalentní modifikací proteinů, což umožňuje jejich inkorporaci do biomembrán. Kovalentně modifikovány jsou proteiny především nasycenými FA s délkou řetězce C14-16. Při tomto procesu hraje roli kyselina myristová, která vytváří amidovou vazbu s N-koncem glycinového zbytku proteinů. Proteiny, které jsou membránově vázané, podstupují i tzv. thioacylaci za účasti kyseliny palmitové. Hydroxyderiváty FA se uplatňují jako aktivátory transkripčních nukleárních faktorů (např. NFκB, TNF-α) a mohou navozovat expresi prozánětlivých cytokinů (např. IL-1, IL-6, IL-8 a TNF-α) a adhezních molekul (např. VCAM-1, ICAM-1).

2.1.3.4 Mastné kyseliny a metabolismus eikosanoidů

Nenasycené FA s 18-20 atomy uhlíku jsou prekurzory autokrinně i parakrinně aktivních látek, derivátů arachidonové kyseliny, tzv. eikosanoidů účastnících se řady fyziologických (např. tvorba žaludeční šťávy) a patofyziologických dějů (zánětlivá reakce, bolest). Syntéza eikosanoidů vychází především z kyseliny arachidonové (all-cis-5,8,11,14 eikosatetraenová kyselina). Minoritní část eikosanoidů je syntetizována z kyseliny eikosapentaenové, jejímž zdrojem je esenciální α-linolenová kyselina. Kyselina arachidonová může být metabolizována třemi metabolickými cestami. První, tzv. cyklooxygenázová, dává vznik prostaglandinům a thromboxanům, sekundárně může být z prostaglandinů syntetizován i prostacyklin. Ve druhé, tzv. lipooxygenázové cestě, vznikají leukotrieny a lipoxiny (Smith, 2008). Ve třetí, epoxygenázové, jsou syntetizovány tzv. HETE (hydroxyeikosatetraenová kyselina). Metabolismus eikosanoidů je schematicky znázorněn na obr. 3. Mastné kyseliny s 20-22 uhlíkovými řetězci mohou být prekurzory dalších biologicky aktivních látek, mezi něž řadíme např. resolviny či neuroprotektiny.



Obr. 1: Metabolismus eikosanoidů

Zkratky: HETE- hydroxyeikosatetraenová kyselina, HPETE- hydroperoxyeikosatetraenová kyselina, LO-x – lipoxygenázy, COX- cyklooxygenáza, LX - lipoxiny, LT- leukotrieny, cysLT- cysteinylleukotrieny

2.1.4 Transport mastných kyselin přes cytoplasmatickou membránu

Mastné kyseliny jsou přes buněčné membrány transportovány dvojím mechanismem, nesaturatelným a saturatelným. První mechanismus (nesaturatelný) je prostá difúze založená na volném průchodu FA biomembránou na základě rozdílné koncentrace (koncentrační gradient) na obou stranách biomembrány a uplatňuje se více při vyšší koncentraci. Druhý mechanismus (saturatelný) je facilitovaná (usnadněná) difúze, která je také poháněna koncentračním gradientem pro FA napříč biomembránou, nicméně FA nepřecházejí přes membránu volně jako při prosté difúzi, ale jsou k tomu potřeba transportní proteiny. Existuje několik transportních proteinů pro FA, tzv. FAT/CD 36 (fatty acid translocase) a FABP (fatty acid binding protein). Proteiny FABP jsou využívány při transportu FA do buňky, dále mohou sloužit při jejich intracelulárním skladování či zajišťují

transport FA na místo určení. Po vstupu FA do buňky vznikají jejich thioestery působením acyl-CoA syntetáz a vzniklé acyl-CoA můhou být dále metabolizovány oxidací nebo reesterifikací.

2.1.5 Metabolismus mastných kyselin

2.1.5.1 Katabolismus mastných kyselin

Hlavní katabolickou dráhou FA je β -oxidace. β -oxidace se odehrává převážně v mitochondriích buněk různých tkání, neprobíhá v erythrocytech a mozku, z malé části probíhá i v peroxizomech. Jedná se o děj, ve kterém je molekula FA postupně degradována na dvouuhlíkaté štěpy v podobě acetyl-CoA; ten je zapojen v dalších metabolických cyklech. Mastné kyseliny v cytosolu jsou nejprve aktivovány na acyl-CoA enzymem acyl-CoA syntetázou za spotřeby dvou molekul adenosintrifosfátu (ATP). Vnitřní mitochondriální membrána je však pro acyl-CoA nepropustná (acyl je FA s délkou řetězce C12-18), proto je k dispozici tzv. karnitinový člunek. Na vnější mitochondriální membráně se nachází enzym karnitinacyltransferáza I, který katalyzuje přenos acylové skupiny z acyl-CoA na karnitin za vzniku acylkarnitinu. Pro acylkarnitin existuje transportní protein na vnitřní mitochondriální membráně, který jej výměnou za karnitin přenesse na vnitřní stranu vnitřní mitochondriální membrány. Tam je umístěna karnitinacyltransferáza II, která přenáší acylovou skupinu z acylkarnitinu zpět na CoA za vzniku acyl-CoA, který nyní může vstoupit do metabolických reakcí β -oxidace. Mastné kyseliny s krátkým řetězcem přecházejí přes mitochondriální membránu volně a ke své translokaci karnitinový člunek nepotřebují. Vlastní β -oxidace je čtyřsložkový děj. První reakcí je dehydrogenace katalyzovaná acyl-CoA-dehydrogenázou využívající flavoprotein flavinadenindinukleotid (FAD) jako akceptor elektronů. Redukovaná forma, FADH_2 , předává elektrony flavoproteinu ETF (electron-transferring flavoprotein), který je součástí dýchacího řetězce. Touto reakcí vzniká trans-enoyl-CoA, který je hydratován za katalýzy enzymu enoyl-CoA hydratázy a vzniká 3-hydroxyacyl-CoA. 3-hydroxyacyl-CoA je dehydrogenován pomocí hydroxyacyl-CoA dehydrogenázy za vzniku ketoacyl-CoA a $\text{NADH}+\text{H}^+$. Tento produkt je thiolyticky štěpen za účasti ketoacyl-CoA-thiolázy na acetyl-CoA a acyl-CoA, který je kratší o dva uhlíkové atomy. Tento proces probíhá ve spirále, dokud není metabolizován celý řetězec FA o sudém počtu uhlíkových atomů. Např. pro stearoyl-CoA (C18) proběhne cyklus osmkrát. Mastné kyseliny s lichým počtem uhlíkových atomů jsou metabolizovány stejným mechanismem až ke vzniku tříuhlíkatého zbytku propionyl-CoA. Propionyl-CoA je přeměněn na sukcinyl-CoA a metabolizován v dalších cyklech (citrátový cyklus). Jsou známy poruchy mitochondriální i peroxizomální β -oxidace. Mezi

mitochondriální poruchy se řadí především deficiencie enzymů (např. karnitin-acylkarnitin translokáza, karnitin-palmitoyl transferáza 1 a 2, acyl-CoA-dehydrogenázy pro SCFA, MCFA, VLCFA) (Wanders et al, 2010). Mezi peroxizomální poruchy řadíme např deficienci acyl-CoA-oxidázy, D-bifunkčního proteinu, X-vázanou adrenoleukodystrofií, velmi raritní deficienci sterol-přenášejícího proteinu x a 2-methylacyl-CoA-racemázy (Wanders et al, 2010).

Minoritními cestami odbourávání FA jsou α - a ω -oxidace. α -oxidace je děj odehrávající se v peroxisomech, při kterém se odbourávají rozvětvené FA s postranními metylovými skupinami (např. kyselina fytanová). Iniciálně je hydroxylován α -uhlíkový atom, poté proběhne dekarboxylace za vzniku aldehydu o jeden uhlíkový atom kratšího, který je posléze oxidován na karboxylovou kyselinu, která již nemá substituent na β -uhlíkovém atomu a může být podrobena obvyklé β -oxidaci. Při geneticky podmíněné deficienci fytanoyl-CoA hydroxylázy vzniká Refsumova choroba charakterizovaná především těžkými neurologickými příznaky zapříčiněnými vysokými hladinami kyseliny fytanové. Toto je v současné době jediná známá enzymatická porucha α -oxidace (Wanders et al, 2010).

Druhou minoritní dráhou degradace FA je ω -oxidace, která probíhá v endoplasmatickém retikulu. Při tomto ději dochází k oxidaci ω -uhlíkového atomu za vzniku dikarboxylových kyselin, které jsou dále odbourávány reakcemi β -oxidace. Tato minoritní dráha nabývá u savců na významu při defektu β - i α -oxidace, aby se zabránilo hromadění nedostatečně odbourávaných FA (Miura, 2013, Wanders et al., 2010).

2.1.5.2 Biosyntéza mastných kyselin

Biosyntéza FA probíhá především v játrech a tukové tkáni. Jedná se o sled biochemických reakcí, které nejsou prostým obrácením degradačního procesu FA β -oxidací. Biosyntéza FA probíhá v cytosolu na rozdíl od β -oxidace probíhající v mitochondriích. Odlišná kompartmentalizace těchto dvou pochodů je důležitá pro jejich přesnou regulaci. Biochemické reakce syntézy FA jsou katalyzovány multifunkčním enzymovým systémem, který se nazývá syntáza mastných kyselin. Biosyntéza FA vychází z acetyl-CoA (dvouuhlíkatý prekurzor) a malonyl-CoA (tříuhlíkatý prekurzor). V reakcích se spotřebovávají molekuly ATP, jako redukční činidlo se uplatňuje NADPH, narozdíl od NADH vznikajícího během β -oxidace, což je důležité pro regulaci syntézy FA. První nezbytnou reakcí je karboxylace acetyl-CoA katalyzovaná klíčovým enzymem syntézy FA acetyl-CoA karboxylázou, jejíž součástí je biotin. Acetyl-CoA karboxyláza je regulována několika metabolity a látkami hormonální povahy. Citrát je alosterickým aktivátorem,

palmitoyl-CoA; jako koncový produkt reakcí je naopak alosterickým inhibítozem. Acetyl-CoA karboxyláza je aktivní v defosforylovaném stavu a neaktivní ve fosforylovaném stavu, acetyl-CoA karboxyláza je fosforylována působením AMP-kinázy a defosforylována působením inzulínu (aktivací proteinfosfatáz). Karboxylací acetyl-CoA vzniká malonyl-CoA, který je přenesen na SH-skupinu 4-fosfopantotheinu části syntázy FA zvané acyl carrier protein (ACP). Na SH skupinu cysteinového zbytku syntázy FA je přenesen acetyl-CoA. V dalších reakcích dochází k přenosu acetylu (později acylu) na malonyl a následně k dekarboxylaci a vzniku 3-ketoacylu. 3-ketoacyl je redukován $\text{NADPH} + \text{H}^+$ na 3-hydroxyacyl. Dalším krokem je dehydratace 3-hydroxyacylu za vzniku 2,3-enoylu; ten je následně redukován na acylový zbytek a tento děj se cyklicky opakuje 7x do vzniku palmitoylového zbytku, který je působením thioesterázy uvolněn ze syntázového komplexu. Palmitová kyselina je tudíž koncovým produktem syntézy FA v savčích buňkách. Pro vznik dalších FA jsou důležité reakce elongace a desaturace.

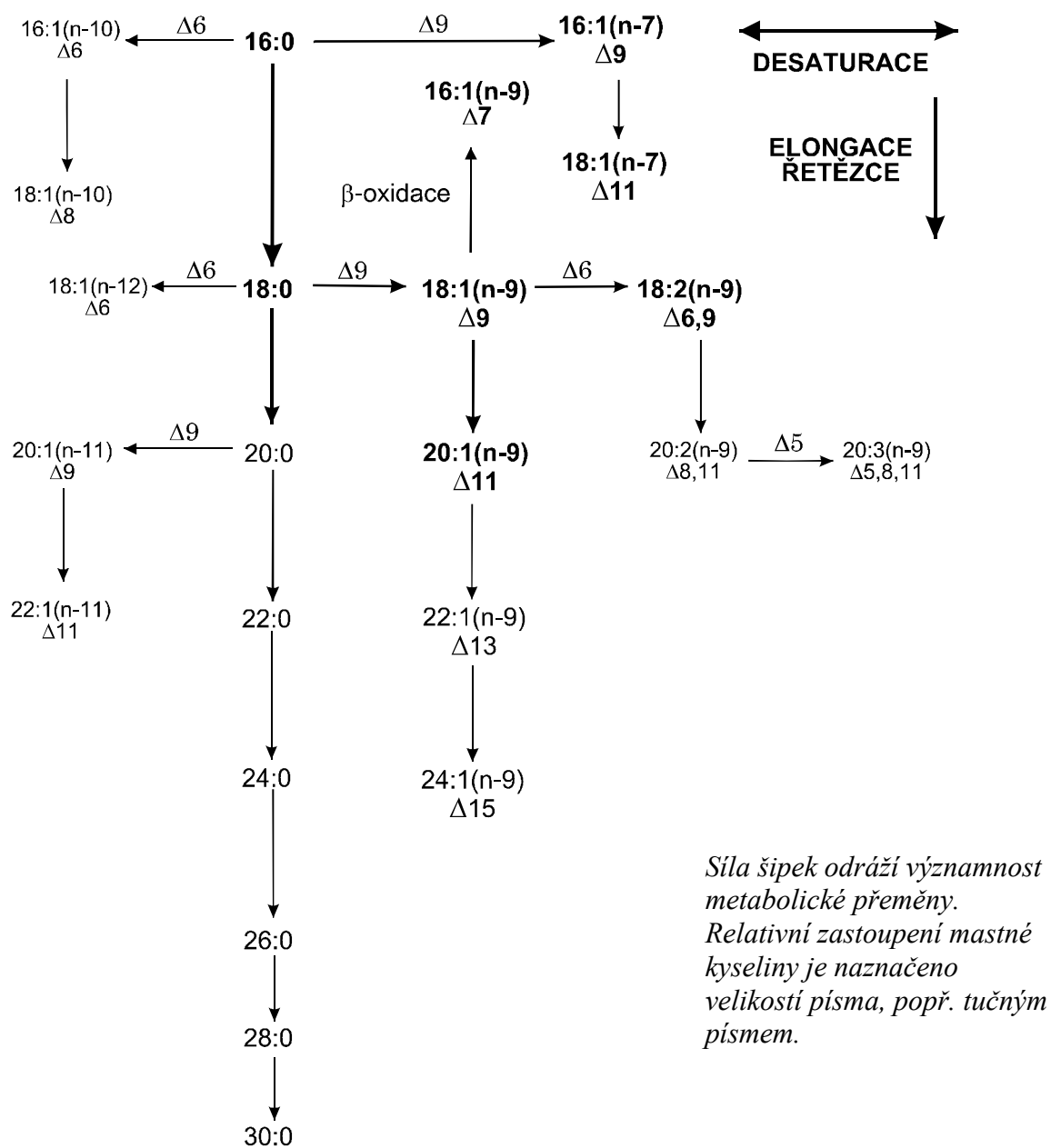
Biosyntéza FA (lipogeneze) je regulována několika mechanismy. Je známo, že rychlost lipogeneze závisí na nutričním stavu organismu. Přebytek sacharidů v potravě vede ke zvýšení její rychlosti a vytvoření energetických rezerv pro případ kalorického deficitu. Syntéza FA je regulována krátkodobými a dlouhodobými mechanismy. Mezi krátkodobé mechanismy patří allosterická a kovalentní modifikace enzymů účastnících se lipogeneze. Dlouhodobé mechanismy jsou založeny na změně exprese genů ovlivňujících lipogenezi. Nejdůležitějším enzymem regulace lipogeneze je acetyl-CoA-karboxyláza, která je allostericky aktivována citrátem, jehož koncentrace se zvyšuje po jídle při přísunu glukózy. Acetyl-CoA-karboxyláza je zpětnovazebně inhibována acyl-CoA. Aktivita tohoto enzymu je též regulována fosforylací a defosforylací prostřednictvím inzulínu, adrenalinu a glukagonu. Inzulin hraje v regulaci syntézy FA důležitou roli a působí mnoha mechanismy. Inzulin stimuluje aktivitu acetyl-CoA karboxylázy, zvyšuje transport glukózy do buňky a dostupnost pyruvátu a glycerol-3-fosfátu. Působení hormonů jako je inzulin navozuje i zvýšenou expresi genů zodpovědných za biosyntézu FA.

2.1.5.3 Elongace a desaturace mastných kyselin

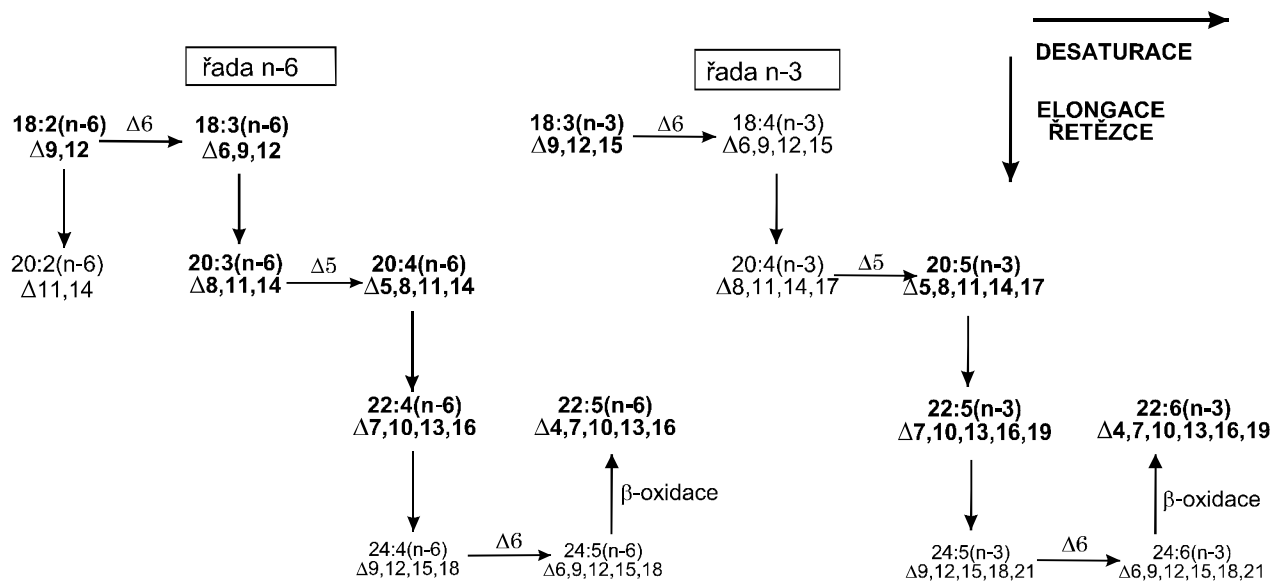
Kyselina palmitová syntetizovaná *de novo* nebo potravou přijímané FA mohou být dále metabolizovány procesy elongace a desaturace. K prodlužování (elongaci) dochází majoritně na strukturách endoplasmatického retikula za katalýzy enzymů zvaných elongázy FA. Tyto enzymy prodlužují řetězec FA vždy o dva uhlíkové atomy. Jako substráty jsou využity acyl-CoA a malonyl-CoA, NADPH slouží jako redukční činidlo. Příkladem

důležitosti elongačních dějů ve fyziologii může být například elongace kyseliny stearové vedoucí k tvorbě FA o délce C22-24 v mozku během procesu myelinizace. Existuje i minoritní dráha elongace FA probíhající v mitochondriích, která využívá acetyl-CoA a jejíž úloha je dosud nejasná. Biosyntéza nenasycených FA je u savců limitována možností savčích enzymatických systémů zavádět první dvojnou vazbu pouze do úrovně uhlíkového atomu C9. Vznik nenasycených FA se děje procesem desaturace, jak ukazuje následující přehled na Obr. 2. Účastní se ho nehemové enzymy obsahující železo, tzv. smíšené oxidázy, zvané acyl-CoA desaturázy. Savčí desaturázy jsou schopny zavádět dvojnou vazbu v polohách C4, C5, C6 a C9. Jsou označovány Δ 4-, Δ 5-, Δ 6- a Δ 9-desaturázy. V rostlinách jsou přítomny i desaturázy Δ 12 a Δ 15 a jsou zdrojem esenciálních FA (EFA). Desaturázy využívají cytochrom b5 a cytochrom-b5-reduktázu+NADPH+H⁺. Tento systém nedokáže vytvořit FA řady n-3 a n-6. Kyselinu linolovou (n-6) a α -linolenovou (n-3) lidský organismus přijímá potravou, proto jsou také nazývány jako esenciální FA (EFA). Exogenně získanou kyselinu linolovou dokáže lidský metabolismus cestou elongace a desaturace přeměnit v biologicky významnou prekurzorovou molekulu kyselinu arachidonovou (kyselina *cis*-5,8,11,14 eikosatetraenová). Přehled elongace a desaturace EFA ukazuje Obr. 3. Desaturací a elongací kyseliny olejové vzniká Meadova kyselina (20:3 n-9), která je buňkami syntetizována pouze v případě nedostatku esenciálních mastných kyselin z důvodu zachování fluidity biomembrán (Mead, 1958). Mastné kyseliny v jednotlivých metabolických řadách mají odlišnou afinitu k enzymům i schopnost inhibovat desaturázy (v poměru FA n-3 : FA n-6 : FA n-9 ~ 10 : 3 : 1).

V poslední době je v literatuře hojně diskutována úloha stearyl-CoA desaturázy (SCD). Tento enzym katalyzuje biosyntézu MUFA a preferovanými substráty jsou palmitoyl- a stearyl-CoA, které jsou přeměňovány na palmitoleoyl- a oleoyl-CoA (Chad et al., 2009). Mononenasycené FA se účastní mnoha dějů včetně signální transdukce, buněčné diferenciaci (Bradley et al. 2008, Yonezawa et al., 2008), regulace příjmu potravy (působení kyseliny olejové v mozku, Obici et al., 2002). Velmi důležitým poznatkem je také to, že se MUFA účastní regulace apoptózy a procesu mutagenese v některých nádorech (Hardy et al., 2000). Kyselina palmitolejová produkovaná tukovou tkání hraje důležitou roli jako tzv. lipokin regulující celotělový lipidový metabolismus (Cao et al., 2008). Z výše uvedených faktů vyplývá, že SCD, zvláště izoforma označená jako SCD-1, může být důležitým terapeutickým cílem léčby metabolických chorob, diabetu, obezity ale i onkologických onemocnění (Chad, et al., 2009).



Obrázek 2: Metabolické přeměny mastných kyselin nasycených a nenasycených řady n-9



Obrázek 3: Metabolické přeměny vícenenasycených mastných kyselin řady n-6 a n-3

Síla šipek odráží významnost metabolické přeměny. Relativní zastoupení mastné kyseliny je naznačeno velikostí písma, popř. tučným písmem.

2.1.6 Mastné kyseliny jako strukturální komponenty lipidů

Jednoduché lipidy jsou estery mastných kyselin a alkoholů - cholesterolu, glycerolu, sfingosinu a jejich derivátů. Podle typu báze jsou rozlišovány následující lipidové třídy (Tvrzická et al., 2011):

- glycerol – monoacylglyceroly, diacylglyceroly, triacylglyceroly
- alkohol – vosky
- cholesterol – cholesterol estery
- alkenylglycerol – etherlipidy
- fosfoglycerol – glycerofosfolipidy
- glycerylhexosid – glyceroglykolipidy
- sfingosin – ceramidy
- fosfosfingosin – sfingo fosfolipidy
- glykosfingosin – glykosfingolipidy

V krvi jsou FA transportovány buď ve formě lipoproteinových částic, které se skládají z esterů cholesterolu a triacylglycerolů v nepolárním jádru a z fosfatidylcholinu, sfingomyelinu a volného cholesterolu v polárním obalu. Neesterifikované mastné kyseliny jsou v plasmě vázány na albumin.

2.1.7 Klasifikace a biologické funkce

Mastné kyseliny jsou na základě své struktury děleny do několika skupin. Každá

skupina má svou specifickou chemickou strukturu, která je zodpovědná za fyziologické a biologické funkce. Podle délky řetězce dělíme FA na mastné kyseliny s krátkou délkou uhlíkového řetězce, střední délkou uhlíkového řetězce a s dlouhým uhlíkovým řetězcem. Další dělení FA je založeno na přítomnosti či nepřítomnosti nenasyčených vazeb. Mastné kyseliny bez nenasyčených vazeb jsou označeny jako nasycené FA (saturated fatty acids, SFA). Mastné kyseliny s jednou nenasyčenou (dvojnou) vazbou jsou mononenasyčené (monoenové) FA (monounsaturated fatty acids, MUFA). Mastné kyseliny s více dvojnými vazbami jsou vícenenasyčené (polyenové) FA (polyunsaturated fatty acids, PUFA), které se dělí do podskupin n-3 a n-6 podle polohy poslední dvojné vazby k ω uhlíkovému atomu řetězce FA.

2.1.7.1 Nasycené mastné kyseliny

Nasycené FA (saturated fatty acids, SFA) jsou děleny podle délky řetězce do čtyř podskupin: 1. podskupina jsou SFA s krátkým uhlíkovým řetězcem (short chain fatty acids, SCFA) s počtem uhlíkových atomů 2 až 4, 2. podskupina jsou SFA se střední délkou uhlíkového řetězce (medium chain fatty acids- MCFA) s počtem uhlíkových atomů 6-10, 3. podskupinu tvoří SFA s dlouhým uhlíkovým řetězcem (long chain fatty acids, LCFA) zahrnující FA s délkou řetězce o 12-18 uhlíkových atomech a poslední 4. podskupina je tvořena SFA s velmi dlouhým uhlíkovým řetězcem (very long chain fatty acids, VLCFA) s počtem uhlíkových atomů 20-30.

Do skupiny SCFA patří kyselina octová (C 2), propionová (C 3) a máselná (C 4). Nasycené FA vznikají během fermentačních procesů v tlustém střevě a jsou po resorbci portálními řečišti transportovány do jater. V hepatocytech je kyselina octová využita k syntéze FA s delším uhlíkovým řetězcem a kyselina propionová je přeměněna na glukózu. Tyto děje dokáží pokrýt až 10-20% klidového energetického výdeje (resting energy expenditure, REE). Kyselina máselná je využita kolonocyty (množení buněk). Mastné kyseliny s krátkým řetězcem mají ve střevě mnoho dalších funkcí: podílí se na absorpci sodíku, bikarbonátu a vody, ovlivňují produkci gastrointestinálních hormonů a v neposlední řadě zvyšují aciditu obsahu tlustého střeva a tím zabraňují růstu saprofytických bakterií a brání procesům hnilobného rozkladu.

Do skupiny MCFA patří kyselina kapronová (C 6), kyselina kaprylová (C 8) a kyselina kaprinová (C 10). Nasycené FA se střední délkou uhlíkového řetězce jsou ze střeva resorbovány přímo do portální cirkulace. V nitru buněk není potřeba k jejich intramitochondriálnímu transportu karnitinového přenašeče. Stabilita vůči lipoperoxidaci i kratší biologický poločas těchto kyselin je využíván v nutriční podpoře; jsou součástí

triacylglycerolů tukových emulzí (medium-chain triacylglycerols, MCT). Je známo, že emulze obsahující MCFA potlačují pokles klidového energetického výdeje (resting energy expenditure, REE) během kalorické restrikce a jsou vhodné pro redukční dietní režim v léčbě obezity (Hainer et al., 1994).

Mezi SFA s dlouhým řetězcem (long chain fatty acids, LCFA) patří kyselina laurová (12:0), myristová (14:0), palmitová (16:0) a stearová (18:0). Tyto mastné kyseliny, představující 80-90% SFA přijímaných potravou, mají negativní patofyziologické účinky vzhledem k jejich aterogennímu a trombogennímu potenciálu. Rostlinným zdrojem těchto FA je především olej z kokosového ořechu, palmového jádra a kakaové máslo; živočišným zdrojem je máslo, vepřové sádlo a hovězí lůj (Tvrzická et al., 2011).

Pravidelná konzumace LCFA zvyšuje hladinu cholesterolu, především cholesterolu v lipoproteinu o nízké hustotě (low density lipoprotein-cholesterol, LDL-C), který má významný aterogenní potenciál a je dáván do souvislosti se zvýšenou úmrtností na ischemickou chorobu srdeční (ICHS). Účinek jednotlivých FA na vzrůst koncentrací LDL-C klesá v řadě 12:0 > 14:0 > 16:0, účinek na pokles koncentrací cholesterolu v lipoproteinu o vysoké hustotě (high density lipoprotein-cholesterol, HDL-C), v řadě 14:0 > 12:0 > 16:0. Kyselina stearová má neutrální účinek na koncentrace LDL-C a zvyšuje koncentrace HDL-C, jehož účinek je považován za antiaterogenní. Její trombogenní účinek je naopak považován za nejvyšší. Význam zvýšeného obsahu SFA v membránových raftech nebyl dosud zcela objasněn.

Nasycené FA s velmi dlouhým uhlíkovým řetězcem (very long chain fatty acids, VLCFA) zahrnují kyselinu arachovou (20:0), kyselinu behenovou (22:0), kyselinu lignocerovou (24:0), kyselinu cerotovou (26:0), kyselinu montanovou (28:0) a kyselinu mellisovou (30:0). V lidském organismu jsou tyto FA ve vyšších koncentracích obsaženy pouze u metabolických chorob spojených s poruchou peroxizómů, např. Refsumova choroba, Zellwegerův syndrom atd. (Martinez, 2000, Crane, 2014).

2.1.7.2 Mononenasyčené mastné kyseliny

Mononenasyčené FA jsou FA s jednou dvojnou vazbou. Dvojná vazba v MUFA je buď v cis anebo v trans konfiguraci. Mezi MUFA s dvojnou vazbou v cis konfiguraci patří kyseliny palmitolejová (16:1n-7), vakcenová (18:1n-7) a olejová (18:1n-9), jež jsou hlavními zástupci, a dále kyseliny přítomné v organismu v minoritním zastoupení jako kyselina myristolejová (14:1n-5), gondoová (20:1n-9), eruková (22:1n-9) či nervonová (24:1n-9). Exogenní cestou se do organismu dostávají kyselina gadolová (20:1n-11) či cetolová (22:1n-

11). Kyselina olejová patří mezi v dietě hojně přijímané MUFA s dvojnou vazbou v konfiguraci cis; je hlavní součástí olivového a kultivovaného řepkového oleje, poněkud nižší obsah kyseliny olejové je v palmovém oleji atd. (Tvrzická et al., 2011). Kyselina olejová vykazuje antitrombotické a antiaterogenní vlastnosti. Jako jedna z majoritních součástí triacylglycerolů, fosfolipidů a esterů cholesterolu lipoproteinových částic zvyšuje jejich odolnost vůči lipoperoxidaci Kyselina olejová ovlivňuje příznivě antiaterogenní poměr HDL-C/LDL-C tím, že zvyšuje hladinu HDL-C a snižuje hladinu LDL-C a TAG, dále upravuje inzulinovou rezistenci. Příjem tuků nemá přesáhnout 30 energetických % (Riccardi et al., 2004).

Kyselina eruková (22:1n-9) představuje negativně působícího zástupce MUFA s dvojnou vazbou v cis konfiguraci. Je hojně zastoupena v oleji nekultivované řepky olejné (*Brassica campestris*) (Tvrzická et al., 2011). Negativní působení kyseliny erukové spočívá v její kardiotoxicitě. Experimenty s laboratorními zvířaty ukázaly depozita tuku následované lezemi myokardu. Tyto nálezy daly podnět k vypěstování tzv. bezerukové řepky, kde je obsah kyseliny erukové minimální. Konzumace oleje s vyšším obsahem kyseliny erukové měla u pacientů s adrenoleukodystrofií pozitivní účinky na fluiditu membrán krevních destiček, ale negativní účinky na myokard je třeba mít rovněž na zřeteli (Stöckler et al., 1997).

Mezi MUFA s dvojnou vazbou v trans konfiguraci patří kyselina elaidová (18:1n-9) a trans-vakcenová (18:1n-7). Mononenasyčené FA s dvojnou vazbou v trans konfiguraci jsou pro lidský organismus exogenními a působí vesměs negativně, hlavně aterogenně. Zdrojem MUFA s dvojnou vazbou v trans konfiguraci je průmyslové ztužování tuků (hydrogenace za katalýzy kovy) a trávicí pochody v zažívacím traktu přežvýkavců za účasti bakteriálních enzymů. Kyselina elaidová je přijímána v margarínech, kyselina trans-vakcenová je obsažena v másle a dalších mléčných výrobcích (Tvrzická et al., 2011). Hydrogenované tuky obsahující trans MUFA jsou těž součástí produktů rychlého občerstvení. Aterogenní působení trans MUFA spočívá ve zvýšení hladiny LDL-C a snížení hladiny HDL-C, které je vyšší než po působení SFA. Je diskutován možný rozdílný účinek v působení mezi trans MUFA, které vznikly průmyslovým ztužováním tuků a těmi, které vznikly v zažívacím traktu přežvýkavců a do lidského organismu se dostávají cestou mléčných výrobků. Trans MUFA mají negativní účinky na rozvoj kardiovaskulárních a onkologických onemocnění. Zvyšují koncentrace LDL cholesterolu a na rozdíl od SFA nezvyšují protektivně působící HDL cholesterol. Brouwer a spolupracovníci (2010) popisují, že dvojná vazba v konfiguraci trans zvyšuje poměr LDL-C vůči HDL-C a nezávisle na tom, z jakého zdroje pochází. Působením trans MUFA dochází i k vzestupu triacylglycerolémie, inzulinémie, CRP, což vede k rozvoji proinflamatorního

stavu, metabolického syndromu, viscerální obezity a diabetes mellitus (Lichtenstein, 2014). Zvýšený přísun trans nenasycených FA se může podílet i na riziku vzniku některých malignit, např. karcinomu prsu, epitelálního karcinomu ovárií (Chajès et al., 2008, Merrit et al., 2014). Studie hodnotící vztah zvýšené konzumace trans MUFA a rizika vzniku kolorektálního karcinomu, karcinomu prostaty a pankreatu dokládají zatím inkonzistentní výsledky (Laake et al., 2013).

2.1.7.3 Vícenenasycené mastné kyseliny

Vícenenasycené mastné kyseliny neboli PUFA (polyunsaturated fatty acids) jsou FA obsahující v molekule více dvojných vazeb. Dělí se do několika řad. Lidský organismus dokáže syntetizovat *de novo* PUFA řady n-9, které jsou označovány jako endogenní. Výchozí PUFA řady n-6 a n-3 musí být suplementovány zvenčí, protože buňky savců nedisponují příslušnými desaturázami. Jedná se tedy o exogenní původ FA. Z mateřských PUFA n-6 a n-3 dokáží buňky cestou elongace a desaturace syntetizovat delší PUFA řady n-6 a n-3. Vícenenasycené FA řady n-6 a n-3 mají pleiotropní metabolické a patofyziologické účinky.

Výchozí (mateřskou) kyselinou PUFA řady n-6 je kyselina linolová (LA, 18:2n-6), jejími metabolickými produkty jsou kyselina γ -linolenová (GLA, 18:3n-6), dihomogamma-linolenová (DHGLA, 20:3n-6) a arachidonová (AA, 20:4n-6), dále i kyselina adrenová (22:4n-6) a dokosapentaenová (22:5n-6). Vysoký obsah vícenenasycených FA řady n-6 (> 60%) má např. olej sojový, slunečnicový a brutnákový. Nižší obsah (40-50 %) má olej z pšeničných klíčků, kukuřice, vlašských ořechů a sezamu (Tvrzická et al., 2011). Vícenenasycené FA řady n-6 aktivují receptory aktivované peroxizomovými proliferátory (peroxisome proliferator activated receptor, PPAR, $\gamma > \alpha$). Prostřednictvím aktivace těchto receptorů stimulují syntézu cholesterolu, zvyšují aktivitu LDL-receptorů a cholesterol 7 α -hydroxylázy (Cyp 7A1) a snižují přeměnu VLDL na LDL. Suplementace PUFA n-6 vede k poklesu celkového, LDL a HDL cholesterolu, ale i ke zvýšené oxidaci a oxidabilitě LDL lipoproteinových částic. Vícenenasycené FA řady n-6 prostřednictvím PPAR- γ zvyšují inzulinovou senzitivitu, mění distribuci tuku a velikost adipocytů. V neposlední řadě je kyselina arachidonová (20:4n-6) prekurzorem významné skupiny eikosanoidů (prostaglandinů a thromboxanů 2. série a leukotrienů 4. série).

Výchozí (mateřskou) kyselinou PUFA řady n-3 je kyselina α -linolenová (ALA, 18:3n-3), mezi její hlavní metabolické produkty patří kyseliny eikosapentaenová (EPA, 20:5n-3) a dokosahexaenová (DHA, 22:6n-3). Zdrojem kyseliny α -linolenové jsou semena a listy

některých rostlin, např. sojové boby, lněné semeno a listy brutnáku (Tvrzická et al., 2011). Vícenasycené FA n-3 jsou v organismu inkorporovány do membránových fosfolipidů, kde tvoří méně jak 10% z celkového obsahu FA a kde jsou součástí membránových lipidových raftů. Ty jsou lokalizovány na vnější straně membránové dvojvrstvy a mají mnoho důležitých funkcí. V lidském těle jsou EPA a DHA exogenního původu především z mořských organismů, protože u nich je konverze ALA na její metabolity s 20-22 uhlíkovými atomy podstatně efektivnější (Brenna, 2002). DHA a některé další FA jsou obsaženy v nervové tkáni a retině, kde je zvyšována efektivita procesu vidění interakcí membránově vázané DHA s rhodopsinem (Grossfield et al., 2006); mezi další funkce PUFA řady n-3 patří např. účast v signální transdukcí, pravděpodobně regulací G-proteinu (Simopoulos, 2008).

Vícenasycené FA řady n-3 fungují také jako ligandy PPAR- α a tím mají mnoho pleiotropních metabolických účinků. Mezi účinky aktivace receptorů PPAR- α patří snížení lipogeneze a sekrece VLDL potlačením SREBP-1, zvýšení aktivity lipoproteinové lipázy (LPL), pokles koncentrace apo C-III a stimulace reverzního transportu cholesterolu. Působením PUFA n-3 dochází ke snížení triacylglycerolémie komplexním mechanismem, které je přímo úměrné dávce PUFA n-3. Uplatňuje se nejen snížená syntéza VLDL částic hepatocyty, snížená lipogeneze *de novo*, ale zvyšuje se i β -oxidace, snížený příjem neesterifikovaných FA játry a je upřednostněna syntéza fosfolipidů před triacylglyceroly (Mozaffarian a Wu, 2011). Je známo, že PUFA řady n-3 indukují expresi odpráhuječích proteinů (uncoupling proteins, UCP) a zvyšují denzitu mitochondrií pomocí β -oxidace FA ve svalech (Burdge 2004). Vícenasycené FA řady n-3 zasahují do imunitních dějů prostřednictvím stimulace uvolňování acylovaných proteinů z membránových raftů a v konečné fázi inhibují aktivitu T-lymfocytů (Calder, 2003).

2.1.7.4 Konjugované mastné kyseliny

Kyselina linolová (18:2n-6) je hlavní zástupce PUFA n-6. V její struktuře jsou dvě dvojně vazby v pentadienovém uspořádání, $\Delta 9,12$. Konjugovaná kyselina linolová (conjugated linoleic acid, CLA) má řadu geometrických izomerů s dvojnými vazbami v konfiguraci cis-cis, trans-trans, cis-trans nebo trans-cis, a izomerů s různými polohami dvojných vazeb v uhlíkovém řetězci, např. $\Delta 7,9$, $\Delta 8,10$, $\Delta 9,11$ atd. s možnými cis a trans konfiguracemi. Je zde konjugovaný systém dvojných vazeb, tj. pravidelné střídání jednoduché a dvojně vazby. Izomery CLA se vyskytují především v mléčných produktech a červeném masu. Největší složku denního příjmu CLA, až 80%, tvoří tzv. kyselina rumenová (Malpuech-Brugère et al., 2004), což je izomer cis-9, trans-11; dalšími izomery CLA jsou v tomto pořadí

výskytu: t7,c9>c11,t13>c8,t10>t10,c12 (Lawson et al., 2001). Původ kyseliny rumenové dokresluje i fakt, že vzniká desaturací kyseliny trans-vakcenové, která je hlavní trans MUFA vznikající v zažívacím traktu přežvýkavců a která se dominantně vyskytuje v mléčných produktech. Konjugované FA vykazují mnoho zajímavých biologických účinků. Mezi tyto účinky patří: 1) antioxidační účinky, 2) antikancerogenní účinky prokázané u hlodavců (Ip et al., 1999), 3) zvýšení intenzity energetického metabolismu a výdeje, 4) zvýšená lipolýza, snížená lipogeneze a adipogeneze, 5) zvýšení zánětlivé odpovědi (Wan Shen et al., 2013), 6) navození apoptózy (Miner et al., 2001). Biologicky aktivním izomerem CLA je izomer trans-10, cis-12, který podávaný ve směsi s izomerem cis-9, trans-11 v různých poměrech vede u hlodavců a prasat k úbytku tukové tkáně (Park et al., 1999, Azain et al., 2000, Gavino et al., 2000, Ostrowska et al., 2000). Směsi těchto dvou izomerů CLA jsou k dispozici jako potravinové doplňky s deklarovaným antiadipogenním účinkem. Klinické studie však ukazují, že podávání této směsi bez současného omezení energetického příjmu nevede k redukcii tělesné hmotnosti (Tvrzická et al., 2011).

2.1.7.5 Mastné kyseliny a biomembrány

Biomembrány plní mnoho důležitých biologických funkcí. Mezi něž řadíme základní strukturální funkci umožňující oddělení buňky od svého okolí či kompartmentalizaci vnitrobuněčných oddílů (organel) u eukaryotické buňky, dále specifické funkce vyplývající z přítomnosti proteinů (integrálních a periferních) s funkcí receptorů, enzymů, transporterů či iontových kanálů. Základem struktury biomembrán je dvojvrstva (bilayer) amfipatických molekul, ve které jsou zanořeny molekuly proteinů, cholesterolu atd. Amfipatické molekuly jsou z hlediska fyzikálně-chemických vlastností molekuly obsahující polární a nepolární části, které se v biomembráně spontánně orientují tak, aby nepolární části směřovaly do nitra membránové dvojvrstvy a polární části do vnějšího (polárního) prostředí. Těmto požadavkům vyhovují fosfolipidy, které jsou základními stavebními kameny biomembrán. V biomembránách se vyskytují glycerofosfolipidy i sfingolipidy (zvláště v nervové tkáni). Glycerofosfolipidy jsou odvozeny od kyseliny fosfatidové esterifikací dvou zbývajících hydroxylových skupin glycerolu mastnými kyselinami a esterifikací fosfátové skupiny aminoalkoholy (cholin, ethanolamin), aminokyselinou serinem či cukerným alkoholem inositolem. Mastné kyseliny jako nepolární "ocas" směřují dovnitř lipidové dvojvrstvy a polární "hlava" tvořená fosfátovým zbytkem s navázaným cholinem, ethanolaminem, serinem, inositolem směřuje vně biomembrány. Poměrné zastoupení jednotlivých glycerofosfolipidů je asymetrické ve vnější a vnitřní části lipidové dvojvrstvy. Např.

fosfatidylserin je hojný ve vnitřní polovině dvojvrstvy a pokud se jeho obsah zvýší i ve vnější polovině lipidové dvojvrstvy, dojde buď ke změně biologických funkcí buněk (agregace trombocytů) nebo je to signál apoptotické buňky k její fagocytóze. Složení FA v biomembránách zahrnuje nasycené i nenasycené FA. Poměr zastoupení nasycených a nenasycených FA v biomembráně významně ovlivňuje její funkce. Přítomnost nenasycené FA s dvojnou vazbou v konfiguraci cis, ohýbající řetězec o 60°, způsobuje zmenšení intermolekulárních van der Waalsových interakcí, což zvyšuje fluiditu biomembrány. Při změně fluidity dochází i ke změně propustnosti a ostatních funkcí. Fluidita biomembrán je snížena přítomností cholesterolu a nasycených FA či nenasycených FA s dvojnou vazbou v trans- konfiguraci. Mastné kyseliny s dlouhým řetězcem jako jsou kyselina myristová a kyselina olejová plní funkci kotvy periferních proteinů v lipidové dvojvrstvě; FA jsou na proteiny navázány kovalentně.

2.1.7.6 Mastné kyseliny a struktura intracelulárních druhých poslů

Pro převod signálů dovnitř buňky se uplatňuje systém tzv. druhých poslů (second messengers), mezi které patří např. cyklický adenosinmonofosfát (cAMP), cyklický guanosinmonofosfát (cGMP), ionty kalcia, oxid dusnatý, inositoltrisfosfát a diacylglycerol (DG). Některé signální molekuly po vazbě na membránový receptor aktivují fosfolipasu C, která hydrolyzuje fosfatidylinositol 4,5-difosfátu (PIP2) přítomný v membráně na fosfatidylinositol 1,4,5-trifosfát (PIP3) a diacylglycerol DG, působící jako druzí poslové. Aktivita diacylglycerolu může být ovlivněna FA, které pocházejí z prostředního (sn-2) uhlíkového atomu glycerolu fosfatidylcholinu.

2.1.7.7 Prekurzory eikosanoidů a substrát pro lipoperoxidaci

Eikosanoidy patří mezi regulační molekuly, které jsou přítomny u většiny forem života. Eikosanoidy patří mezi faktory s autokrinním či parakrinním účinkem, což znamená, že působí na buňky, ve kterých jsou syntetizovány, ale i na přilehlé buňky prostřednictvím receptorů 7TM. Název eikosanoidy pochází z řeckého “eikosi” = dvacet, protože obsahují 20 uhlíkových atomů v molekule. Mezi nejvíce prostudované třídy eikosanoidů patří prostaglandiny (PG), thromboxany (TX) a leukotrieny (LT) (Smith, 2008).

Enzymy prostaglandin- a thromboxan-syntetázy katalyzují první krok metabolického procesu vedoucího přes endoperoxidy PGG₂ a PGH₂ k prostacyklinu PG a TX, sestávají z cyklooxygenázy (COX) a hydroperoxidázy. Ve farmakologii velmi dobře známým inhibitorem COX je kyselina acetylsalicylová, jež je užívána jako protizánětlivý i

antitrombotický lék, stejně jako další tzv. nesteroidní protizánětlivé léky (nonsteroidal antiinflammatory drugs, NSAID). Nesteroidní protizánětlivé léky ireverzibilně blokují syntézu eikosanoidů a ovlivňují tak řadu patofyziologických reakcí jako inhibice zánětu, potlačení horečky a bolesti či antiagregační účinky.

Mezi účinky prostaglandinů patří stimulace inflamatorních dějů, regulace krevního průtoku jednotlivými orgány, modulace synaptické transmise či indukce spánku. Tromboxany jsou známými vazokonstriktory a stimulují agregaci krevních destiček. Tromboxan A₂, který je produkován trombocyty má protrombotické vlastnosti tím, že stimuluje aktivaci trombocytů i jejich agregaci. Index u zkratky PG a TX představuje počet dvojných vazeb v molekule, zbývající dvojně vazby prekursoru jsou využity pro tvorbu cyklo- nebo oxy-derivátů.

Endogenním eikosanoidem vážícím se na specifické kanabinooidní receptory v mozku je anadamid, což je chemicky arachidonyl ethanolamid (Tvrzická et al., 2011).

Lipoxygenáza (LOX) katalyzuje reakci metabolického procesu vedoucího k leukotrienům. Název leukotrien je odvozen od faktu, že leukotrieny byly poprvé objeveny v leukocytech, a že obsahují 3 konjugované dvojně vazby (Smith, 2008).

Prekurzory eikosanoidů jsou PUFA odštěpené z sn-2 atomu uhlíku glycerolu fosfolipidů, jmenovitě AA, EPA a DHGLA. Metabolismus eikosanoidů je schematicky znázorněn na Obr. č. 1 a v Tab. č. 1 jsou uvedeny produkty přeměny důležitých PUFA.

Tab. 1 Eikosanoidy

FA	Eikosanoidy	
	cyklooxygenáza	5-lipoxygenáza
AA - 20:4n-6	PG a TX série 2	leukotrieny série 4
EPA 20:5n-3	PG a TX série 3	leukotrieny série 5
DHGLA 20:3n-6	PG a TX série 1	leukotrieny série 3

AA-kyselina arachidonová, EPA-kyselina eikosapentaenová, DHGLA-kyselina dihomogamalinolenová, PG-prostaglandin, TX-tromboxan

Metabolická dráha vedoucí k jednotlivým třídám eikosanoidů vede od odštěpení FA působením fosfolipázy A₂, přes transformaci působením COX typu 1 a 2 na PG a TX, a pomocí LOX typu 5, 8, 12 a 15 na LT a kyseliny hydroxyeikosatetraenovou (HETE), hydroperoxyeikosatetraenovou (HPETE) a hydroxyeikosapentaenovou (HEPE). Některé trihydroxy deriváty EPA se nazývají lipoxiny (LX) nebo resolviny (Rv). Substráty lipoperoxidace mohou být i kyselina linolová, eikosadienová (20:2n-6), Meadova (20:3n-9) a dokosaheptaenová.

Mezi markery lipoperoxidace kyseliny linolové patří kyseliny 9- a 13-hydroxy oktadekadienová (9-HODE and 13-HODE), kyselina 13-keto-oktadeka-9,11-dienová (13-OXO) a kyselina 13-hydroperoxy oktadekadienová (13-HPODE), které jsou významnými složkami oxidovaných LDL a účinnějšími aktivátory NFκB než 13-HODE. Dalšími významnými markery lipoperoxidace jsou malondialdehyd (MDA), 4-hydroxy-nonenal a F2-izoprostany.

Mastné kyseliny s 20 uhlíkovými atomy mohou být neenzymaticky oxidovány na izoprostany a jsou sledovány jako pomocné markery oxidativního stresu. Cyklické sloučeniny odvozené z ALA, EPA a DHA se nazývají neuroprostany. Je známa rovněž tvorba noncyklických produktů nazývaných izoketaly (Praticò et al., 2001).

Reakce FA s molekulárním kyslíkem se uplatňují v destruktivních biologických pochodech. Autooxidační procesy FA vedou k tvorbě hydroperoxidů, včetně těch s cyklickou strukturou. Tyto však nejsou stabilní a reagují s karbonylovou skupinou za vzniku stabilnějších struktur. Některé z nich slouží jako markery oxidačního stresu (Haeggström a Wetterholm, 2002).

2.1.7.8 Acylace proteinů

Acylace proteinů patří ke způsobům kovalentní modifikace proteinů. Umožňuje jejich asociaci s biologickými membránami a tím zvýšení jejich strukturální stability, dále pak interakce protein/protein i katalytickou aktivitu (Resh, 1999). Při acylaci proteinů se uplatňuje modifikace kyselinou myristovou a kyselinou palmitovou. Je známo, že suplementace PUFA řady n-3 ovlivňuje prostřednictvím acylace proteinů funkci iontových kanálů v myokardu a zlepšuje elektrickou stabilitu, v konečném důsledku tak snižuje riziko náhlé kardiální smrti i fatálního infarktu myokardu (DART Study, Lyon Heart Study a GISSI Prevenzione Trial).

2.1.7.9 Signální funkce a modulátory genové transkripce

Mastné kyseliny mohou hrát roli jako ligandy membránových i nukleárních receptorů v rámci signalizačních mechanismů či ovlivňovat genovou transkripci. Například vliv FA (zvláště SFA) na uvolňování inzulínu z β-buněk Langerhansových ostrůvků může být aktivační (okamžité působení FA většinou podporuje uvolňování inzulínu), ale i inhibiční (trvale zvýšené hladiny FA negativně ovlivňují inzulínovou rezistenci).

Nenasycené FA s dlouhým řetězcem (C20-22) a jejich metabolity mohou působit jako ligandy nukleárních receptorů některých transkripčních faktorů (Tvrzická et al., 2011):

1) PPAR-α, PPAR-β/δ, PPAR-γ1 a PPAR-γ2

- 2) jaterních X receptorů (liver X receptors, LXR) typu α a β
- 3) jaterních nukleárních faktorů (hepatic nuclear factor, HNF) 4α
- 4) SREBP-1 a 2.

Transkripční faktory ovlivněné FA působí na sekvence DNA, které kódují geny metabolicky významných proteinů (enzymů, aktivátorů či inhibitorů lipidové a glukózové homeostázy, karcinogeneze, metabolismu tukové tkáně a dalších) (Lapillonne et al., 2004).

2.1.7.10 Ligandy receptorů

V přírodě jsou známy i amidové deriváty FA. U N-palmitoylethanolaminu, který byl nalezen v sóji či vaječném žloutku, bylo prokázáno působení jako protizánětlivého faktoru. Další amidy FA se mohou vázat na kanabinoidní receptory a v mozku tak ovlivňovat paměťové, pohybové, emocionální či nociceptivní procesy a mimo centrální nervový systém se podílet na modulaci imunokompetentních buněk. Etyl estery FA jsou produkty neoxidativního metabolismu etanolu. Jejich koncentrace je specifickým markerem chronického abúzu alkoholických nápojů. Tyto estery mohou být ligandy PPAR, transkripčních faktorů κB a aktivačního proteinu 1 (Hannuksela et al., 2007). Konečně, receptory pro faktor aktivující destičky (platelet activating factor, PAF), 1-O-alkyl-2-acetyl-sn-glycerol-3-fosfocholin, jsou vysoce specifické pro molekulu PAF, která obsahuje v sn-1 poloze glycerofosfocholinu etherovou vazbu a v sn-2 poloze zbytek krátké FA (Tvrzická et al., 2011).

2.1.7.11 Nereceptorové interakce mezi proteiny a mastnými kyselinami

Mastné kyseliny jako jsou kyselina olejová, palmitolejová nebo arachidonová jsou účinnými odpráhujícími prostředky na úrovni mezibuněčných iontových kanálů (*gap junction channels*) prostřednictvím změny interakce mezi lipidy a spojujícími proteiny buněk. Mastné kyseliny ovlivňují iontové kanály i přímo, např. kalciové kanály myocytů jsou přímo aktivovány PUFA s dlouhým řetězcem (Tvrzická et al., 2011). Některé interakce pravděpodobně zapříčiňují antiarytmické účinky PUFA řady n-3 (Lombardi a Terranova, 2007). Je známo ovlivnění i sodných iontových kanálů působením FA i draselných iontových kanálů (vliv DHA).

2.1.8 Základy patofyziologie mastných kyselin

Složení FA v buňkách a transportních lipoproteinových částicích je ovlivněno několika faktory, především geneticky (živočišným druhem a typem tkáně), dále dietním

příjmem, působením hormonů, teploty, radiace atd. Zmíněné faktory ovlivňují aktivity elongáz a desaturáz FA, které mají určující vliv na jejich konečné složení.

Řada patologických stavů jako jsou DM 2. typu, dyslipidémie, malnutrice, zánět a oxidační stres je charakterizována typickými změnami ve složení FA. Tyto změny spočívají ve zvýšení obsahu SFA a snížení obsahu PUFA. Vedle zvýšeného množství SFA nacházíme i zvýšení obsahu kyseliny palmitolejové, která je markerem liponeogeneze jako důsledek zvýšené aktivity $\Delta 9$ -desaturázy kyseliny palmitové, a snížený obsah kyseliny linolové v důsledku působení multifaktoriálních vlivů (snížený příjem, zvýšená peroxidace a β -oxidace, zvýšená přeměna na kyselinu arachidonovou pro syntézu eikosanoidů).

Během 30. let minulého století se začal řešit nedostatek EFA. Probíhaly experimentální studie na zvířatech, u kterých byl tento nedostatek spojován s retardací růstu a zvýšenými transepidermálními ztrátami vody v důsledku vzestupu permeability kůže; nedostatek EFA se u obou pohlaví projevoval i sterilitou. Při nedostatku EFA se snížil obsah kyseliny arachidonové v membránových fosfolipidech i v obalu lipoproteinových částic a navíc se snížila syntéza eikosanoidů, jejichž prekurzorem je kyselina arachidonová (Seo 2005). Při nedostatku EFA se v buňce zvýší desaturace a elongace kyseliny olejové na tzv. Meadovu kyselinu (20:3n-9) ve snaze zachovat fluiditu biomembrán a získat alternativní prekurzor pro syntézu eikosanoidů. Popisovaná fragilita kapilár a hematurie pravděpodobně souvisí se stabilitou biomembrány a jejími mikrotokovými vlastnostmi. Mezi pozorované metabolické změny patří i pokles produkce ATP v játrech či v myokardu, který se projevuje sníženou kontraktilitou myokardu a změnami komplexu QRS na EKG. Deficit EFA vede dále k poruše transportu cholesterolu se sekundární dyslipidemií a zpomalením reverzního transportu cholesterolu. Somatické příznaky doplňuje porucha adaptace na tmu (dysopsie), snížená zraková ostrost i sensorické a motorické neuropatie.

Při výčtu patofyziologických účinků nelze opomenout ani aterogenně působící trans MUFA, jež mají v tomto ohledu negativnější účinky než SFA.

2.1.9 Terapeutické využití vícenasycených mastných kyselin

Nepoměr v dietní suplementaci PUFA ve prospěch řady n-3 vůči PUFA řady n-6 bývá spojován s obavami ze zvýšení oxidativního stresu a tím zvýšené oxidativní modifikace LDL. Tyto obavy jsou umenšovány novými poznatky o inkorporaci PUFA řady n-3 do fosfolipidů, která vede ke konformačním změnám a nižší náchylnosti dvojných vazeb k procesu lipoperoxidace než u PUFA řady n-6. Peroxylové radikály odvozené z EPA jsou

hydrofilnější než radikály vzniklé z LA a ochotněji difundují obalem lipoproteinů a na povrchu lipoproteinu je radikálová reakce rychleji ukončena (Martinez, 2000).

Zvýšený dietní příjem PUFA řady n-3 vede ke zvýšené transkripci antioxidantních enzymů – odpřahujícího proteinu 2, glutathion transferázy 2 τ , superoxiddismutázy, a inhibici transkripce enzymů, které se účastní tvorby RONS. Suplementace PUFA řady n-6 zvyšuje aktivitu glutathionperoxidázy, superoxiddismutázy a katalázy (Martinez, 2000).

U pacientů s chylomikronemickým syndromem kombinovaným s těžkou akutní pankreatitidou má příznivé účinky enterální suplementace PUFA n-3 a MCT. Vícenenasycené FA jsou užívány pro kombinovanou terapii dyslipidemií, pro prevenci ischemické choroby srdeční (vzhledem k jejich antiarytmogenním a antitrombotickým účinkům); i při léčbě metabolického syndromu přesto, že neovlivňují inzulínovou rezistenci (Paniagua et al., 2011).

Ethylestery DHA mohou zlepšit klinické i biochemické parametry u dětí s vrozenými poruchami biogeneze peroxizómů jako je Zellwegerův syndrom, novorozenecká adrenoleukodystrofie či infantilní forma Refsumovy choroby (Martinez, 2000).

Důležité je využití enterální i parenterální výživy s EPA kriticky nemocných pacientů (syndrom šokové plíce, diseminované intravaskulární koagulace, jaterní steatóza, biliární sludge, cholelitiáza). U pacientů po elektivních chirurgických výkonech na zaživacím ústrojí pro karcinom snižuje tato výživa gastrointestinální a infekční komplikace až o 50 % (Dunstan et al., 2003).

U proteino-energetické malnutrice zpomaluje suplementace EPA degradaci kosterních svalů pravděpodobně inhibicí působení TNF- α , glukokortikoidů a faktoru indukujícího proteolýzu (Smith, 2004).

Příznivý účinek PUFA n-3 byl popsán i u onemocnění pankreatu. Suplementace EPA a DHA potlačuje proliferaci tumoru aktivací apoptózy nádorových buněk (Hawkins et al., 1998, Shirota et al., 2005, Funabashi et al., 2008, Abel et al., 2014). Zlepšení nutričního stavu a snížení anorexie po suplementaci EPA bylo popsáno u pacientů s inoperabilním karcinomem pankreatu (Shirota et al., 2005, Bauer et al., 2005). Příznivý vliv PUFA n-3 byl zaznamenán i u karcinomu kolorektálního, prostaty a prsu (Kantor et al., 2014, Eser et al., 2013, Yang et al., 2014); u karcinomu plic tento efekt nebyl prokázán zcela jednoznačně, suplementace PUFA n-3 by mohla přispět k jeho prevenci (Zhang et al., 2014).

2.1.10 Analytické přístupy

Analyticky stanovovány jsou pouze mastné kyseliny, které mají v metabolismu důležitou roli, čili obvykle FA se sudým počtem uhlíkových atomů. K analýze profilu FA v

separovaných lipidových třídách po hydrolyze a následné derivatizaci jsou nejčastěji využívány metody plynová rozdělovací chromatografie (Gas Liquid Chromatography, GLC) nebo RP-HPLC (Reversed Phase-High Performance Liquid Chromatography). Způsob derivatizace je závislý na analytické metodě, pro GLC se FA převádějí na metylestery za alkalické či kyselé katalýzy (např. methoxid sodný, fluorid boritý, acetylchlorid, methyl chloroformát, kyselina sírová), pro HPLC jsou derivatizovány pomocí chromoforů pro detekci UV (např. fenacylbromid, 2-bromo-2'-acetonafon, 2-nitrofenylhydrazin, dibromoacetofenon, 1-naftylamin) nebo fluorescenční (např. 9-diazomethylantracen, 9-(2-hydroxyethyl)-karbazol, 9-bromomethyl-akridin, dansyl-semipiperazid, fenantrimidazol, 4-methyl-7-methoxykumarin, 4-methyl-6,7-dimethoxykumarin) (Gutnikov, 1995).

Pro stanovení GLC se používají kolony střední či vysoké polarity (25-30, resp. 50-100 m) (Tvrzická et al., 2002).

Analýzy pomocí metody HPLC jsou isokratické nebo gradientové. Mobilní fází při těchto analýzách jsou používány směsi organických rozpouštědel (methanol, acetonitril, tetrahydrofuran, kyselina octová).

2.2 Chronická pankreatitida

2.2.1 Definice

Chronická pankreatitida (ChP) je chronické, progredující onemocnění pankreatu vedoucí k ireverzibilnímu poškození exokrinní i endokrinní složky.

2.2.2 Incidence a prevalence

Incidence chronické pankreatitidy je v posledních letech na vzestupu zvláště v západních zemích světa. Se zvyšováním incidence může souviset lepší diagnostika onemocnění i zvýšená konzumace alkoholu. Incidence ChP se pohybuje mezi 3 – 9 případy /100 tis. obyvatel/rok (Gupta a Toskes, 2005), incidence v České republice je 7,9 na 100 tis. obyvatel/rok. Prevalence CHP se odhaduje na 27případů/100 tis obyvatel a její mortalita činí 13 do 20 %. Zhruba 20 % nemocných s ChP má známky endokrinní a exokrinní dysfunkce bez současné bolesti (Gupta a Toskes, 2005).

2.2.3 Formy a etiologické faktory chronické pankreatitidy

Existují dvě hlavní formy ChP, které jsou podmíněny různými etiologickými faktory - kalcifikující a obstrukční forma. Nejčastěji se vyskytuje kalcifikující forma podmíněná především nadměrnou konzumací alkoholu. Mezi méně časté příčiny kalcifikující formy ChP patří tropická pankreatitida, hereditární pankreatitida, sekundární pankreatitida při hyperkalcémii či hyperlipidémii. Chronická kalcifikující pankreatitida je charakterizována přítomností nepravidelných kalcifikací a fibrotické tkáně, které způsobují obstrukci primárních a sekundárních pankreatických vývodů. Méně častá obstruktivní forma ChP je charakterizována difúzní atrofií parenchymu, uniformní fibrózou a dilatací duktů. Tato forma ChP vzniká při různých anatomických variacích pankreatu (např. pancreas divisum), při duodenálních divertiklech, stenóze Vaterské papily, dále jako následek duktálních striktur, následek přítomnosti tumoru atd. V rámci stanovení etiopatogeneze ChP se s výhodou používá tzv. systém TIGAR-O (T = toxonutritivní etiologie, I = idiopatická, G = geneticky podmíněná, A = autoimunitní, R = recidivující akutní pankreatitida, O = obstruktivní) (Etemad a Whitcomb, 2001). Toxonutritivní etiologie vzniku ChP je založena na negativním působení ethanolu na buňky pankreatu. Ethanolem způsobená ChP je v klinické praxi nejčastějším typem ChP (je udávána až v 80% případů). Další negativně působící noxou je kouření cigaret. Kouření je asociováno se zvýšenou susceptibilitou autodigesce pankreatické

tkáně a predisponuje k dysregulaci proteinu CFTR. Autoimunitní pankreatitida je zvláštní forma ChP, která dle literatury postihuje až 6% pacientů s ChP. Je sdružená s hypergamaglobulinémií a lymfoplasmocytární infiltrací parenchymu pankreatu. Laboratorně bývá přítomna elevace subtypu IgG protilátek IgG4. Autoimunitní pankreatitida bývá často asociována s dalšími autoimunitně podmíněnými chorobami, např. s primární sklerózující cholangitidou, Sjogrenovým syndromem a velmi dobře reaguje na léčbu kortikosteroidy. Hereditární pankreatitida se může manifestovat u lidí v dospělém věku s heterozygotní mutací genu cystické fibrózy CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator). Hereditární ChP vzniká také u pacientů, kteří mají mutaci tzv. cationic trypsinogen genu na 7. chromozomu nebo tzv. SPINK1 (serin protease inhibitor gene); v těchto případech dochází k předčasné aktivaci proteináz intraduktálně a následnému natrávení okolní pankreatické tkáně. U 20 % pacientů s ChP zůstane příčina neobjasněna.

2.2.4 Patofyziologie vzniku chronické pankreatitidy

Patofyziologie rozvoje ChP není dodnes plně objasněna. Existuje několik teorií, které samy o sobě nepostačují k uspokojivému vysvětlení všech aspektů a forem ChP. V literatuře je popisována duktální teorie, acinární teorie, "two-hits" teorie, teorie oxidačního stresu a konečně teorie zahrnující do sebe všechny výše uvedené (tzv. multiple cause) (Braganza et al., 2011). Duktální teorie pracuje s poznatkem o vzniku litiázy a následné obstrukci duktů pankreatu. Je založena na pozorování vzniku proteinových precipitátů, které mohou kalcifikovat a obturovat duktální systém. Při této obstrukci dochází k autoaktivaci enzymů a natrávení tkáně slinivky. Za normálních podmínek je do duktů uvolňován protein lithostatin, který inhibuje kalcifikaci proteinových precipitátů; v případě ChP dochází k inhibici uvolňování lithostatinu. Acinární teorie pracuje s faktem, že acinární buňky jsou primárním místem poškození. Poškození může být přímé toxickými metabolity nebo prostřednictvím zvýšení senzitivity buněk např. k cholecystokininu skrz CYP2E1. Dochází zde k aktivaci pankreatických hvězdicových buněk (Gaisano a Gorelick, 2009). Toxicko-metabolická teorie popisuje negativní účinky působení ethanolu na pankreatické buňky. Ethanol vede k akumulaci lipidů uvnitř pankreatických buněk, což vede k tukové degeneraci buněk a následné nekróze se sekundární fibrózou. Ethanol pravděpodobně přispívá i k precipitaci proteinů uvnitř pankreatických duktů. "Two-hits" teorie předpokládá patologické poškození duktů i acinů a pracuje s poznatkem, že opakované nekrózy vedou k periduktální fibróze (Braganza et al., 2011). V patogenezi nejen chronické pankreatitidy, ale i karcinomu pankreatu, se uplatňují zvýšený oxidativní stres a snížené antioxidační mechanismy.

Reaktivní sloučeniny jsou produkovány endogenně působením pankreatického renin-angiotenzinového systému nebo exogenně např. působením xenobiotik. Při patogenezi ChP je zvýšeně exprimována membránová non-mitochondriální NADPH-oxidáza, která lokálně produkuje reaktivní sloučeniny, a tím ovlivňuje negativně procesy, jako jsou apoptóza, fibróza či zánětlivá odpověď (Kodydková et al., 2013). Velmi pravděpodobně se však na rozvoji ChP podílejí dohromady všechny výše uvedené patofyziologické pochody, což popisuje tzv. "multiple-cause" teorie (Leung a Chan, 2009). V poslední době se přisuzuje významná úloha tzv. hvězdicovitým buňkám pankreatu (pancreatic stellate cells, PSC). Za fyziologických podmínek se podílí na udržování normální architektiky pankreatické tkáně. Předpokládá se, že alkohol a ostatní etiologické faktory aktivují metaloproteinázy, které destrukují fyziologicky přítomný kolagen pankreatické tkáně. Prozánětlivé cytokiny TNF- α (tumor nekrotizující faktor α), interleukiny IL-1 a IL-6 a produkty oxidačního stresu vznikající při nekróze acinárních buněk aktivují novotvorbu kolagenu prostřednictvím aktivace hvězdicovitých buněk. Tento proces vede k novotvorbě fibrózní tkáně, která mění architektiku původní tkáně pankreatu a potencuje další sekundární poškození pankreatu. Vlastní aktivaci PSC způsobuje acetaldehyd (metabolit etylalkoholu), lipopolysacharidy, reaktivní kyslíkové a dusíkové sloučeniny (RNOS) i prozánětlivé cytokiny [TNF- α , interleukin (IL)-1 a IL-6]. Navíc PSC secernují cytokiny a tak přispívají k vlastní autoaktivaci a amplifikaci novotvorby kolagenu (Behrman a Fowler 2007, Witt et al. 2007). Tento mechanismus pravděpodobně vysvětluje samovolnou progresi ChP i po zabránění dalšího působení etiologické noxy. Ukázalo se, že hvězdicovité buňky mohou být patofyziologicky aktivovány i přímým působením ethanolu prostřednictvím působení jeho metabolitu acetaldehydu (Apte et al., 2005).

2.2.5 Klinické příznaky chronické pankreatitidy

Hlavními příznaky ChP jsou abdominální bolest (80-95% pacientů), úbytek na váze a projevy maldigesce. Abdominální bolest je vedoucím příznakem ChP. Na podkladě přítomnosti bolesti rozlišujeme ChP na algickou a nealgickou formu. Bolest se může objevovat spontánně, ale velmi často v návaznosti na požití jídla, což vede k malnutrici kvůli strachu pacienta konzumovat potravu, po které se objevuje abdominální bolest. Abdominální bolest je často lokalizována do mezogastria a může iradiovat do obou hypochondrií a do zad. Patofyziologicky se na vzniku bolesti podílí zánětlivé procesy, zvýšený tlak v duktálním systému či stenóza duodena. Maldigesce se týká především v tučích rozpustných látek, hrozí tedy hypo- či avitaminóza vitaminů rozpustných v tučích (A, D, E, K). Klinicky se projevuje

průjmem nebo přítomností steatorhey. Průjem bývá osmotické etiologie při maldigesci především sacharidů. Steatorhea je objemná, jílovitá, mastná stolice vznikající při maldigesci lipidů. U pacientů s ChP se mohou objevit mnohé další příznaky signalizující její komplikace. Mezi tyto komplikace a příznaky z nich vyplývající patří např. krvácení z GIT, vznik pankreatického abscesu s febrilním stavem, obstrukční ikterus podmíněný stenózou distálního choledochu, zvracení při obstrukci duodena, trombóza v. portae či v. lienalis, eroze velkých intraabdominálních cév se vznikem pseudoaneuryzmatu a potenciálním krvácením.

2.2.6 Diagnostika chronické pankreatitidy

Základem stanovení diagnózy ChP je důsledné provedení anamnézy a fyzikálního vyšetření. Důležitým diagnostickým nástrojem ChP jsou zobrazovací metody. Mezi zobrazovací metody užívané ke stanovení diagnózy ChP patří transabdominální ultrazvuk, CT břicha, magnetická rezonance pankreatu a žlučových cest (magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP) a invazivní vyšetření endoskopická retrogradní cholangiopankreatikografie (ERCP) a endoskopické ultrazvukové vyšetření pankreatu (EUS). Na základě nálezů při ERCP se užívá tzv. Cambridgeská klasifikace ChP dělící ji na formu lehkou, středně těžkou a těžkou. Transabdominální ultrasonografické vyšetření (USG) má senzitivitu 70% a specificitu 90% a nálezy odpovídající ChP zahrnují neostré kontury pankreatu, kalcifikace, změny snížení echogenity. Vyšetření CT břicha může zobrazit kalcifikace, dilataci duktů, rozšíření hlavy pankreatu (dif. dg. tumor pankreatu) atd. Magnetická rezonance pankreatu a žlučových cest, zobrazující velmi názorně pankreatický vývod, nahrazuje v rámci diagnostiky ERCP, nevýhodou vyšetření je však jeho nákladnost. Endoskopické ultrazvukové vyšetření pankreatu je invazivní vyšetření, při kterém může být provedena biopsie pankreatu technikou tenké jehly (fine needle aspiration biopsy, FNA), což je důležité pro diferenciální diagnostiku tumorů pankreatu. Funkční testy, jako tzv. cholecystokinin-sekretinový test, se v současné klinické praxi v ČR příliš neužívají. Při klinickém podezření na maldigesci je ve stolici stanovována elastáza (fekální elastáza). Pokles hodnoty fekální elastázy pod 200 µg na gram stolice značí exokrinní dysfunkci pankreatu.

2.2.7 Klasifikace chronické pankreatitidy

ChP jako onemocnění byla poprvé definována v roce 1946 Comfortem a spolupracovníky (Schneider et al., 2007). V průběhu dalších let byly navrhovány různé klasifikace ChP. Mezi významné patří Cambridgeská klasifikace z roku 1984, která popisovala tíži onemocnění na podkladě zobrazovacích vyšetření, především na podkladě

ERCP. V české literatuře se velmi často setkáváme s TIGAR-O klasifikací, která vznikla v roce 2001 a je založena na etiologické kategorizaci. Po TIGAR-O klasifikaci přišly další jako např. ABC grading system, Manchesterská klasifikace a především M-ANNHEIMská klasifikace (Schneider et al., 2007). Ta je komplexním skórovacím systémem ChP a zahrnuje v sobě kategorizaci pacientů na podkladě etiologických faktorů, stádia a tíže onemocnění (Schneider et al., 2007). Jednotlivá písmena slova M-ANNHEIM představují první písmena anglických slov jednotlivých etiologických faktorů ChP: M znamená multiple risk factors (mnohočetné rizikové faktory), A znamená Alcohol consumption (konzumace alkoholu). V této klasifikaci se užívá dělení konzumentů alkoholů podle absolutního množství požitého ethanolu v gramech za den. Mírný piják zkonsumuje 20 gramů ethanolu denně, zvýšená dávka ethanolu představuje rozmezí 20-80 gramů denně a excesivní požívání ethanolu je při dávce nad 80 gramů denně. Pravděpodobnost vzniku ChP se zvyšuje přímo úměrně s množstvím zkonsumovaného ethanolu denně v průběhu několika let. První N znamená Nicotine consumption (kouření cigaret) je nezávislý rizikový faktor vzniku ChP. Druhé N znamená Nutritional factors (nutriční faktory) podílející se na vzniku ChP. Je známo, že zvýšený příjem tuků a proteinů představuje důležitý faktor v rozvoji zánětu pankreatu (Schneider et al., 2007). Rekurentní akutní pankreatitidy, které mohou přejít do ChP, jsou asociovány s hyperlipidémií. Písmeno H znamená Hereditary factors (dědičné faktory); je známo několik genetických mutací, které ve svém důsledku vedou k rozvoji ChP a mohou způsobovat familiární formu ChP. Mezi postižené geny patří gen kationického trypsinogenu (PRSS1), inhibitoru serinové proteázy typ 1 (SPINK1) či CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator). Písmeno E znamená Efferent duct (faktory vycházející z obstrukce vývodného systému pankreatu), které mohou zahrnovat pancreas divisum, obstrukci ductu tumorem, dysfunkci a stenózu Oddiho svěrače. Písmeno I představuje Immunological factors (imunologické faktory) hrající roli ve vzniku autoimunitní pankreatitidy asociované se Sjögrenovým syndromem, idiopatickými střevními záněty či primární biliární cirhózou. Písmeno M představuje Miscellaneous and rare metabolic factors (různé vzácnější a metabolické faktory podmiňující vznik ChP) jako léky, chronické renální selhání, hyperkalcémie (hyperparathyreoidismus). M-ANNHEIMská klasifikace dělí ChP na dvě základní stádia - asymptomatické a symptomatické, která jsou dále dělena na substádia. Asymptomatické stádium je označováno jako stádium 0, substádia jsou dělena na: a) bez symptomů, náhodně nebo autopticky zjištěná ChP, b) jediná epizoda nekomplikované akutní pankreatitidy, c) akutní pankreatitida s komplikacemi. Symptomatická ChP je dělena na stádium I bez pankreatické insuficience zahrnující rekurentní bolesti břicha nebo opakující se

epizody akutní pankreatitidy (podrobněji dělena na a, b, c), stádium II s částečnou pankreatickou insuficiencí buď exokrinní nebo endokrinní dělí se ještě na substádia s přítomností či nepřítomností bolesti břicha a komplikací (a, b, c), stádium III s kompletní pankreatickou insuficiencí jak exokrinní tak endokrinní a bolestí břicha a stádium IV s kompletní pankreatickou insuficiencí, ale bez bolesti (hovoříme o burnout). V rámci M-ANNHEIMské klasifikace je určován též tzv. severity index. Do tohoto severity indexu jsou zahrnuty různé faktory, které dělí stupně tíže ChP na M-ANNHEIM A, B, C, D, E (A - nejnižší stupeň, E - nejvyšší stupeň tíže choroby představující akutní exacerbaci).

2.2.9 Chronická pankreatitida a mastné kyseliny

2.2.9.1 Ethylestery mastných kyselin a jejich úloha v patogenezi pankreatitidy

Ethanol je velmi důležitý etiologický faktor pro vznik pankreatitidy. Ethanol se v těle metabolizuje dvěma způsoby - oxidativně a neoxidativně. Při oxidaci ethanolu vznikají postupně acetaldehyd a kyselina octová. Oxidace ethanolu na acetaldehyd je majoritně katalyzována enzymem alkoholdehydrogenázou. Minoritní dráha oxidace ethanolu probíhá působením cytochromu P4502E1 (CYP2E1) za podmínek vysoké koncentrace ethanolu či při chronické konzumaci ethanolu. Metabolity vznikající oxidací ethanolu působí toxicky na buňky acinů pankreatu. Minoritní dráha metabolismu ethanolu za účasti CYP2E1 působí oxidační stres tím, že vznikají kyslíkové reaktivní sloučeniny (reactive oxygen species, ROS). Acetaldehyd způsobuje depleci antioxidantně působícího redukováného glutathionu (GSH). Oxidační stres poté přispívá k destabilizaci lysozomálních membrán vedoucí k cytotoxicitě a spuštění autodestrukční enzymové kaskády. Neoxidativní dráha metabolismu ethanolu vede ke vzniku ethylesterů mastných kyselin (FAEE - fatty acid ethyl esters). Mastné kyseliny jsou esterifikovány ethanolem za katalýzy syntázy ethylesterů mastných kyselin. Syntáza ethylesterů mastných kyselin nebyla přesně identifikována, ale pravděpodobně se jedná buď o karboxylester lipázu nebo triglyceridovou lipázu. Vysoké koncentrace FAEE, zvláště v pankreatu, byly zjištěny analýzou postmortem u pacientů, kteří byli v době smrti intoxikováni ethanolem (Laposata a Lange, 1986). Ethylestery FA působí aktivaci trypsinogenu a zvyšují několika mechanismy intracelulární koncentraci Ca^{2+} , navíc intracelulární koncentraci Ca^{2+} nepřímo zvyšuje působení FA s dlouhými řetězci. Zvýšená intracelulární koncentrace kalciových kationtů poškozuje buňku iniciací a potenciací mechanismů vedoucích k její nekróze. Mastné kyseliny s dlouhým řetězcem poškozují mitochondriální metabolismus; důsledkem tohoto poškození je inhibice syntézy ATP v mitochondriích, což sekundárně

inhibuje činnost energeticky náročných kalciových pump v plasmatické membráně (plasma membrane calcium ATPase pump, PMCA) a v endoplasmatickém retikulu (sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium ATPase pump, SERCA), které udržují nízké koncentrace kalciových kationtů intracelulárně. Mastné kyseliny v excesivním množství, zvláště FA s dlouhými řetězci, inhibují celulární respiraci. Ve vnitřní mitochondriální membráně jsou lokalizovány tzv. odpřahující proteiny (uncoupling proteins). Fyziologicky tyto proteiny způsobují disipaci protonového gradientu bez tvorby ATP a také exportují z mitochondrií FA za disipace protonového gradientu ještě předtím, než jsou FA metabolizovány v cyklech β -oxidace (fatty acid cycling). Mastné kyseliny aktivují odpřahující proteiny. Pokud dojde k přehlcení tohoto děje, FA vyváží velké množství CoASH, který je nutný pro biochemické reakce β -oxidace a citrátového cyklu, a způsobí inhibici respiračních dějů s poklesem tvorby molekul ATP (Criddle et al., 2006). Ethylestery FA samy o sobě zvyšují intracelulární koncentraci Ca^{2+} zvýšením výdeje kationtů Ca^{2+} z endoplasmatického retikula aktivací receptorů pro inositoltrisfosfát. Receptory pro inositoltrisfosfát fungující jako endoplasmatické kanály pro uvolnění Ca^{2+} jsou v pankreatických acinárních buňkách lokalizovány na apikálním pólu (Wakui et al., 1990). Mastné kyseliny a jejich ethylestery se těmito mechanismy podílí na etiopatogenezi akutní pankreatitidy po excesivním požití alkoholu i při hyperlipidémii.

2.2.9.2 Protektivní role n-3 vícenenasycených mastných kyselin v etiopatogenezi poškození pankreatu

V etiopatogenezi akutní pankreatitidy se významnou měrou uplatňuje působení oxidačního stresu. Vznikají reaktivní kyslíkové sloučeniny (reactive oxygen species, ROS), které spouští zánětlivou odpověď a indukují apoptózu; ROS a peroxid vodíku stimulují expresi prozánětlivých cytokinů IL1 a IL6. Stimulace exprese prozánětlivých cytokinů je řízena aktivací proteinu AP-1 (nuclear transcription factor activator protein-1). Proapoptotická dráha je spuštěna translokací proapoptoticky působících proteinů, např. BAX, cytochromu c, p53 či apoptosis-inducing factor (AIF), při zvýšení permeability mitochondriální membrány z mitochondrie do cytosolu a následně do buněčného jádra, kde tyto proteiny způsobují kondenzaci a fragmentaci chromatinu. Vícenenasycené FA řady n-3 jako jsou kyselina α -linolenová či dokosahexaenová působí protektivně vůči ROS indukovanému oxidačnímu stresu (Park et al., 2009). Tyto FA také inhibují expresi prozánětlivých cytokinů

2.2.10 Chronická pankreatitida a diabetes mellitus typu 3c

Diabetes mellitus je obecně definován jako stav metabolické dysfunkce s chronickou hyperglykemií (Ewald a Bretzel, 2013). Jedná se o onemocnění s heterogenní etiologií a v současné době je diabetes dělen do několika typů (Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes mellitus, 2003). V recentní literatuře je sekundární diabetes mellitus při chorobách pankreatu definován jako diabetes mellitus 3c (Ewald a Bretzel, 2013). Tato klasifikace je užívána též Americkou diabetologickou asociací (American Diabetes Association, ADA) a Světovou zdravotnickou organizací (World Health Organization, WHO). Diabetes mellitus typu 3c byl označován také jako pankreatoprivní či pankreatogenní. V současné době jsou v rámci příčin tohoto typu zahrnována onemocnění exokrinní složky pankreatu jako akutní pankreatitida, chronická pankreatitida, stav po pankreatektomii, hemochromatóza, cystická fibróza, karcinom pankreatu a další (American Diabetes Association, 2011). Ewald a Bretzel (2013) uvádějí, že v 78,5% je příčinou chronická pankreatitida a druhou nejčastější příčinou karcinom pankreatu. Mnoho pacientů s diabetes mellitus typu 3c je mylně diagnostikováno jako diabetes mellitus 2. typu. Byla navržena hlavní a vedlejší diagnostická kritéria (Ewald a Bretzel, 2013). Hlavní kritéria, která musí být všechna splněna, jsou 1) přítomnost exokrinní pankreatické insuficience, 2) nález na zobrazovacích metodách odpovídající příslušné pankreatopatii, 3) nepřítomnost autoimunitních markerů při diabetes mellitus 1. typu. Vedlejší kritéria zahrnují 1) porušenou funkci β -buněk pankreatu, 2) nepřítomnost vyšší inzulínové resistance, 3) porušenou sekreci inkretinů, 4) nízkou sérovou koncentraci liposolubilních vitaminů. V literatuře dosud neexistuje konzistentní práce podrobně se zabývající složením FA u tohoto typu DM.

2.3 Diabetes mellitus 2. typu a mastné kyseliny

Diabetes mellitus 2. typu je onemocnění s vysokou prevalencí v zemích Západní civilizace a je spjat se značnou morbiditou především kvůli kardiovaskulárním komplikacím. I přes obšírné znalosti o metabolických odchylkách u tohoto onemocnění není mnoho prací, které by analyzovaly složení mastných kyselin u pacientů s DM 2. typu. V několika studiích byl zkoumán vliv dietního přísunu PUFA n-3, především kyseliny α -linolenové (ALA), kyseliny eikosapentaenové (EPA) a kyseliny dokosahexaenové (DHA). Djoussé et al., (2011) zjistili, že vyšší koncentrace ALA, EPA a DHA v plasmatických fosfolipidech byly asociovány s nižším rizikem DM u starších osob nad 65 let věku. Některé studie odhalily pozitivní vztah mezi zvýšenou konzumací PUFA n-3 a zvýšenou incidencí

DM (Kaushik et al., 2009), některé naopak neprokázaly žádnou spojitost mezi konzumací PUFA n-3 a rizikem vzniku DM (Hodge et al., 2007, Laaksonen et al., 2002). V poslední době se diskutuje též úloha FA desaturáz při rozvoji inzulínové rezistence. Inzulín má nejen regulační účinky při přeměně dihomog- γ -linolenové kyseliny na kyselinu arachidonovou ve fosfolipidech, ale indukuje i expresi Δ 5-, Δ 6- a Δ 9-desaturáz (Arbo et al., 2011).

2.4 Karcinom pankreatu

Karcinom pankreatu (KP) patří mezi nejzávažnější onkologická onemocnění. Incidence KP v posledních 40 letech neustále vzrůstala a nyní je kolem 19 případů na 100000 obyvatel. Prevalence je v ČR kolem 12 pacientů na 100000 obyvatel. Mortalita tohoto onemocnění zůstává taktéž velmi vysoká. Karcinom pankreatu je 4. nejčastější příčinou úmrtí v ČR na onkologická onemocnění u obou pohlaví, jeho 5 leté přežití s epohybuje kolem 14-37%. Dle histologie rozdělujeme maligní nádory pankreatu na duktální (v 95%) a acinární adenokarcinom. Etiologie vzniku KP je komplexní. Uplatňují se vlivy genetické, působení zevního prostředí a životního stylu (negativní účinky kouření, nadměrného energetického příjmu, nedostatku fyzické aktivity). Pravděpodobnost vzniku KP zvyšují i chorobné stavy jako ChP a DM. Potenciálně kurativním způsobem léčby KP je chirurgická resekce a tu lze provést při včasné stanovení diagnózy. V současné době je věnováno značné usilí výzkumu metod včasné diagnostiky KP. Je známo, že u více než 30% pacientů s KP je v době diagnózy přítomen DM (Marble, 1977). Dosud není objasněn jejich vzájemný vztah. Je otázkou, zdali je DM rizikovým faktorem vzniku KP, či je jeho přítomnost důsledkem tumoru. Kromě inzulínu a dosud neznámého „diabetogenního faktoru“ produkovaného nádorovými buňkami hrají významnou roli i adipocytokiny leptin a adiponektin produkované tukovou tkání. V homeostáze glukózy a regulaci tělesné hmotnosti se uplatňuje složení FA v biomembránách. Příznivý vliv mají PUFA n-3, které zvyšují inzulínovou senzitivitu tkání, snižují uvolňování inzulínu z pankreatických β -buněk atd. (Žák et al., 2005).

Složení FA může mít vliv na proces karcinogeneze. Společným pojítkem mezi inzulínovou resistencí, DM a vznikem nádorových onemocnění může být změna metabolismu FA, především syntéza FA *de novo* (Vigneri et al., 2009). Byla prokázána asociace mezi KP a konzumací SFA (Howe a Burch, 1996, Stolzenberg-Solomon et al., 2002, Thiébaud et al., 2009) a konzumace celkového tuku (Howe a Burch, 1996). Dle některých epidemiologických studií náhrada PUFA za SFA a MUFA snižuje riziko vzniku KP u obézních pacientů (Nkondjock et al., 2005). Navíc existují data o riziku vzniku karcinomu prostaty, prsu,

pankreatu i kolorektálního karcinomu při zvýšeném přísunu PUFA n-6 (zvláště kyseliny linolové) a zvýšeném poměru PUFA n-6/n-3 (Heukamp et al., 2006, Funahashi et al., 2008, Yang et al., 2014, Abel et al., 2014).

3 MATERIÁL A METODY

3.1 Výběr pacientů

Do observační studie bylo zařazeno 155 pacientů, z toho bylo 39 pacientů (30/9 M/Ž) s ChP+DM, 39 pacientů (30/9 M/Ž) s ChP bez DM, 38 pacientů (30/8 M/Ž) s DM 2. typu a 39 kontrolních osob (30/9 M/Ž) párovaných podle věku a pohlaví. Diagnóza ChP byla provedena na základě klinického obrazu (bolesti břicha, dyspepsie, nechutenství, malnutrice, steatorea) potvrzeného minimálně dvěma zobrazovacími metodami (USG/ kontrastní CT; ERCP/MRCP a EUS) postupem publikovaným dříve (Kodydková et al. 2013). Do studie byli zařazeni pouze pacienti s jednoznačně potvrzenou diagnózou ChP.

Alkoholová ChP byla zjištěna u 25 pacientů s pouze ChP a u 24 pacientů s ChP+DM, idiopatická ChP byla popsána v 12 případech u ChP i u skupiny ChP+DM, další příčiny byly sporadické - biliární etiologie a pankreas divisum u 1 pacienta s ChP, 1 autoimunní, 1 hereditární a 1 pancreas divisum ve skupině pacientů s ChP+DM.

Měření fekální elastázy (FELA) bylo využito jako nepřímý marker exokrinní dysfunkce (koncentrace fekální elastázy < 200 ng/g) (Ewald et al., 2009). Stanovení FELA bylo provedeno metodou ELISA (Scheefers-Borchel et al., 1992) u 45 pacientů, z toho 27 osob s ChP mělo hodnotu < 200 ng/g. U 39 osob s ChP byl diagnostikován DM, léčený dietou nebo perorálními antidiabetiky. Pacienti léčení inzulínem byli ze studie vyřazeni. Dle současné klasifikace dle ADA může být klasifikován jako DM typu 3c.

Do studie karcinomu pankreatu bylo zařazeno 84 pacientů (47/37 M/Ž) s histologicky verifikovaným adenokarcinomem pankreatu ve věku $64,7 \pm 9,5$ roku a 68 kontrolních osob (36/32 M/Ž) ve věku $59,3 \pm 8,0$ roku.

Do kontrolní skupiny byli zařazeni zdraví dobrovolníci (např. zdravotnický personál, zaměstnací firem pracujících v Praze, u kterých byly prováděny preventivní prohlídky) a pacienti s funkčními zažívacími chorobami. Pro obě skupiny platila stejná vylučovací kritéria: léčba antioxidanty (farmakologické dávky vitamínu C a E, allopurinol, N-acetylcystein), suplementace PUFA n-3 a n-6, známá nefropatie (kreatinin > 150 $\mu\text{mol/l}$), manifestní proteinurie (>500 mg/l), hepatopatie, dekompenzovaný DM, endokrinopatie, akutní pankreatitida a akutní recidiva ChP, nestabilní angina pectoris, akutní IM, PTCA, revaskularizační operace (v době < 1 rok). Dále byli vyloučeni nemocní po prodělaném krvácení do GIT a systémovém zánětu (do 6 měsíců).

Studie byla schválena etickou komisí VFN a 1. LF UK.

3.2 Vyšetřovací metody

U všech osob zařazených do studie byly prováděny odběry krevních vzorků po celonočním lačnění (min. 12 hodin). Odebrané krevní vzorky byly zpracovány do 1 hodiny od náběru. Vacutainery se srážlivou krví byly ponechány 30 - 45 minut stát při laboratorní teplotě a následně centrifugovány při 3500 rpm po dobu 10 minut, sérum pro další analýzy bylo uchováváno při -80°C. U pacientů byly sledovány základní klinické, antropometrické a biochemické parametry. Jako parametr oxidačního stresu byla měřena koncentrace konjugovaných dienu v precipitovaných LDL (KD/LDL) spektrofotometrickou metodou (Ahotupa et al., 1996).

Běžné laboratorní parametry byly vyšetřeny rutinními metodami v Centrálních laboratořích Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky VFN v Praze. Koncentrace celkového cholesterolu (TC), triacylglycerolů (TAG), kyseliny močové a glukózy byly stanoveny pomocí enzymaticko-kolorimetrických metod (CHOD/PAP, GPO/PAP, test combination PL; Boehringer Mannheim, Oxochrom kyselina močová, GOD-PAP oxochrom glukóza; Lachema a.s. Brno). Koncentrace HDL-C byla stanovena v supernatantu po srážení LP-B kyselinou fosfowolframovou a Mg^{2+} komerčním setem Boehringer Mannheim. Apolipoproteiny byly stanoveny Laurellovou raketovou elektroforézou s použitím standardů a specifických protilátek proti apo-A-1, apo-B (Boehring Scharme AG, Marburg, Německo) a proti Lp (A) (Immuno AG, Videň, Rakousko). Koncentrace inzulínu byla stanovena metodou ECLIA (Roche). Rutinní laboratorní testy (celková bílkovina, albumin, CRP, urea, kreatinin, kyselina močová, bilirubin, ALT, AST, GGT) byly provedeny pomocí komerčních reagenčních setů automatickým analyzátozem Hitachi Model 717 (Hitachi, Tokio, Japonsko). Koncentrace homocysteinu byla stanovena vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (Araki a Sako, 1987). Koncentrace neesterifikovaných mastných kyselin (NEFA) byla měřena enzymaticko-kolorimetrickou metodou (NEFA, Randox Labs, Velká Británie). Složení FA v lipidových třídách plasmy bylo vyšetřeno kapilární plynovou chromatografií po předchozí separaci jednotlivých lipidových tříd – fosfolipidů (PL), TAG a esterů cholesterolu (CE) preparativní tenkovrstevnou chromatografií (Tvrzická et al., 2002).

3.3 Statistické zpracování

Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr \pm SD pro parametrické veličiny a jako medián (0,25 - 0,75 percentil) pro neparametrické veličiny. Normalita byla testována prostřednictvím

Shapiro-Wilkova W testu. Rozdíly mezi jednotlivými skupinami a kontrolními soubory byly zkoumány pomocí jedno-faktorové ANOVY s Neuman-Keulsovým post-testem. Pro neparametrickou analýzu byla použita Kruskal-Wallisova ANOVA. Pro všechny statistické analýzy byl používán program STATISTICA 10.0 (Stat Soft, CZ). Za statisticky signifikantní byly považovány výsledky s $p < 0,05$.

4 VÝSLEDKY

4.1 Chronická pankreatitida

Antropometrická data sledovaných skupin jsou uvedena v Tab. 2. Ve srovnání s kontrolní skupinou měli pacienti s DM 2. typu významně zvýšenou tělesnou hmotnost, hodnotu BMI, obvod pasu, boků, součet tloušťky 4 kožních řas, hmotnost tuku i procento tukové hmoty. U pacientů s ChP s DM i bez DM nebyl zjištěn významný rozdíl těchto parametrů. Poměr pas-boky byl významně zvýšen u ChP, ChP+DM i DM (ve srovnání s kontrolní skupinou). Z uvedených výsledků usuzujeme, že přítomnost chronického zánětu pankreatu i DM může mít vliv na distribuci tělesného tuku, každý z faktorů však působí odlišným způsobem. U ChP se nezměnil obvod pasu, došlo však k úbytku tuku na bocích. Za přítomnosti ChP i DM se zvětšil obvod pasu, tj. zvýšil se obsah viscerálního tuku, obvod boků zůstal nezměněný. Při DM 2. typu je patrný výrazně vyšší obsah viscerálního i subkutánního tuku.

Téměř všechny antropometrické parametry až na WHCR byly signifikantně sniženy u obou skupin ChP i ChP+DM oproti pacientům s DM 2. typu.

U všech skupin pacientů byla sledována i základní biochemická data, která jsou uvedena v Tab. 3. U pacientů s ChP i ChP+DM byla zjištěna statisticky významně nižší hodnota magnezémie. U skupiny ChP+DM jsme našli signifikantně vyšší hodnotu mědi. U pacientů s DM 2. typu jsme pozorovali statisticky významně vyšší hodnoty glykémie, inzulínu, C-peptidu i HOMA-IR, což potvrzuje přítomnost inzulínové resistance. U obou skupin s ChP jsme ve srovnání s pacienty s DM 2. typu zjistili významně nižší hodnoty urikémie, HOMA-IR, C-peptidu, což ukazuje na přítomnost DM 3c typu u pacientů s ChP. Pacienti s pouze ChP měli oproti ChP+DM signifikantně nižší glykémii, inzulínemii a HOMA-IR.

U pacientů s ChP jsme zaznamenali signifikantně nižší hodnotu kreatininémie, u skupiny ChP+DM tato hodnota nedosahovala statistické významnosti.

Lipidové parametry jsou uvedeny v Tab. 4. U pacientů s DM 2. typu jsme pozorovali signifikantně sníženou koncentraci celkového a LDL cholesterolu ve srovnání s kontrolní skupinou. U této skupiny byla zaznamenána též signifikantně snížená hladina HDL cholesterolu a apolipoproteinu A1, svědčící o reziduálním kardiovaskulárním riziku těchto pacientů, a signifikantně zvýšená hladina lipoproteinu Lp(a), zhoršující nepříznivou situaci kardiovaskulární rizikovosti pacientů s DM. Tyto výsledky odpovídají známým poznatkům

kardiovaskulárního rizika pacientů s DM. Hladiny TAG byly vyšší u všech skupin pacientů, statistické významnosti dosáhlo toto zvýšení jen u skupiny ChP+DM. U pacientů s ChP i ChP+DM jsme našli vyšší koncentrace apolipoproteinu A1, které dosahovaly statistické významnosti ve srovnání se skupinou DM 2. typu. Pacienti s ChP, ChP+DM i DM 2. typu měli vyšší koncentrace konjugovaných dienu v izolovaných LDL. U žádné ze skupin pacientů jsme nenalezli signifikantně rozdílné hodnoty neesterifikovaných FA a homocysteinémie.

Tabulka 2: Antropometrická data sledovaných skupin

Proměnná	ChP	ChP+DM	DM	KON
N (M/Ž)	39 (30/9)	39 (30/9)	38 (30/8)	39 (30/9)
Kouření	28	27	16	19
Věk (roky)	54,3 ± 10,4	56,0 ± 13,2	58,0 ± 9,8	56,1 ± 13,0
STK (mm Hg)	124,9 ± 14,5 ^b	132,5 ± 17,4	135,6 ± 15,0	128,7 ± 12,0
DTK (mm Hg)	76,1 ± 8,7	80,7 ± 11,1	80,9 ± 11,5	79,3 ± 8,9
Výška (cm)	173 ± 9	173 ± 10	172 ± 11	174 ± 10
Váha (kg)	70 ± 15 ^{bbb}	77 ± 17 ^{bbb}	99 ± 20 ^{***}	76 ± 14
BMI (kg/m ²)	23,5 ± 4,4 ^{bbb}	25,6 ± 4,6 ^{bbb}	33,7 ± 5,6 ^{***}	24,96 ± 3,69
Pas (cm)	88,2 ± 12,1 ^{+,bbb}	95,3 ± 11,6 ^{bbb}	111,6 ± 14,3 ^{***}	88,21 ± 10,04
Boky (cm)	88,6 ± 14,4 ^{bbb}	94,5 ± 8,9 ^{bbb}	110,4 ± 11,8 ^{***}	96,00 ± 7,94
WHCR (poměr)	1,05 ± 0,43 ^{***}	1,01 ± 0,05 ^{***}	1,01 ± 0,07 ^{***}	0,92 ± 0,08
Biceps	6,0 (4,0–10,5) ^{bbb}	5,3 (3,5–10,0) ^{bbb}	14,0 (10,8–18,0) ^{***}	5,8 (4,5–11,5)
Triceps	11,5 (6,0–16,5) ^{bbb}	10,0 (8,0–18,0) ^{bbb}	18,8 (14,5–28,5) ^{***}	13,0 (9,5–9,0)
Subscap.	19,5 (11,0–29,0) ^{bbb}	17,5 (7,0–4,5) ^{bbb}	35,0 (21,5–7,0) ^{***}	14,3 (10,5–24,0)
Suprailica	20,5 (7,5–30,5) ^{bbb}	19,0 (11,0–29,5) ^{bbb}	28,3 (20,5–40,5) ^{***}	19,3 (12,5–5,5)
Σ4 KŘ	52,0 (33,3–80,8) ^{bbb}	62,8 (50,8–82,0) ^{bbb}	96,8 (74,5–137,0) ^{***}	58,5 (44,5–77,5)
T (kg)	19,1 (11,8–25,3) ^{bbb}	22,4 (18,5–27,9) ^{bbb}	37,7 (26,6–48,7) ^{***}	20,9 (15,3–24,9)
T (%) (D.-W.)	26,2 ± 11,3 ^{bbb}	29,4 ± 9,2 ^{bbb}	37,4 ± 7,4 ^{***}	28,5 ± 7,0

Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr ± SD pro parametrické veličiny a jako medián (0,25 - 0,75 percentil) pro neparametrické veličiny.

Zkratky: N – počet; M – muži, Ž – ženy; STK, DTK – systolický (resp. diastolický) TK; BMI – body mass index, WHCR – waist/hip circumference ratio (poměr pas/boky), Σ4 KŘ – součet 4 kožních řas, T – tělesný tuk, D.-W. – Durnin-Womersley

* ChP, ChP+DM, DM vs. KON, ^b ChP, ChP+DM vs. DM, ⁺ ChP vs. ChP+DM

* P < 0,05, ** P < 0,01, *** P < 0,001

Tabulka 3: Základní biochemická data sledovaných skupin

Proměnná	ChP	ChP+DM	DM	KON
Na (mmol/l)	140,4 ± 3,1	139,7 ± 3,7	139,9 ± 2,4	141,97 ± 2,71
K (mmol/l)	4,33 ± 0,34	4,40 ± 0,37	4,32 ± 0,44	4,37 ± 0,41
Cl (mmol/l)	102,0 ± 3,58**	102,0 ± 3,8**	101,5 ± 2,7***	105,13 ± 2,35
Ca (mmol/l)	2,27 ± 0,12	2,32 ± 0,14	2,34 ± 0,11	2,28 ± 0,11
P (mmol/l)	1,05 ± 0,14	1,02 ± 0,19 ^b	1,11 ± 0,17*	1,04 ± 0,16
Fe (μmol/l)	17,5 ± 7,5	17,3 ± 7,3	16,6 ± 4,2	17,92 ± 7,36
Cu (μmol/l)	17,7 ± 3,6	19,3 ± 4,7**	17,2 ± 3,7	15,95 ± 3,12
Mg (mmol/l)	0,81 (0,73–0,85)**	0,76 (0,71–0,86)** ⁺	0,84 (0,77–0,92)	0,88 (0,82–0,93)
Zn (μmol/l)	18,1 ± 4,1	19,2 ± 4,3	20,2 ± 3,4	17,59 ± 3,31
Glu (mmol/l)	5,10 ± 0,71 ^{bbb+++}	7,41 ± 2,99***	8,21 ± 2,63***	5,03 ± 0,46
Insulin (mU/l)	5,0 (3,7–6,8) ^{bbb+}	9,6 (4,2–13,0)	11,8 (9,0–20,5)**	6,6 (4,8–8,7)
C-peptid (nmol/l)	0,55 (0,48–0,64) ^{bbb}	0,68 (0,55–0,90) ^{bb}	0,99 (0,73–1,34)***	0,63 (0,51–0,74)
HOMA-IR	1,15 (0,77–1,50) ^{bbb+++}	2,53 (1,31–4,12) ^b	4,13 (3,01–7,12)***	1,37 (0,98–1,90)
Urea (mmol/l)	5,08 ± 1,48 ^b	5,24 ± 2,13 ^b	6,15 ± 1,68*	5,39 ± 1,14
Kreatinin (μmol/l)	75,6 ± 15,3 ^{b*}	79,4 ± 18,3	84,5 ± 16,4	85,3 ± 14,7
Urikémie (μmol/l)	294,8 ± 97,3	302,4 ± 70,5	306,8 ± 80,3	321,9 ± 84,7
Bilirubin (μmol/l)	9,7 (6,5–13,9)	9,6 (7,4–14,3)	10,4 (7,5–14,8)	11,4 (8,8–14,4)
ALT (μkat/l)	0,39 (0,29–0,48) ^b	0,46 (0,35–0,71)	0,58 (0,44–0,74)	0,43 (0,31–0,56)
AST (μkat/l)	0,46 (0,35–0,55)	0,44 (0,36–0,55)*	0,48 (0,40–0,59)	0,43 (0,36–0,51)
GGT (μkat/l)	0,59 (0,33–1,02)	0,69 (0,36–1,53)	0,65 (0,49–1,38)	0,39 (0,28–0,57)
ALP (μkat/l)	1,13 (0,96–1,39)	1,29 (1,11–2,19) ^{b*}	1,00 (0,74–1,19)	1,01 (0,88–1,23)
CB (g/l)	73,3 ± 7,3 ^{bb}	75,4 ± 6,8	78,0 ± 5,3**	73,4 ± 4,1
Albumin (g/l)	44,6 ± 5,0 ^{bb}	45,5 ± 3,8 ^b	48,0 ± 3,0	46,50 ± 3,15
CRP (mg/l)	3,9 (1,3–7,0)	2,3 (1,0–7,4)	4,2 (3,6–5,5)*	2,0 (2,0–4,2)
Prealbumin (g/l)	0,25 ± 0,05	0,25 ± 0,07	0,28 ± 0,05	0,26 ± 0,05

Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr ± SD pro parametrické veličiny a jako medián (0,25 - 0,75 percentil) pro neparametrické veličiny.

Zkratky: ALT – alanin-aminotransferáza; AST – aspartát-aminotransferáza; GGT – gama-glutamyl-transferáza; ALP – alkalická fosfatáza; HOMA-IR – homeostasis model assessment for insulin resistance; CRP – C-reaktivní protein

ChP, ChP+DM, DM vs. KON, ^b ChP, ChP+DM vs. DM, ⁺ ChP vs. ChP+DM

* P < 0,05, ** P < 0,01, *** P < 0,001

Koncentrace FA a parametry elongace a desaturace ve třídě PL jsou uvedeny v Tab. 5a, 5b. Ve srovnání s kontrolní skupinou jsme ve třídě PL pozorovali zvýšený obsah kyseliny palmitolejové, která je markerem lipogeneze *de novo*; statistické významnosti dosáhlo toto zvýšení u skupiny ChP+DM. Zvýšené byly i koncentrace dalších MUFA – kyseliny olejové a vakcenové u pacientů s ChP bez ohledu na přítomnost DM; u těchto dvou skupin byl zvýšen i obsah celkových MUFA. Dále byly u obou skupin s ChP zvýšeny i hodnoty příslušných Δ9-desaturáz.

Tabulka 4: Lipidové parametry

Proměnná	ChP	ChP+DM	DM	KON
TC (mmol/l)	4,9 ± 1,2 ^{bb}	4,3 ± 1,3 ^{bb}	4,4 ± 1,0 ^{***}	5,2 ± 0,9
TAG (mmol/l)	1,17 (0,87–1,45) ^{bbb+}	1,46 (1,10–2,07) ^{b***}	1,89 (1,20–2,59)	0,88 (0,73–1,24)
HDL-C (mmol/l)	1,48 ± 0,59 ^{bb}	1,48 ± 0,57 ^{bb}	1,11 ± 0,23 ^{**}	1,51 ± 0,33
LDL-C (mmol/l)	2,98 ± 0,90 ^{bbb}	2,66 ± 0,84 ^{b**}	2,19 ± 0,65 ^{***}	3,30 ± 0,79
AI ^a (poměr)	2,63 ± 1,05	2,54 ± 1,04	2,94 ± 0,86	2,63 ± 0,77
Apo A1 (g/l)	1,50 ± 0,47 ^{bb}	1,60 ± 0,47 ^{bbb}	1,20 ± 0,21 ^{**}	1,39 ± 0,24
Apo B (g/l)	1,00 ± 0,24	0,95 ± 0,29	0,91 ± 0,25	0,99 ± 0,23
KD (mmol/l)	47,4 ± 11,3 ^b	50,7 ± 15,1 ^{bb}	44,3 ± 16,4 [*]	47,2 ± 12,7
KD/LDL (poměr)	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01 ^{**}	0,02 ± 0,01 [*]	0,01 ± 0,00
NEMK (mmol/l)	0,54 ± 0,31	0,67 ± 0,45	0,60 ± 0,25	0,51 ± 0,25
Lp(a) (g/l)	0,07 (0,04–0,19) ^b	0,08 (0,00–0,26) ^b	0,13 (0,04–0,29) [*]	0,11 (0,05–0,26)
HCY (μmol/l)	16,3 (13,5–19,7)	15,1 (12,0–18,8)	17,0 (12,8–21,5)	16,1 (12,5–18,1)

Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr ± SD pro parametrické veličiny a jako medián (0,25 - 0,75 percentil) pro neparametrické veličiny.

Zkratky: TC – celkový cholesterol, TAG – triacylglyceroly, HDL-C – cholesterol v lipoproteinu HDL, LDL-C – cholesterol v lipoproteinu LDL, AI – aterogenní index, Apo – apolipoprotein, KD- konjugované dieny, NEMK- neesterifikované mastné kyseliny, HCY- homocystein; Lp(a)- lipoprotein (a)

^a) $AI = [12:0 + 4 \times 14:0 + 16:0] \times [PUFAn-6 + PUFAn-3 + MFA]^{-1}$;

* ChP, ChP+DM, DM vs. KON, ^b ChP, ChP+DM vs. DM, ⁺ ChP vs. ChP+DM

* P < 0,05, ** P < 0,01, *** P < 0,001

U všech skupin pacientů jsme zaznamenali snížený obsah kyseliny linolové; u jejího desaturačního produktu kyseliny γ -linolenové nebylo zvýšení statisticky významné, ale významnosti dosáhlo zvýšení hodnoty $\Delta 9$ -desaturázy, a to opět u všech skupin pacientů. Snížení obsahu celkových PUFA n-6 bylo zjištěno u obou skupin s ChP.

U jednotlivých PUFA jsme sledovali i ukazatele desaturace a elongace ve formě poměru produkt/prekurzor. Tyto hodnoty byly zvýšené u všech skupin pro poměr 18:3/18:2n-6, 20:3/18:2n-6; u obou skupin pacientů s ChP jsme zaznamenali zvýšené hodnoty pro poměr 22:4-20:4n-6 a snížené pro 22:6/22:5n-3. Pro skupinu s ChP byl snížen poměr 20:4/20:3n-6 a 20:3/20:2n-6, pro skupinu DM byl poměr 20:3/20:2n-6 zvýšen, stejně jako poměry 20:4/18:2n-6 a 22:5/18:3n-3.

Přítomnost ChP zřejmě způsobila rozdíl v obsahu některých FA ve srovnání se skupinou DM. Zjistili jsme zvýšený obsah kyseliny *cis*-7-hexadecenové u skupiny ChP, kyseliny palmitolejové u skupiny ChP+DM, a zvýšený obsah kyseliny olejové, vakcenové a *cis*-11-eikosenové u obou skupin; stejně významný rozdíl byl zaznamenán i u obsahu celkových MUFA.

Tabulka 5a: Mastné kyseliny ve třídě fosfatidylcholinu

Proměnná	ChP	ChP+DM	DM	KON
12:0	0,008 ± 0,009 ^{bb}	0,011 ± 0,011	0,017 ± 0,018	0,013 ± 0,010
14:0	0,269 ± 0,074	0,296 ± 0,163 ^{bb}	0,221 ± 0,071	0,260 ± 0,080
14:1n-5	0,003 ± 0,004	0,004 ± 0,006	0,005 ± 0,005	0,004 ± 0,007
16:0	30,804 ± 4,088	30,875 ± 3,858	30,330 ± 2,216	29,593 ± 1,094
16:1n-9	0,126 ± 0,041 ^{bbb**+}	0,111 ± 0,031	0,099 ± 0,022	0,104 ± 0,024
16:1n-7	0,818 ± 0,382	1,052 ± 1,118 ^{bb***}	0,620 ± 0,472	0,481 ± 0,132
18:0	13,598 ± 2,062	13,627 ± 1,749	13,499 ± 1,599	13,457 ± 0,764
18:1n-9	12,523 ± 2,741 ^{bbb***}	12,567 ± 3,731 ^{bb***}	10,496 ± 2,100	10,156 ± 1,151
18:1n-7	1,849 ± 0,414 ^{bbb***}	1,803 ± 0,455 ^{bbb***}	1,459 ± 0,246	1,520 ± 0,197
18:2n-6	20,234 ± 3,492 ^{***}	19,125 ± 4,364 ^{***}	19,731 ± 3,365 ^{***}	23,343 ± 2,633
18:3n-6	0,107 ± 0,058	0,099 ± 0,044	0,113 ± 0,053	0,086 ± 0,031
18:3n-3	0,231 ± 0,136 ^{bbb++}	0,168 ± 0,068	0,138 ± 0,049*	0,195 ± 0,064
20:0	0,060 ± 0,018 ^b	0,053 ± 0,015	0,049 ± 0,014*	0,060 ± 0,018
20:1n-9	0,166 ± 0,046 ^{bbb**+}	0,149 ± 0,037 ^{bb}	0,125 ± 0,023	0,140 ± 0,040
20:2n-6	0,521 ± 0,245 ^{bbb**+}	0,427 ± 0,273 ^b	0,306 ± 0,088	0,360 ± 0,109
20:3n-6	3,181 ± 0,832	3,159 ± 0,878	3,255 ± 0,478	3,096 ± 0,588
20:4n-6	10,391 ± 3,021 ^{bbb}	11,252 ± 3,279 ^{bbb}	13,721 ± 2,882*	11,626 ± 1,935
20:5n-3	0,887 ± 0,493	0,847 ± 0,438	0,880 ± 0,300	0,886 ± 0,368
22:4n-6	0,365 ± 0,109	0,350 ± 0,094	0,351 ± 0,084	0,330 ± 0,058
22:5n-6	0,252 ± 0,086	0,265 ± 0,117*	0,223 ± 0,056	0,215 ± 0,057
22:5n-3	0,950 ± 0,286	0,888 ± 0,241	0,923 ± 0,183	0,899 ± 0,125
22:6n-3	2,656 ± 1,090 ^{bb*}	2,872 ± 1,137 ^b	3,441 ± 0,856	3,179 ± 0,712
Σ SFA	44,739 ± 5,041	44,862 ± 4,654	44,116 ± 1,583	43,382 ± 0,971
Σ MUFA	15,485 ± 3,300 ^{bbb***}	15,686 ± 5,122 ^{bbb***}	12,803 ± 2,560	12,405 ± 1,313
Σ PUFA n-6	35,052 ± 5,755 ^{b**}	34,677 ± 7,343 ^{b***}	37,699 ± 3,025	39,054 ± 1,664
Σ PUFA n-3	4,725 ± 1,639	4,775 ± 1,601	5,382 ± 0,990	5,159 ± 0,996

Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr ± SD pro parametrické veličiny a jako medián (0,25 - 0,75 percentil) pro neparametrické veličiny (v mol %). Jsou uvedeny pouze relevantní mastné kyseliny (chybí koncentrace mastných kyselin 12:0; 14:1n-5; 20:0).

Zkratky a vysvětlivky: SFA – nasycené mastné kyseliny, MUFA – monoenoové mastné kyseliny; Σ - suma (celkové); PUFA n-3 (resp. – n-6) – vícenenasycené mastné kyseliny řady n-3 (resp. n-6); označení mastné kyseliny: počet C atomů: počet dvojných vazeb, n – počet atomů C od metylového konce kyseliny k první dvojně vazbě.

* ChP, ChP+DM, DM vs. KON, ^b ChP, ChP+DM vs. DM, ⁺ ChP vs. ChP+DM

* P < 0,05, ** P < 0,01, *** P < 0,001

Tabulka 5b: Desaturační a elongační parametry ve třídě fosfatidylcholinu

Proměnná	ChP	ChP+DM	DM	KON
$\Delta 9D$ 16:1n-/16:0	0,026 ± 0,012 [*]	0,032 ± 0,032 ^{b***}	0,020 ± 0,014	0,016 ± 0,005
$\Delta 9D$ 18:1n-/18:0	0,941 ± 0,240 ^{b**}	0,952 ± 0,394 ^{b**}	0,798 ± 0,232	0,759 ± 0,111
$\Delta 6D$ 18:3/18:2n-6	0,006 ± 0,003 [*]	0,006 ± 0,003 ^{**}	0,006 ± 0,003 ^{**}	0,004 ± 0,002
$\Delta 6DE$ 20:3/18:2n-6	0,158 ± 0,043 [*]	0,168 ± 0,050 ^{***}	0,169 ± 0,034 ^{***}	0,134 ± 0,031
$\Delta 5D$ 20:3/20:2n-6	6,978 ± 2,992 ^{bbb*+}	8,618 ± 3,802 ^{bbb}	11,421 ± 3,345 ^{**}	9,061 ± 2,266
$\Delta 5D$ 20:4/20:3n-6	3,295 ± 1,020 ^{bbb*}	3,600 ± 0,858 ^b	4,318 ± 1,160	3,954 ± 1,353
$\Delta 4D^a$ 22:5/22:4n-6	0,692 ± 0,163	0,731 ± 0,188	0,647 ± 0,124	0,650 ± 0,126
$\Delta 4D^a$ 22:6/22:5n-3	2,757 ± 0,772 ^{bbb***+}	3,189 ± 1,018 ^{bb*}	3,842 ± 1,113	3,577 ± 0,828
$\Delta 6,5DE$ 20:4/18:2n-6	0,518 ± 0,170 ^{bbb}	0,594 ± 0,183 ^{bb}	0,729 ± 0,248 ^{***}	0,512 ± 0,143
$\Delta 6,5DE$ 22:5/18:3n-3	4,480 ± 3,127 ^{bb}	5,267 ± 2,929 ^b	6,831 ± 2,304 [*]	5,115 ± 3,526
E 18:2-20:2n-6	0,026 ± 0,014 ^b	0,026 ± 0,034 ^{b*}	0,016 ± 0,006	0,016 ± 0,005
E 18:3-20:3n-6	36,102 ± 17,454	38,090 ± 18,608	35,299 ± 16,333	39,092 ± 11,131
E 20:4-22:4n-6	0,036 ± 0,006 ^{bbb***}	0,033 ± 0,013 ^{bbb*}	0,026 ± 0,005	0,029 ± 0,006
E 20:5-22:5n-3	2,186 ± 6,075	1,529 ± 2,067	1,143 ± 0,384	1,120 ± 0,329

Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr ± SD pro parametrické veličiny a jako medián (0,25 - 0,75 percentil) pro neparametrické veličiny (v mol %).

ChP, ChP+DM, DM vs. KON, ^b ChP, ChP+DM vs. DM, ⁺ ChP vs. ChP+DM

* P < 0,05, ** P < 0,01, *** P < 0,001

a) schematický záznam pro E, $\Delta 6D$ a β -oxidaci; D – desaturáza, E - elongáza

Koncentrace kyseliny linolové se u skupin s ChP nelišily od skupiny DM, snížený obsah byl zaznamenán u kyseliny arachidonové, která je elongačním a desaturačním produktem kyseliny olejové. Stejnou změnu jsme zaznamenali i u celkového obsahu PUFA n-6. Z jednotlivých poměrů produkt/prekurzor byly ve srovnání se skupinou DM snížené hodnoty 20:4/20:3n-6, 20:3/20:2n-6, 20:4/18:2n-6, 20:2/18:2n-6, 22:6/22:5n-3, 22:5/18:3n-3. Je třeba zmínit, že desaturace 22:5n-3 na 22:6n-3 neprobíhá přímo, ale přes elongaci 22:5n-3 na 24:5n-3, dále desaturaci 24:5n-3 na 24:6n-3 a β -oxidaci 24:6n-3 na 22:6n-3.

Mastné kyseliny v TAG a odvozené parametry u jednotlivých sledovaných skupin jsou uvedeny v Tab. 6a, 6b. Ve srovnání s kontrolní skupinou jsme ve třídě TAG pozorovali rovněž zvýšený obsah kyseliny palmitolejové; statistické významnosti dosáhlo toto zvýšení u obou skupin s ChP. Z dalších MUFA jsme pozorovali zvýšený obsah kyseliny vakcenové u pacientů s ChP+DM; zvýšený obsah celkových MUFA byl zjištěn pouze u skupiny ChP. Dále byla u obou skupin s ChP zvýšena i hodnota $\Delta 9$ -desaturázy kyseliny palmitové. Z nasycených FA byl zvýšen obsah kyseliny palmitové, statistické významnosti dosáhlo zvýšení jen u skupiny DM, stejně jako zvýšení celkových SFA; Významné snížení obsahu kyseliny

arachové u všech skupin pacientů nemělo na celkový výsledek vliv vzhledem k jejímu minoritnímu zastoupení.

Tabulka 6a: Mastné kyseliny ve třídě triacylglycerolů

Proměnná	ChP	ChP+DM	DM	KON
12:0	0,190 ± 0,118	0,304 ± 0,514*	0,233 ± 0,303	0,116 ± 0,097
14:0	1,745 ± 0,610	2,058 ± 1,279	1,801 ± 0,774	1,711 ± 0,592
14:1n-5	0,125 ± 0,074	0,153 ± 0,136 ^{b**}	0,098 ± 0,063	0,084 ± 0,052
16:0	26,637 ± 3,085 ^b	26,912 ± 3,191 ^b	28,476 ± 2,931 ^{***}	25,812 ± 2,946
16:1n-9	0,724 ± 0,199	0,658 ± 0,153	0,681 ± 0,159	0,681 ± 0,143
16:1n-7	4,588 ± 1,177 ^{b**}	4,704 ± 2,354 ^{***}	3,828 ± 1,694	3,262 ± 0,918
18:0	3,111 ± 0,809	3,193 ± 0,769	3,255 ± 0,870	3,261 ± 0,733
18:1n-9	42,026 ± 3,317	40,985 ± 2,971	40,074 ± 3,570	41,013 ± 3,879
18:1n-7	2,750 ± 0,436	2,744 ± 0,436*	2,537 ± 0,402	2,547 ± 0,338
18:2n-6	13,609 ± 3,131 ^{**}	13,947 ± 4,236 ^{**}	14,526 ± 4,118*	16,774 ± 5,014
18:3n-6	0,303 ± 0,134	0,266 ± 0,123	0,296 ± 0,150	0,334 ± 0,173
18:3n-3	0,763 ± 0,409	0,706 ± 0,357	0,665 ± 0,239	0,851 ± 0,340
20:0	0,038 ± 0,020 ^{**}	0,037 ± 0,016 ^{**}	0,044 ± 0,025*	0,054 ± 0,027
20:1n-9	0,286 ± 0,082 ^b	0,269 ± 0,050	0,244 ± 0,047	0,279 ± 0,076
20:2n-6	0,331 ± 0,151 ^{bbb**}	0,300 ± 0,143 ^{bbb*}	0,167 ± 0,067 ^{**}	0,242 ± 0,099
20:3n-6	0,326 ± 0,123	0,322 ± 0,118	0,299 ± 0,115	0,300 ± 0,092
20:4n-6	1,389 ± 0,420	1,361 ± 0,591	1,544 ± 0,753	1,429 ± 0,652
20:5n-3	0,152 ± 0,092	0,138 ± 0,087	0,161 ± 0,074	0,185 ± 0,156
22:4n-6	0,158 ± 0,041	0,165 ± 0,042	0,187 ± 0,070	0,164 ± 0,043
22:5n-6	0,101 ± 0,039	0,104 ± 0,043	0,094 ± 0,045	0,097 ± 0,025
22:5n-3	0,289 ± 0,094	0,274 ± 0,101	0,302 ± 0,112	0,327 ± 0,115
22:6n-3	0,360 ± 0,166	0,403 ± 0,274	0,488 ± 0,322	0,477 ± 0,368
Σ SFA	31,721 ± 3,962	32,503 ± 4,446	33,810 ± 3,797*	30,954 ± 3,663
Σ MUFA	50,499 ± 3,735 ^{bb*}	49,513 ± 3,525	47,462 ± 4,073	47,865 ± 4,451
ΣPUFA n-6	16,215 ± 3,321*	16,463 ± 4,831*	17,112 ± 4,815*	19,341 ± 5,486
ΣPUFA n-3	1,565 ± 0,610	1,521 ± 0,635	1,616 ± 0,612	1,840 ± 0,707

Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr ± SD pro parametrické veličiny a jako medián (0,25 - 0,75 percentil) pro neparametrické veličiny (v mol %). Jsou uvedeny pouze relevantní mastné kyseliny (chybí koncentrace mastných kyselin 12:0; 14:1n-5; 20:0).

Zkratky a vysvětlivky: SFA – nasycené mastné kyseliny, MUFA – monoenoové mastné kyseliny; Σ - suma (celkové); PUFA n-3 (resp. – n-6) – vícenenasycené mastné kyseliny řady n-3 (resp. n-6); označení mastné kyseliny: počet C atomů: počet dvojných vazeb, n – počet atomů C od metylového konce kyseliny k první dvojně vazbě.

* ChP, ChP+DM, DM vs. KON, ^b ChP, ChP+DM vs. DM, ⁺ ChP vs. ChP+DM

* P < 0,05, ** P < 0,01, *** P < 0,001

U všech skupin pacientů jsme stejně jako u PL zaznamenali snížený obsah LA, který se odrazil i ve snížení obsahu celkových PUFA n-6. U obou skupin s ChP byly zvýšené hodnoty produkt/prekurzor pro FA 20:3/18:2n-6 a 20:2-18:2n-6, hodnota elongace 18:3-

20:3n-6 byla zvýšena jen u skupiny ChP+DM. U samotného DM byla zvýšena hodnota poměru 20:3/20:2n-6 a snížena hodnota 22:5/22:4n-6. U posledního z nich je rovněž třeba zmínit, že desaturace neprobíhá přímo, ale přes meziprodukty s 24 atomy uhlíku stejně jako v již zmíněné řadě n-3.

Tabulka 6b: Desaturační a elongační parametry ve třídě triacylglycerolů

Proměnná	ChP	ChP+DM	DM	KON
$\Delta 9D$ 16:1n-/16:0	0,174 ± 0,052 ^{bb**}	0,173 ± 0,078 ^{bb**}	0,133 ± 0,050	0,127 ± 0,038
$\Delta 9D$ 18:1n-/18:0	14,538 ± 4,405	13,599 ± 3,603	13,254 ± 3,985	13,226 ± 3,185
$\Delta 6D$ 18:3/18:2n-6	0,024 ± 0,013	0,020 ± 0,008	0,021 ± 0,009	0,020 ± 0,008
$\Delta 6DE$ 20:3/18:2n-6	0,024 ± 0,009 ^{b***}	0,024 ± 0,006 ^{**}	0,021 ± 0,005	0,019 ± 0,006
$\Delta 5D$ 20:3/20:2n-6	1,153 ± 0,507 ^{bbb}	1,298 ± 0,648 ^{bbb}	1,970 ± 0,689 ^{***}	1,457 ± 0,814
$\Delta 5D$ 20:4/20:3n-6	4,470 ± 1,117 ^b	4,330 ± 1,209 ^b	5,245 ± 1,553	4,776 ± 1,191
$\Delta 4D^a$ 22:5/22:4n-6	0,642 ± 0,211 ^b	0,629 ± 0,199 ^b	0,508 ± 0,158 [*]	0,614 ± 0,182
$\Delta 4D^a$ 22:6/22:5n-3	1,261 ± 0,491	1,451 ± 0,618	1,568 ± 0,578	1,404 ± 0,485
$\Delta 6,5DE$ 20:4/18:2n-6	0,107 ± 0,038	0,101 ± 0,040	0,109 ± 0,041	0,087 ± 0,032
$\Delta 6,5DE$ 22:5/18:3n-3	0,225 ± 0,129	0,211 ± 0,105	0,255 ± 0,110	0,244 ± 0,263
E 18:2-20:2n-6	0,026 ± 0,015 ^{bbb***}	0,022 ± 0,012 ^{bb***}	0,012 ± 0,005	0,016 ± 0,008
E 18:3-20:3n-6	1,254 ± 0,628	1,366 ± 0,514 [*]	1,161 ± 0,474	1,024 ± 0,379
E 20:4-22:4n-6	0,117 ± 0,023	0,131 ± 0,034	0,128 ± 0,028	0,124 ± 0,033
E 20:5-22:5n-3	2,327 ± 1,018	2,341 ± 0,947	2,099 ± 0,887	2,171 ± 0,755

Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr ± SD pro parametrické veličiny a jako medián (0,25 - 0,75 percentil) pro neparametrické veličiny (v mol %).

* ChP, ChP+DM, DM vs. KON, ^b ChP, ChP+DM vs. DM, ⁺ ChP vs. ChP+DM

* P < 0,05, ** P < 0,01, *** P < 0,001

^a) schematický záznam pro E, $\Delta 6D$ a β -oxidaci; D – desaturáza, E - elongační

Podobně jako ve třídě PL jsme u skupiny ChP zaznamenali rozdíl v obsahu některých FA ve srovnání se skupinou DM. Zjistili jsme nižší obsah kyseliny palmitové u obou skupin s ChP, který se neuplatnil v celkové koncentraci SFA. Zvýšený byl obsah kyseliny palmitolejové a *cis*-11-eikosenové u skupiny ChP, zvýšení se projevilo i v celkové koncentraci MUFA. Koncentrace LA se u skupin s ChP nelišily od skupiny DM, mírně leč statisticky významně byl zvýšen obsah jejího elongačního produktu kyseliny *cis*-11,14-eikosadienové, který ale neovlivnil celkový obsah PUFA n-6.

Mastné kyseliny a odvozené parametry v CE u jednotlivých sledovaných skupin jsou uvedeny v Tab. 7a,7b. Tak jako ve třídách PL a TAG jsme ve srovnání s kontrolní skupinou i ve třídě CE zaznamenali zvýšený obsah kyseliny palmitolejové; statistické významnosti dosáhlo toto zvýšení u obou skupin s ChP. Z dalších MUFA jsme pozorovali zvýšený obsah kyseliny

olejové a vakcenové u obou skupin pacientů s ChP; toto zvýšení se odrazilo i v obsahu celkových MUFA v těchto skupinách. Zvýšení hodnoty $\Delta 9$ -desaturázy kyseliny palmitové dosáhlo statistické významnosti pouze u skupin ChP+DM.

Tabulka 7a: Mastné kyseliny ve třídě esterů cholesterolu

Proměnná	ChP	ChP+DM	DM	KON
12:0	0,104 ± 0,076*	0,093 ± 0,065	0,073 ± 0,080	0,060 ± 0,069
14:0	0,676 ± 0,223	0,697 ± 0,298	0,712 ± 0,304	0,706 ± 0,207
14:1n-5	0,023 ± 0,021	0,022 ± 0,014	0,027 ± 0,027	0,023 ± 0,019
16:0	10,845 ± 1,195	11,346 ± 3,503	10,715 ± 1,993	10,048 ± 1,798
16:1n-9	0,408 ± 0,135* ⁺	0,330 ± 0,174 ^{bbb}	0,455 ± 0,111***	0,319 ± 0,124
16:1n-7	4,241 ± 1,824*	4,706 ± 3,454**	3,770 ± 2,721	2,690 ± 0,770
18:0	0,645 ± 0,202	0,975 ± 2,017	0,663 ± 0,206	0,591 ± 0,167
18:1n-9	21,650 ± 3,378*	22,125 ± 3,997**	20,603 ± 4,236	19,463 ± 2,512
18:1n-7	1,369 ± 0,252 ^{bb*}	1,335 ± 0,195 ^{bb*}	1,150 ± 0,244	1,211 ± 0,312
18:2n-6	50,588 ± 5,368***	49,270 ± 7,625***	49,626 ± 6,622***	56,546 ± 4,148
18:3n-6	0,955 ± 0,511*	0,822 ± 0,414 ^b	1,092 ± 0,471***	0,724 ± 0,260
18:3n-3	0,543 ± 0,220 ^{b+}	0,435 ± 0,157	0,427 ± 0,147	0,486 ± 0,150
20:0	0,029 ± 0,053	0,016 ± 0,016	0,021 ± 0,021	0,015 ± 0,011
20:1n-9	0,055 ± 0,103**	0,029 ± 0,033	0,030 ± 0,030	0,014 ± 0,011
20:2n-6	0,100 ± 0,087	0,071 ± 0,067	0,069 ± 0,062	0,081 ± 0,093
20:3n-6	0,738 ± 0,148	0,834 ± 0,531*	0,766 ± 0,129	0,659 ± 0,145
20:4n-6	6,221 ± 2,428 ^{bbb}	6,139 ± 2,849 ^{bbb}	9,037 ± 5,157***	5,830 ± 2,615
20:5n-3	0,452 ± 0,644	0,362 ± 0,393	0,433 ± 0,365	0,299 ± 0,310
22:4n-6	0,020 ± 0,026	0,021 ± 0,050	0,013 ± 0,011	0,016 ± 0,012
22:5n-6	0,034 ± 0,033*	0,032 ± 0,037*	0,021 ± 0,016	0,016 ± 0,011
22:5n-3	0,036 ± 0,028	0,052 ± 0,165	0,026 ± 0,015	0,020 ± 0,013
22:6n-3	0,270 ± 0,279	0,289 ± 0,526	0,272 ± 0,212	0,186 ± 0,163
Σ SFA	12,298 ± 1,333	13,127 ± 5,381	12,184 ± 1,862	11,420 ± 1,968
Σ MUFA	27,745 ± 4,947**	28,547 ± 7,290**	26,034 ± 6,303	23,719 ± 3,233
Σ PUFA n-6	58,656 ± 5,130 ^{b***}	57,189 ± 8,019**	60,624 ± 7,172*	63,870 ± 4,541
Σ PUFA n-3	1,301 ± 0,975	1,138 ± 1,050	1,158 ± 0,677	0,992 ± 0,525

Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr ± SD pro parametrické veličiny a jako medián (0,25 - 0,75 percentil) pro neparametrické veličiny (v mol %). Jsou uvedeny pouze relevantní mastné kyseliny (chybí koncentrace mastných kyselin 12:0; 14:1n-5; 20:0).

Zkratky a vysvětlivky: SFA – nasycené mastné kyseliny, MFA – monoenoové mastné kyseliny; Σ - suma (celkové); PUFA n-3 (resp. – n-6) – vícenenasycené mastné kyseliny řady n-3 (resp. n-6); označení mastné kyseliny: počet C atomů: počet dvojných vazeb, n – počet atomů C od metylového konce kyseliny k první dvojně vazbě.

ChP, ChP+DM, DM vs. KON, ^b ChP, ChP+DM vs. DM, ⁺ ChP vs. ChP+DM

* P < 0,05, ** P < 0,01, *** P < 0,001

Stejně jako v PL a TAG jsme i v CE u všech skupin pacientů zaznamenali snížený obsah kyseliny linolové, který se odrazil i ve snížení obsahu celkových PUFA n-6. Desaturační produkt této FA, kyselina γ -linolenová, byla zvýšena u všech skupin; u skupiny ChP+DM toto zvýšení nedosáhlo statistické významnosti, stejně jako zvýšené hodnoty $\Delta 6$ -desaturázy kyseliny linolové. U skupiny DM byly zvýšené hodnoty produkt/prekursor pro FA 20:4/18:2n-6 a 20:4/20:3n-6.

Podobně jako ve třídách PL a TAG jsme i v CE zaznamenali rozdíl v obsahu některých FA u skupin ChP ve srovnání se skupinou DM. Snížený byl obsah kyseliny *cis*-7-hexadecenové u skupiny ChP+DM, a obsah kyseliny arachidonové u obou skupin s ChP. Snížení celkového obsahu PUFA n-6 bylo statisticky významné jen u skupiny ChP. Hodnoty poměru produkt/prekursor byly u obou skupin snižené pro kyseliny 20:4/18:2n-6 a 20:4/20:3n-6.

Tabulka 7b: Desaturační a elongační parametry ve třídě esterů cholesterolu

Proměnná	ChP	ChP+DM	DM	KON
$\Delta 9D$ 16:1n-/16:0	0,396 \pm 0,180	0,443 \pm 0,339*	0,352 \pm 0,250	0,276 \pm 0,104
$\Delta 9D$ 18:1n-/18:0	36,218 \pm 11,454	37,535 \pm 18,218	34,411 \pm 13,297	34,794 \pm 8,516
$\Delta 6D$ 18:3/18:2n-6	0,020 \pm 0,012**	0,017 \pm 0,009 ^b	0,023 \pm 0,013***	0,013 \pm 0,005
$\Delta 6DE$ 20:3/18:2n-6	0,015 \pm 0,004	0,020 \pm 0,029	0,016 \pm 0,003	0,012 \pm 0,003
$\Delta 5D$ 20:3/20:2n-6	8,33 (5,43 - 21,64)	22,173 \pm 19,469	15,67 (7,91 - 45,75)	15,66 (5,77 - 32,47)
$\Delta 5D$ 20:4/20:3n-6	8,399 \pm 3,241 ^{bb}	7,710 \pm 3,259 ^{bbb}	11,761 \pm 5,163**	9,119 \pm 5,023
$\Delta 4D^a$ 22:5/22:4n-6	3,044 \pm 4,609	2,820 \pm 2,446	1,58 (1,05 - 2,96)	1,692 \pm 2,053
$\Delta 4D^a$ 22:6/22:5n-3	8,211 \pm 5,420	8,477 \pm 5,967	11,668 \pm 8,319	9,946 \pm 8,030
$\Delta 6,5DE$ 20:4/18:2n-6	0,125 \pm 0,051 ^{bb}	0,131 \pm 0,092 ^{bb}	0,189 \pm 0,123***	0,104 \pm 0,051
$\Delta 6,5DE$ 22:5/18:3n-3	0,856 \pm 1,299	0,850 \pm 1,221	0,978 \pm 0,656	0,612 \pm 0,730
E 18:2-20:2n-6	0,002 \pm 0,002	0,002 \pm 0,003	0,002 \pm 0,002	0,001 \pm 0,002
E 18:3-20:3n-6	0,952 \pm 0,439	1,663 \pm 3,919	0,822 \pm 0,375	1,081 \pm 0,680
E 20:4-22:4n-6	0,004 \pm 0,005	0,003 \pm 0,005	0,002 \pm 0,003	0,004 \pm 0,005
E 20:5-22:5n-3	0,131 \pm 0,118	0,146 \pm 0,165	0,123 \pm 0,260	0,227 \pm 0,419

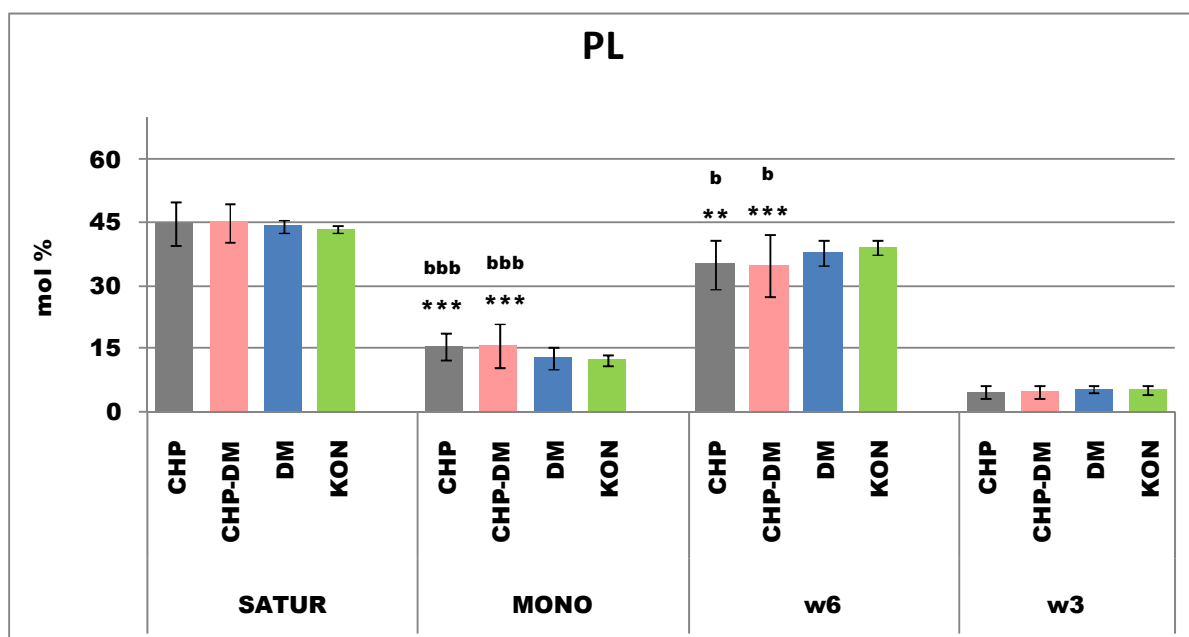
Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr \pm SD pro parametrické veličiny a jako medián (0,25 - 0,75 percentil) pro neparametrické veličiny (v mol %).

* ChP, ChP+DM, DM vs. KON, ^b ChP, ChP+DM vs. DM, ⁺ ChP vs. ChP+DM

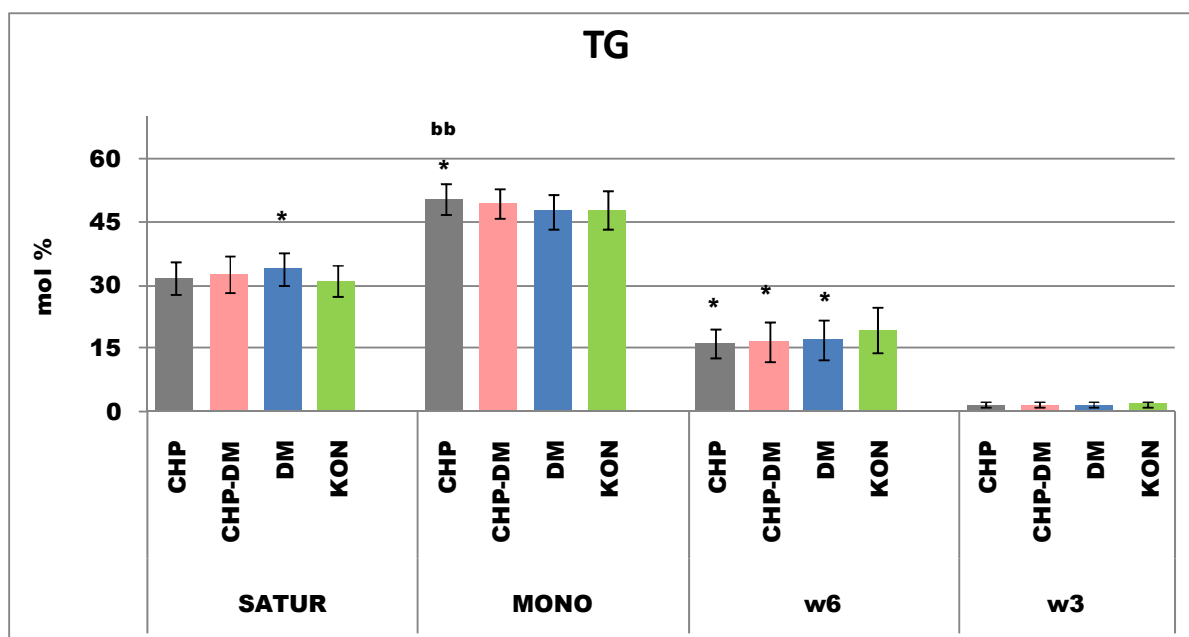
* P < 0,05, ** P < 0,01, *** P < 0,001

^a) schematický záznam pro E, $\Delta 6D$ a β -oxidaci; D – desaturáza, E - elongáza

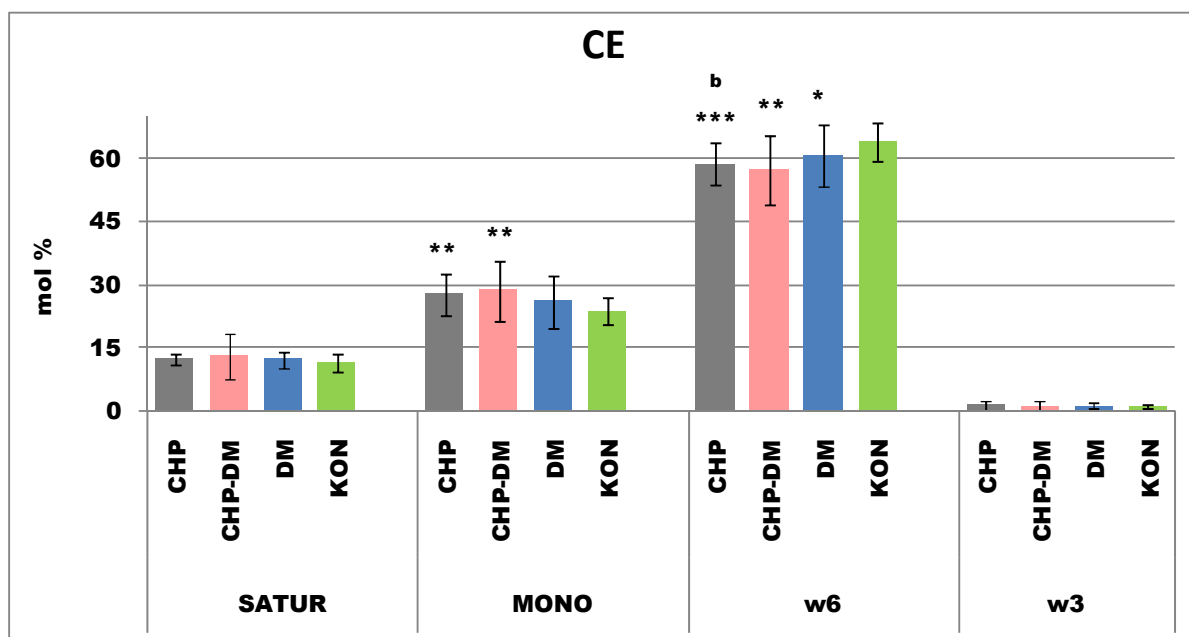
Srovnání koncentrací jednotlivých skupin FA ve všech lipidových třídách je přehledně uvedeno na obr. č. 4-6.



Obr. 4: Koncentrace jednotlivých skupin mastných kyselin ve fosfolipidech

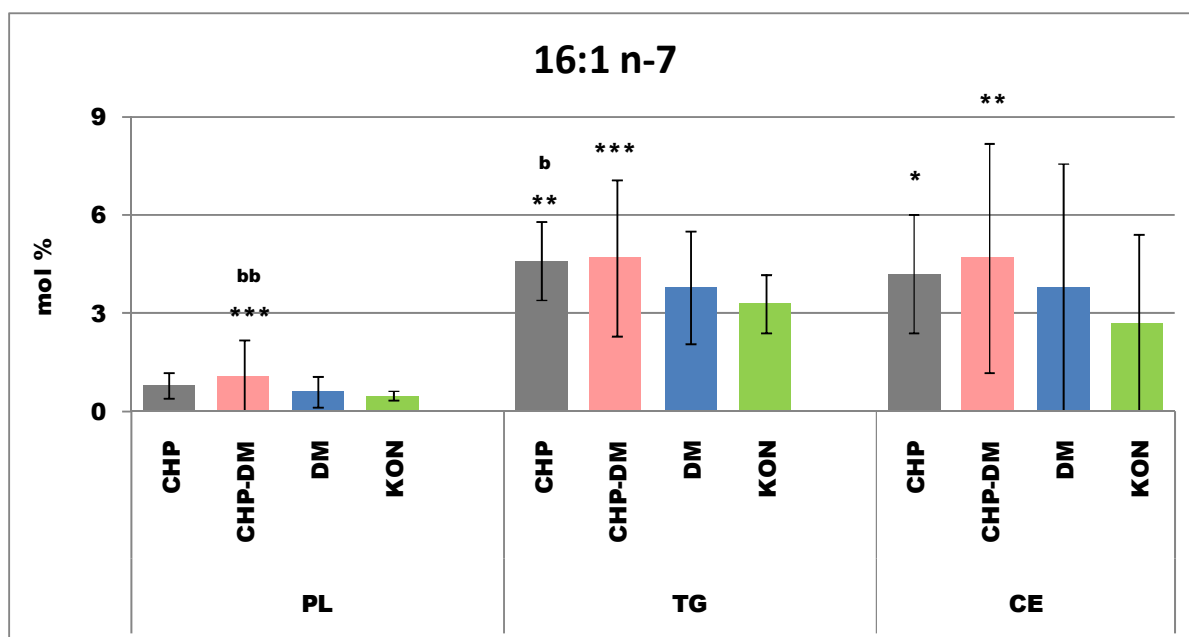


Obr. 5: Koncentrace jednotlivých skupin mastných kyselin v triacylglycerolech

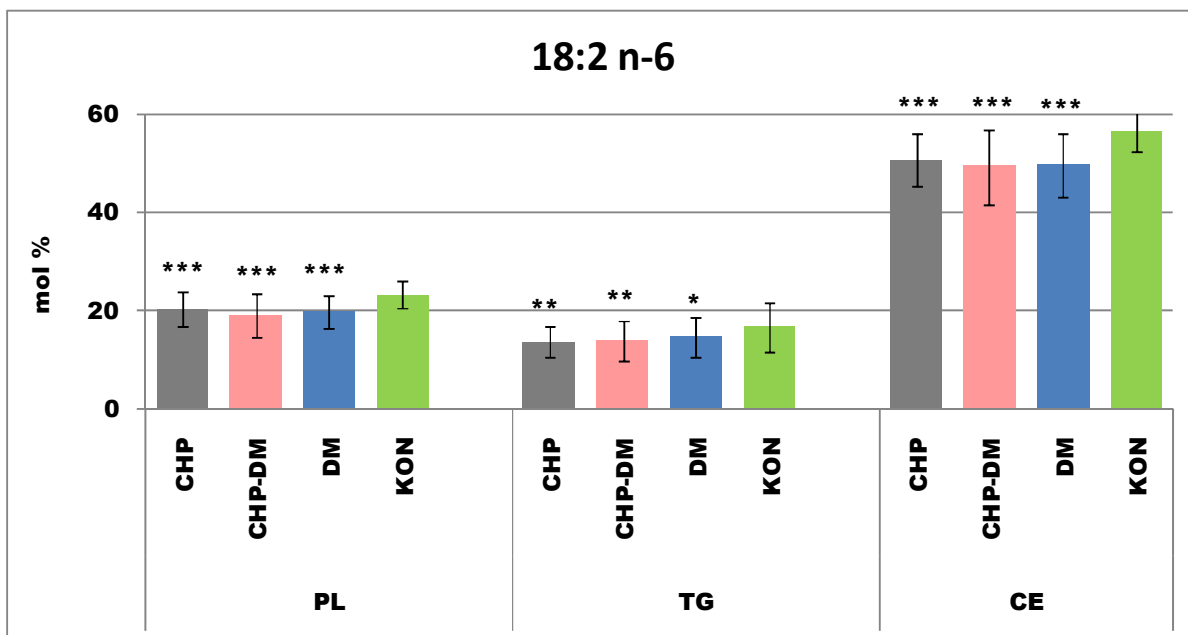


Obr. 6: Koncentrace jednotlivých skupin mastných kyselin v esterech cholesterolu

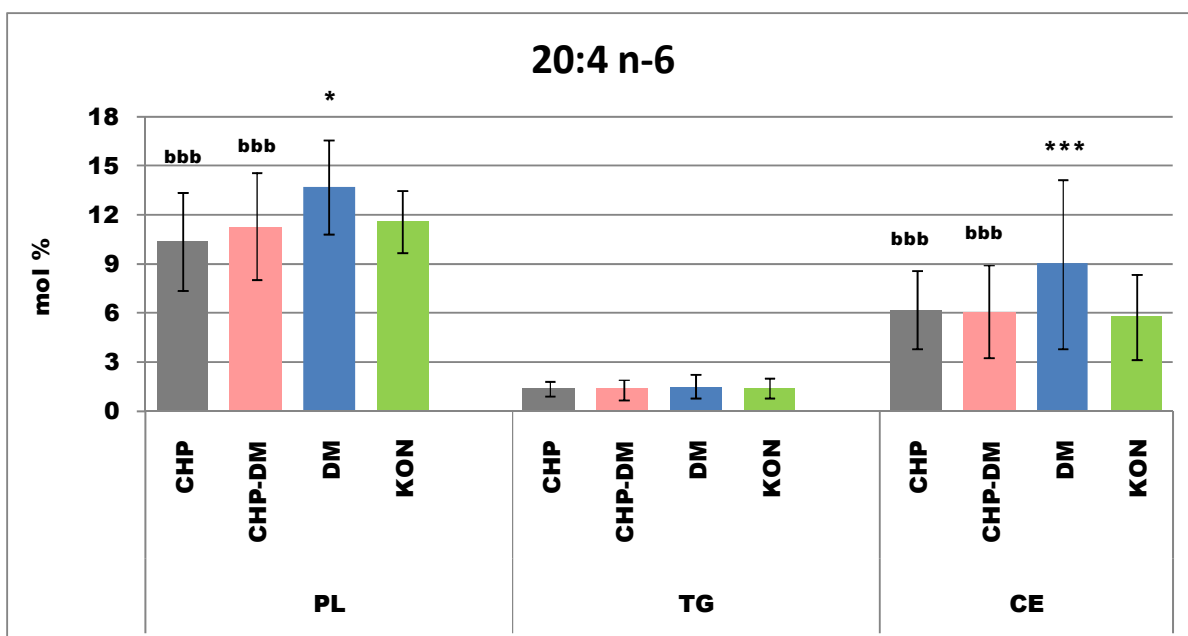
Nejvýraznější změny v koncentracích jednotlivých FA – kyseliny palmitolejové, linolové a arachidonové ve všech lipidových třídách ukazují přehledně obr. č. 7-9.



Obr. 7: Koncentrace kyseliny palmitolejové v lipidových třídách



Obr. 8: Koncentrace kyseliny linolové v lipidových třídách



Obr. 9: Koncentrace kyseliny arachidonové v lipidových třídách

4.2 Karcinom pankreatu

U pacientů s karcinomem pankreatu (KP) jsme prokázali signifikantně vyšší koncentrace celkových MUFA v PL, CE i TAG. Skupina KP měla nižší koncentrace celkových PUFA n-6 v PL a CE a nižší hladiny celkových PUFA n-3 v PL a TAG. Ve skupině s KP jsme našli vyšší hodnoty kyseliny palmitolejové v PL a CE, kyseliny olejové v PL, CE a TAG a kyseliny vakcenové v PL a CE. Byla nalezena zvýšená hodnota $\Delta 9$ -desaturázy, signifikantní zvýšení dosahovala ve třídách PL a TAG. Snížený podíl ve složení FA u pacientů s KP byl zaznamenán u kyseliny linolové v PL a CE, kyseliny α -linolenové ve všech lipidových třídách a kyseliny eikosapentaenové v PL a TAG. U pacientů s KP byla též zkoumána aktivita desaturáz, která byla vypočtena z poměru produkt/prekurzor. Byla nalezena zvýšená hodnota $\Delta 9$ -desaturázy, signifikantní zvýšení dosahovala ve třídách PL a TAG, a $\Delta 5$ -desaturázy ve všech lipidových třídách u pacientů s KP. Ve stejné skupině pacientů byla pozorována nižší aktivita $\Delta 6$ -desaturázy, která dosáhla statistické významnosti ve třídě TAG. V této práci byl zkoumán i vztah složení FA vzhledem ke stupni pokročilosti adenokarcinomu. Byla zjištěna statisticky významná negativní korelace mezi koncentrací kyseliny α -linolenové, kyseliny dihomogamma-linolenové, kyseliny eikosapentaenové, celkových PUFA n-3 a pokročilostí onemocnění.

Podrobné výsledky jsou uvedeny v publikaci Macášek J et al. 2012 (příloha 1).

5 DISKUZE

Nejdůležitější změny, které byly v naší studii zaznamenány, jsou zvýšení obsahu celkových MUFA, snížení obsahu PUFA n-6 a zvýšení aktivity $\Delta 9$ -desaturázy u pacientů s ChP i KP.

Změny ve složení FA u ChP jsou komplexního původu. Pravděpodobně zde hraje roli změněný příjem EFA v důsledku maldigesce tuků či sníženého vstřebávání EFA. Deficience EFA v případě malabsorbčního syndromu může mít vliv na metabolismus FA (Siguel a Lerman, 1996, Clandinin et al., 1995). Dále se na změnách ve složení FA uplatňují zvýšená lipoperoxidace (Zhang et al., 2008) a zvýšená syntéza eikosanoidů (Schlosser et al., 2002). Zvýšené koncentrace MUFA (kyselin olejové, palmitolejové, vakcenové) zaznamenané v naší práci souvisí se zvýšenou expresí syntázy FA, která může být zvýšeně exprimována ve tkáních slinivky břišní u ChP. Toto zjištění je v souladu s nálezy jiných autorů (Quilliot et al., 2003, Marosvolgyi et al., 2010). Walter et al. (2009) našli zvýšené sérové hladiny syntázy FA u chronické pankreatitidy i u karcinomu pankreatu.

V další studii, analyzující složení FA u pacientů s ChP, Quilliot et al. (2003) zahrnuli i pacienty s DM 1. typu a sledovali rozdíly ve složení FA mezi pacienty s DM 1. typu, pacienty s ChP bez DM, pacienty s ChP+DM a kontrolami. Zjistili signifikantně nižší hodnoty kyseliny dokosaheptaenové u pacientů s ChP+DM, což přisoudili vlivu DM a deficitu selenu (Quilliot et al., 2003), Dále zjistili vyšší hodnoty MUFA, což popisuje i naše práce.

Celkový obsah SFA byl zvýšen u skupiny DM v TAG. Marosvolgyi et al. (2010) u alkoholické ChP byl obsah zvýšen v CE a snížen v TAG (), v lipidu LDL nebyly shledány rozdíly (Quilliot et al., 2003). Kyselina palmitová byla zvýšená pouze u skupiny DM 2. typu v TAG. Quilliot et al. (2003) dospěli ke stejnému výsledku u ChP, nenašli žádnou změnu ani u skupiny DM 1. typu. Sledovali složení FA v celkovém lipidu izolovaného lipoproteinu LDL. U alkoholické ChP našli Marosvolgyi et al. (2010) snížený obsah této kyseliny v TAG a zvýšený v CE. U kyseliny stearové jsme nenašli žádné změny u nemocných ve srovnání s kontrolní skupinou. Snížený obsah této kyseliny popsali Quilliot et al. (2003) u skupiny ChP s DM, naopak zvýšený obsah našli Marosvolgyi et al. (2010) u pacientů s alkoholickou ChP ve třídách TAG a CE.

V naší práci jsme zjistili nižší hodnoty celkových MUFA ve všech lipidových třídách u ChP i ChP s DM. Dále jsme zjistili zvýšený obsah kyseliny *cis*-7-hexadecenové v PL u ChP a v CE u ChP i ChP+DM. Tato kyselina vzniká β -oxidací kyseliny olejové a lze se domnívat, že u pacientů s pankreatitidou dochází k jejímu zvýšení. V literatuře jsme nenašli práce, které

by zahrnovaly i stanovení obsahu kyseliny *cis*-7-hexadecenové, existují však studie humánní i experimentální, které dávají do souvislosti β -oxidaci se zánětem i přítomností nádoru (Liu Y, 2006, Russell a Tisdale, 2002, Hyltander et al., 1991). Zvýšenou koncentraci kyseliny palmitolejové jsme zaznamenali ve všech lipidových třídách u všech skupin, statistické významnosti dosahuje v PL u ChP+DM, v TAG u ChP i ChP+DM, v CE u samotných ChP a DM, ale ne u ChP+DM. Obdobně zvýšené hodnoty jsme našli i pro Δ 9-desaturázu kyseliny palmitové. Quilliot et al. (2003) našli obdobné změny skupiny ChP a ChP s DM. V naší studii vykazovala kyselina olejová zvýšený obsah u skupin ChP i ChP+DM v PL a CE, a u všech skupin (včetně DM) v TAG. K podobnému nálezu dospěli i Marosvolgyi et al. (2010) u alkoholické ChP ve třídách TAG a CE a Quilliot et al. (2003) u ChP i ChP s DM. Kyselina vakcenová byla v naší studii zvýšená u obou skupin s ChP ve všech lipidových třídách. Marosvolgyi et al., 2010 u alkoholické ChP zaznamenali zvýšení v PL a TAG, další autoři obsah kyseliny vakcenové nesledovali.

Nižší celkové hladiny PUFA n-6 jsme zjistili u všech skupin i lipidových tříd, pouze v PL u skupiny DM nedosáhlo snížení statistické významnosti. Marosvolgyi et al. (2010) zjistili u alkoholické ChP snížení PUFA n-6 jen ve třídě CE. Quilliot et al. (2003) v celkovém lipidu LDL změny obsahu PUFA n-6 nezaznamenali. V případě obsahu kyseliny linolové jsme pozorovali snížení u všech skupin ve všech lipidových třídách. U alkoholické ChP byl tento jev pozorován jen v CE (Marosvolgyi et al. 2010), v celkovém lipidu LDL bylo toto snížení pozorováno u skupin s ChP, statistické významnosti však dosáhlo jen u ChP s DM vůči DM 1. typu (Quilliot et al. 2003). K obdobným závěrům dospěli i Nakamura et al. (1995). U kyseliny γ -linolenové jsme pozorovali snížený obsah v CE u všech skupin, statistické významnosti dosáhl u DM a ChP. Další autoři významné změny neprokázali (Quilliot et al., 2003, Marosvolgyi et al., 2010). Zvýšený obsah kyseliny arachidonové jsme pozorovali u skupiny DM v PL a CE, u skupin s ChP nebyly pozorovány statisticky významné změny, i když hodnoty byly mírně snížené. Ke stejnému výsledku dospěli i Quilliot et al. (2003), kteří nezaznamenali ani změny u pacientů s DM 1. typu. U alkoholické ChP dosáhlo snížení obsahu kyseliny arachidonové statistické významnosti v PL i CE (Marosvolgyi et al., 2010). Snížení kyseliny arachidonové u ChP může souviset s její intenzivnější přeměnou na eikosanoidy prostaglandiny a tromboxany 2. série enzymem cyklooxygenázou-2 (COX-2), u kterého byla popsána zvýšená aktivita u ChP (Schlosser et al., 2002). Koliopanos et al. (2001) popisují vyšší expresi COX-2 v duktálních buňkách u ChP. Kyselina dokosapentaenová řady n-6 byla zvýšená v PL a CE u skupin s ChP, v PL bylo zvýšení

významné jen u skupiny ChP+DM. U alkoholické ChP změny pozorovány rovněž nebyly (Marosvolgyi et al., 2010), další autoři obsah této kyseliny nesledovali.

V celkovém obsahu PUFA n-3 jsme nezaznamenali žádné změny. U jednotlivých PUFA n-3 jsme zaznamenali změny. Pro kyselinu α -linolenovou jsme našli snížený obsah v PL u skupiny DM, další autoři změny nepozorovali. Obsah kyseliny dokosahexaenové byl snížený v PL u skupin s ChP, významnosti dosáhla jen skupina ChP bez DM. Obdobný nálezn byl zjištěn i v celkovém lipidu LDL u skupiny ChP s DM (Quilliot et al., 2003). U alkoholické ChP změny zjištěny nebyly (Marosvolgyi et al., 2010). V literatuře je diskutována otázka suplementace PUFA n-3 u pacientů s akutní pankreatitidou (Wang et al., 2008), kdy byla jedna skupina pacientů 5 dní suplementována sójovým olejem obsahujícím PUFA n-6 a druhá skupina rybím olejem obsahujícím PUFA n-3 0,15-0,2 g/kg/den. Na konci studie byla zjištěna signifikantně nižší hodnota CRP a vyšší oxygenační index u pacientů přijímajících PUFA n-3 (Wang et al., 2008). U pacientů s ChP studie o efektu suplementace PUFA n-3 chybějí.

Na poruše elongace a desaturace kyseliny linolové a α -linolenové se může podílet deficit selenu a zinku i přítomnost sekundárního DM. Deficit selenu a zinku byl prokázán u nemocných s etylickou ChP, u kterých jejich koncentrace negativně korelují s $\Delta 5$ -desaturázou a přítomností DM (Quilliot et al., 2003, Kodydková et al., 2013). Nižší podíl kyseliny linolové a kyseliny arachidonové, ale vyšší podíl kyseliny palmitolejové, eikosapentaenové a dokosahexaenové byl zjištěn v plasmě u japonských pacientů s ChP ve srovnání s kontrolami (Nakamura et al., 1995).

V naší studii jsme sledovali i rozdíly měřených parametrů mezi sledovanými skupinami nemocných – pacienti s ChP i s ChP+DM byli srovnáni se skupinou pacientů s DM 2. typu. U kyseliny palmitové jsme zaznamenali zvýšený obsah pouze ve třídě TAG, u kyseliny stearové jsme změny nenalezli. Quilliot et al. (2003) našli zvýšenou koncentraci kyseliny stearové v celkovém lipidu LDL, tato změna se neuplatnila v celkovém obsahu SFA. Ve shodě se zmíněnými autory jsme zaznamenali zvýšený obsah MUFA v PL a TAG, v naší studii jsme zjistili i zvýšení obsahu kyseliny palmitolejové v těchto lipidových třídách. Ve třídě TAG a PL byly zvýšené hodnoty poměru 16:1n-7/16:0, hodnoty poměru 18:1n-9/18:0 byly zvýšené pouze ve třídě PL. Tento poměr je ukazatelem příslušné $\Delta 9$ -desaturázy; k obdobným výsledkům dospěli i Quilliot et al. (2003) v celkovém lipidu LDL. V některých experimentálních studiích byl diskutován rozdíl mezi měřenou aktivitou desaturázy a výpočtem z obsahu příslušných FA (Brown et al., 2000). Koncentrace PUFA n-6 byly u obou skupin pacientů s ChP sniženy v PL a CE; toto snížení je dáno nižším obsahem především

kyseliny arachidonové; kyselina cis-11,14-eikosadienová byla významně vyšší ve třídě PL a TAG, ale vzhledem k malé koncentraci změnu celkových PUFA n-6 neovlivnila. Na rozdíl od naší studie nenašli autoři Quilliot et al. (2003) změny v koncentraci kyseliny arachidonové, ale linolové; srovnávali však skupinu ChP se skupinou DM 1. typu. Naše studie zjistila i snížené hodnoty poměru 20:4/20:3n-6, a to ve všech lipidových třídách. Tento poměr je ukazatelem aktivity Δ 5-desaturázy, která je ovlivněna mj. i koncentrací selenu v plasmě. V naší dřívější studii jsme nižší koncentraci selenu u pacientů s ChP rovněž prokázali (Kodydková et al., 2013). Dále jsme zjistili ve třídách PL a CE i snížený poměr 20:4/18:2n-6, který ukazuje výsledek elongace a desaturace kyseliny linolové, a zvýšený ukazatel elongace 20:2/18:2n-6 v PL a TAG. Celkový obsah PUFA n-3 se nelišil u pacientů s ChP ve srovnání s DM, zaznamenali jsme pouze nižší obsah kyseliny dokosahexaenové ve třídě PL.

Dále jsme srovnali vliv přítomnosti DM typu 3c u pacientů s ChP. Ve skupině pacientů s ChP bez DM jsme zjistili vyšší zastoupení kyseliny cis-7-hexadecenové a α -linolenové v PL a CE oproti pacientům s ChP+DM. U TAG nebyly zjištěny žádné rozdíly. Ve třídě PL byl ještě zvýšen obsah kyselin cis-11-eikosenové a cis-11,14-eikosadienové. Quilliot et al. (2003) našli oproti naší studii vyšší obsah kyseliny dokosahexaenové u pacientů s ChP bez DM ve srovnání s pacienty s ChP+DM, který vysvětlují vlivem DM a deficitu selenu. V naší studii jsme nezaznamenali statisticky významné snížení obsahu kyseliny dokosahexaenové, ale nižší hodnotu poměru 22:6/22:5n-3, který je ukazatelem jejich vzájemné přeměny, zkráceně označované jako Δ 4-desaturáza. Ve skutečnosti se jedná o sled elongace, Δ 6-desaturace a β -oxidace. I tato změna může být projevem snížené hladiny selenu.

Zvláštní část studie sestávala z pacientů s KP s vlastní kontrolní skupinou. Zde jsme prokázali signifikantně vyšší koncentrace celkových MUFA v PL, CE i TAG. Z jednotlivých FA to byly vyšší hodnoty kyseliny palmitolejové v PL a CE, kyseliny olejové v PL, CE a TAG a kyseliny vakcenové v PL a CE. Byla nalezena zvýšená hodnota Δ 9-desaturázy, signifikantní zvýšení dosahovala ve třídách PL a TAG. Naše pozorování je v souladu s nálezy dalších autorů. Zvýšené koncentrace kyseliny palmitolejové a olejové jsou důsledkem vyšší aktivity enzymu stearoyl-CoA-desaturázy (SCD1) v kombinaci se zvýšením syntézy *de novo* katalyzované FA syntázou (Ntambi, 1999, Igal, 2010). U rychle rostoucích nádorů byl tento jev popsán u karcinomu prsu (Byberg et al., 2014, Chajès, 2011) a žaludku (Chajès, 2011).

Nižší koncentrace celkových PUFA n-6 v PL a CE byly důsledkem sníženého obsahu kyseliny linolové; signifikanci této změny neovlivnilo zvýšení obsahu kyseliny arachidonové v CE. Toto snížení je pravděpodobně zapříčiněno nedostatečným příjmem, vzhledem k nezměněným oxidačním parametrům není důvodem zvýšená lipoperoxidace. V literatuře

bylo popsáno snížení koncentrací EFA v důsledku malabsorpce (Jeppesen et al., 1997), konzumace alkoholu a cigaret (Simon et al., 1996). Rovněž nižší koncentrace celkových PUFA n-3 byly zjištěny v PL a TAG, a to na úkor kyseliny α -linolenové eikosapentaenové, zřejmě ze stejného důvodu jako u PUFA n-6.

Podrobné výsledky jsou uvedeny v publikaci J. Macášek et al. (2012) – viz příloha 1.

6 ZÁVĚR

U nemocných s ChP, KP i DM 2. typu byly prokázány specifické změny ve složení FA. Nejvýraznějšími změnami u pacientů s ChP a KP ve všech lipidových třídách byly statisticky signifikantně zvýšené koncentrace celkových MUFA, na kterých se podílely především kyseliny palmitolejová, olejová a vakcenová. Zvýšení koncentrací je pravděpodobně způsobeno zvýšením syntézy FA *de novo* a vyšší aktivitou $\Delta 9$ -desaturázy kyseliny palmitové a olejové. Podobné změny profilu FA jsou zjišťovány i u mnoha jiných patologických stavů a svědčí o aktivaci uniformních patofyziologických mechanismů.

Současně mají nemocní s KP a ChP snížené koncentrace celkových PUFA n-6, na čemž se podílí především nižší koncentrace kyseliny linolové. Všechny tyto změny jsou pravděpodobně způsobeny poruchou vstřebávání tuků a následně sníženým příjmem EFA, vlivem kouření a zvýšené konzumace alkoholu. Chronická pankreatitida i KP jsou charakterizovány oxidačním stresem, který rovněž přispívá ke snížení hladin PUFA cestou zvýšené peroxidace lipidů.

Změny koncentrací celkových PUFA n-6 i kyseliny linolové u pacientů s DM 2. typu byly stejného charakteru jako u pacientů s ChP a KP. Odlišné změny byly zaznamenány u pacientů s DM 2. typu, kteří měli v CE a PL zvýšený obsah kyseliny arachidonové. Příčinou je pravděpodobně zvýšená konverze kyseliny linolové cestou metabolické dráhy zahrnující proces desaturace a elongace (zvýšení aktivity $\Delta 5$ -, $\Delta 6$ -desaturázy a elongázy).

V našich studiích byly prokázány významné změny v profilu mastných kyselin u chronických pankreatopatií. Tyto výsledky ukazují vhodnost adekvátní suplementace těchto nemocných EFA a selénem.

7 POUŽITÁ LITERATURA

- Ahotupa M, Ruutu M, Mäntylä E: Simple methods of quantifying oxidation products and antioxidant potential of low density lipoproteins. *Clin Biochem* 1996;29:139-44.
- American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2011; 34: 62–9.
- Apte MV, Pirola RC, Wilson JS: Molecular mechanism of alcoholic pancreatitis, *Dig Dis* 2005; 23: 232-240.
- Apte MV, Pirola RC, Wilson JS. Fatty acid ethyl esters - alcohol's henchmen in the pancreas? *Gastroenterology* 2006; 130: 992-5.
- Araki A, Sako Y: Determination of free and total homocysteine in human plasma by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J Chromatogr* 1987; 422: 43-52
- Arbo I, Halle C, Malik D, Brattbakk H-R, Johansen B: Insulin induces fatty acid desaturase expression in human monocytes. 2011; 71: 330-339 .
- Azain MJ, Hausman DB, Sisk MB, Flatt WP, Jewell DE: Dietary conjugated linoleic acid reduces rat adipose tissue cell size rather than cell number. *J Nutr* 2000; 130: 1548–54.
- Bauera J, Caprac S, Battistutta D, Davidson W, Ash S: Compliance with nutrition prescription improves outcomes in patients with unresectable pancreatic cancer. *Clin Nutr* 2005; 24: 998–1004.
- Behrman SW, Fowler ES: Pathophysiology of chronic pancreatitis. *Surg Clin N Am* 2007; 87: 309-1324.
- Berquin IM, Edwards IJ, Chen YQ: Multi-targeted therapy of cancer by omega-3 fatty acids. *Cancer Lett* 2008; 269: 363-77.
- Bowser PA, Nugteren DH, White RJ, Houtsmuller UMT, Prottey C: Identification, isolation and characterization of epidermal lipids containing linoleic acid. *Biochim. Biophys. Acta* 1985; 834: 419–428.
- Bradley RL, Fisher FM, Maratos-Flier E: Dietary fatty acids differentially regulate production of TNF-alpha and IL-10 by murine 3T3-L1 adipocytes. *Obesity (Silver Spring)* 2008; 16: 938–944.
- Braganza JM, Lee SH, McCloy RF, McMahonMJ: Chronic pancreatitis. *Lancet* 2011; 377: 1184-97

- Brenna JT: Efficiency of conversion of alpha-linolenic acid to long chain n-3 fatty acids in man. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2002; 5:127-132.
- Brouwer IA, Wanders AJ, Katan MB: Effect of Animal and Industrial Trans Fatty Acids on HDL and LDL Cholesterol Levels in Humans – A Quantitative Review. *PLoS ONE* 2010;5:e9434. doi:10.1371/journal.pone.0009434
- Brown JE, Lindsay RM, Riemersma RA: Linoleic acid metabolism in the spontaneously diabetic rat: delta6-desaturase activity vs. product/precursor ratios. *Lipids* 2000;35:1319-23.
- Byberg L, Kilander L, Warensjö Lemming E, Michaëlsson K, Vessby B: Cancer death is related to high palmitoleic acid in serum and to polymorphisms in the SCD-1 gene in healthy Swedish men. *Am J Clin Nutr* 2014; 99: 551–558.
- Calder PC: Do omega-3 fatty acids ease the way to silent cell death? *Nutrition* 2003; 19: 472-473.
- Chajès V, Jenab M, Romieu I, Ferrari P, Dahm CC, Overvad K, Egeberg R, Tjønneland A, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC et al.: Plasma phospholipid fatty acid concentrations and risk of gastric adenocarcinomas in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-EURGAST). *Am J Clin Nutr* 2011; 94: 1304–13.
- Chajès V, Joulin V, Clavel-Chapelon F. The fatty acid desaturation index of blood lipids, as a biomarker of hepatic stearyl-CoA desaturase expression, is a predictive factor of breast cancer risk. *Curr Opin Lipidol* 2011; 22: 6–10.
- Chajès V, Thiébaud ACM, Rotival M, Gauthier E, Maillard V, Boutron-Ruault M-C, Joulin V, Lenoir GM, Clavel-Chapelon F: Association between serum trans-monounsaturated fatty acids and breast cancer risk in the E3N-EPIC Study. *Am J Epidemiol* 2008; 167: 1312-1320.
- Clandinin MT, Zuberbuhler P, Brown NE, Kielo ES Goh YK: Fatty acid pool size in plasma lipoprotein fractions of cystic fibrosis patients. *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 1268-1275.
- Crane DI: Revisiting the neuropathogenesis of Zellweger syndrome. *Neurochem Int* 2014;69:1–8.
- Criddle DN, Murphy J, Fistetto G, Barrow S, Tepikin AV, Neoptolemos JP, Sutton R, Petersen OH: Fatty acid ethyl esters cause pancreatic calcium toxicity via inositol

trisphosphate receptors and loss of ATP synthesis. *Gastroenterology* 2006; 130: 781-793.

- Djoussé L, Biggs ML, Lemaitre RN, King IB, Song X, Ix JH, Mukamal KJ, Siscovick DS, Mozaffarian D: Plasma omega-3 fatty acids and incident diabetes in older adults. *Am J Clin Nutr* 2011; 94: 527-533.
- Dunstan JA, Mori TA, Barden A, Beilin LJ, Taylor AL, Holt PG, Prescott SL: Fish oil supplementation in pregnancy modifies neonatal allergen-specific immune responses and clinical outcomes in infants at high risk of atopy: a randomized, controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112: 1178-1184.
- Eser PO, vanden Heuvel JP, Araujo J, Thompson JT: Marine- and plant-derived ω -3 fatty acids differentially regulate prostate cancer cell proliferation *MOL CLIN ONCOLOGY* 2013; 1: 444-452.
- Etemad B, Whitcomb DC: Chronic pancreatitis, diagnosis, classification, and new genetic development. *Gastroenterology* 2001;120:682-702.
- Ewald N, Bretzel RG: Diabetes mellitus secondary to pancreatic diseases (Type 3c) — Are we neglecting an important disease? *Eur J Int Med* 2013; 24: 203–206.
- Ewald N, Raspe A, Kaufmann C, Bretzel RG, Kloer HU, Hardt PD: Determinants of exocrine pancreatic function as measured by fecal elastase-1 concentrations (FEC) in patients with diabetes mellitus. *Eur J Med Res* 2009; 14: 118-122.
- Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes mellitus. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2003; 26: 5–20.
- Flowers MT, Ntambi JM: Role of stearoyl-coenzyme A desaturase in regulating lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol* 2008; 19: 248-256.
- French JJ., Charnley RM: Chronic pancreatitis. *Surgery* 2010;28:212-217.
- Gavino VC, Gavino G, Leblanc MJ, Tuchweber B: An isomeric mixture of conjugated linoleic acids but not pure cis-9,trans-11-octadecadienoic acid affects body weight gain and plasma lipids in hamster. *J Nutr* 2000;130:27–9.
- Funahashi H, Satake M, Hasan S, Sawai H, Newman RA, Reber HA, Hines OJ, Eibl G: Opposing effects of n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids on pancreatic cancer growth. *Pancreas* 2008; 36: 353-362.

- Gray GM, White RJ, Majer JR: 1-(3'-*O*-acyl)- β -glucosyl-*N*-dihydroxy-pentatriacontadienoylsphingosine, a major component of the glucosylceramides of pig and human epidermis. *Biochim. Biophys. Acta* 1978; 528: 127–137.
- Grossfield A, Feller SE, Pitman MC: A role for direct interactions in the modulation of rhodopsin by omega-3 polyunsaturated lipids. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 4888-4893.
- Gupta V., Toskes PP: Diagnosis and management of chronic pancreatitis. *Postgrad Med J* 2005; 81: 491-497.
- Gutnikov G: Fatty acid profiles of lipid samples. *J Chromatogr B* 1995; 671: 71-89.
- Haeggström JZ, Wetterholm A: Enzymes and receptors in the leukotriene cascade. *Cell Mol Life Sci* 2002; 59: 742-753.
- Hainer V, Kunešová M, Štich V, Žák A, Pařízková J: Úloha olejů s obsahem triglyceridů s mastnými kyselinami o středním řetězci v dietní léčbě otylosti. Vliv na klidový energetický výdej a sérové lipidy. *Čas Lék Čes* 1994; 133: 373-375.
- Hannuksela ML, Liisanantti MK, Nissinen AE, Savolainen MJ: Biochemical markers of alcoholism. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45: 953-961.
- Hamanaka S, Asagami C, Suzuki N, Inagaki F, Suzuki A: Structure determination of glucosyl β 1-*N*-(ω -*O*-linoleoyl)-acylsphingosines of human epidermis. *J. Biochem* 1989; 105: 684–690.
- Hardy S, Langelier Y, Prentki M: Oleate activates phosphatidylinositol 3-kinase and promotes proliferation and reduces apoptosis of MDA-MB-231 breast cancer cells, whereas palmitate has opposite effects. *Cancer Res* 2000; 60: 6353–6358.
- Hawkins RA, Sangster K, Arends M J: Apoptotic death of pancreatic cancer cells induced by polyunsaturated fatty acids varies with double bond number and involves an oxidative mechanism *J PATHOL* 1998; 185: 61–70.
- Heukamp I, Kilian M, Gregor JJ, Kiewert C, Schimke I, Kristiansen G, Walze MK, Jacobi CA, Wenger FA: Impact of polyunsaturated fatty acids on hepato-pancreatic prostaglandin and leukotriene concentration in ductal pancreatic cancer—Is there a correlation to tumour growth and liver metastasis? *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2006; 74: 223–233.
- Hodge AM, English DR, O'Dea K, Sinclair AJ, Makrides M, Gibson RA, Giles GG: Plasma phospholipid and dietary fatty acids as predictors of type 2 diabetes: interpreting the role of linoleic acid. *Am J Clin Nutr* 2007; 86: 189-197.

- Howe GR, Burch JD: Nutrition and pancreatic cancer. *Cancer Causes Control*. 1996; 7: 69-82.
- Hyltander A, Drott C, Körner U, Sandström R, Lundholm K: Elevated energy expenditure in cancer patients with solid tumours. *Eur J Cancer* 1991; 27: 9-15.
- Igal RA: Stearoyl-CoA desaturase-1: a novel key player in the mechanisms of cell proliferation, programmed cell death and transformation to cancer. *Carcinogenesis* 2010; 31: 1509–1515.
- Im DS: Discovery of new G protein-coupled receptors for lipid mediators. *J Lipid Res* 2004; 45: 410-418.
- Ip MM, Masso-Welch PA, Shoemaker SF, Shea-Eaton WK, Ip C. Conjugated linoleic acid inhibits proliferation and induces apoptosis of normal rat mammary epithelial cells in primary culture. *Exp Cell Res* 1999; 250: 22–34.
- Jeppesen PB, Christensen MS, Høy CE, Mortensen PB: Essential fatty acid deficiency in patients with severe fat malabsorption. *Am J Clin Nutr* 1997; 65: 837-843.
- Jess L. Miner, Chris A. Cederberg, Merlyn K. Nielsen, Xiaoli Chen, and Clifton A. Baile. Conjugated Linoleic Acid (CLA), Body Fat, and Apoptosis. *OBESITY RESEARCH* 2001; 9: 129-134.
- Jung CH, Lee WJ, Hwang JY, Seol SM, Kim YM, Lee YL, et al. The role of Rho/Rho-kinase pathway in the expression of icam-1 by linoleic acid in human aortic endothelial cells. *Inflammation* 2012; 35:1041-1048.
- Kaushik M, Mozaffarian D, Spiegelman D, Manson JE, Willett WC, Hu FB: Long-chain omega-3 fatty acids, fish intake, and the risk of type 2 diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr* 2009; 90: 613-620.
- Kodydková J, Vávrová L, Staňková B, Macášek J, Krechler T, Žák A: Antioxidant status and oxidative stress markers in pancreatic cancer and chronic pancreatitis. *Pancreas* 2013; 42: 614-621.
- Koliopanos A, Friess H, Kleeff J, Roggo A, Zimmermann A, Büchler MW: Cyclooxygenase 2 expression in chronic pancreatitis: correlation with stage of the disease and diabetes mellitus. *Digestion*. 2001; 64: 240-247.
- Kremmyda L-S, Tvrzická E, Staňková B, Žák A: Fatty acids as biocompounds: Their role in human metabolism, health and disease – e review. Part 2: Fatty acid physiological roles and applications in human health and disease. *Biomed Papers* 2011; 155: 195-218.

- Kuriki K, Wakai K, Matsuo K, Hiraki A, Suzuki T, Yamamura Y, Yamao K, Nakamura T, Tatematsu M, Tajima K. Gastric cancer risk and erythrocyte composition of docosahexaenoic acid with antiinflammatory effects. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; 16: 2406–15.
- Kurotani K, Sato M, Ejima Y, Nanri A, Yi S, Pham NM, Akter S, Poudel-Tandukar K, Kimura Y, Imaizumi K, Mizoue T: High levels of stearic acid, palmitoleic acid, and dihomo- γ -linolenic acid and low levels of linoleic acid in serum cholesterol ester are associated with high insulin resistance. *Nutr Res* 2012; 32: 669-675.
- Kyung Suk Park, Joo Weon Lim, Hyeyoung Kim: Inhibitory mechanism of omega-3 fatty acids in pancreatic inflammation and apoptosis. *Ann NY Acad Sci* 2009;1171:421-427.
- Laake I, Carlsen MH, Pedersen JI, Weiderpass E, Selmer R, Kirkhus B, Thune I, Veierød MB: Intake of trans fatty acids from partially hydrogenated vegetable and fish oils and ruminant fat in relation to cancer risk. *Int J Cancer* 2013; 132: 1389–1403.
- Laaksonen DE, Lakka TA, Lakka HM, Nyysönen K, Rissanen T, Niskanen LK, Salonen JT: Serum fatty acid composition predicts development of impaired fasting glycaemia and diabetes in middle-aged men. *Diabet Med* 2002; 19: 456-464.
- Lapillonne A, Clarke SD, Heird WC: Polyunsaturated fatty acids and gene expression. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2004; 7: 151-156.
- Laposata EA, Lange LG: Presence of nonoxidative ethanol-metabolism in human organs commonly damaged by ethanol abuse. *Science* 1986;231:497-499.
- Lawson RE, Moss AR, Givens DI: The role of dairy products in supplying conjugated linoleic acid to man's diet: a review. *Nutr Res Rev* 2001; 14:153-172.
- Layden BT, Angueira AR, Brodsky M, Durai V, Lowe WL jr: Short chain fatty acids and their receptors: new metabolic targets. *Transl Res* 2013; 161: 131-140. Erratum in: *Transl Res* 2013;162: 269.
- Lichtenstein AH: Dietary Trans Fatty Acids and Cardiovascular Disease Risk: Past and Present. *Curr Atheroscler Rep* 2014; 16: 433-439.
- Liu Y: Fatty acid oxidation is a dominant bioenergetic pathway in prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2006; 9: 230–234.
- Lombardi F, Terranova P: Anti-arrhythmic properties of N-3 poly-unsaturated fatty acids (n-3 PUFA). *Curr Med Chem* 2007; 14: 2070-2080.

- Lupu R, Menendez JA: Pharmacological inhibitors of Fatty Acid Synthase (FASN)--catalyzed endogenous fatty acid biogenesis: a new family of anti-cancer agents? *Curr Pharm Biotechnol* 2006; 7: 483-93.
- Macášek J, Vecka M, Žák A, Urbánek M, Krechler T, Petruželka L, Staňková B, Zeman M: Plasma fatty acid composition in patients with pancreatic cancer: correlations to clinical parameters. *Nutr Cancer* 2012; 64: 946-955.
- Malpuech-Brugère C, Verboeket-van de Venne WPHG, Mensink RP, Arnal MA, Morio, Marion Brandolini, Asgeir Saebo, Taous S. Lassel, Jean Michel Chardigny, Jean Louis Sébédio B, Beaufre`re B: Effects of Two Conjugated Linoleic Acid Isomers on Body Fat Mass in Overweight Humans. *Obes Res* 2004; 12: 591-598.
- Marble A, Ramos E: Cancer and diabetes. In: Marble A, White P, Bradley RF, Krall LP: *Joslin's diabetes mellitus*. 11th ed. Philadelphia, Lea and Febiger, 1977, 695-700.
- Marosvolgyi T, Horvath G, Dittrich A, Cseh J, Lelovics Z, Szabo E, Decsi T, Figler M: Fatty acid composition of plasma lipid classes in chronic alcoholic pancreatitis. *Pancreatology* 2010; 10: 580-585.
- Martinez M: The fundamentals and practice of docosahexaenoic acid therapy in peroxisomal disorders. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2000; 3: 101-108.
- Mead JF: The metabolism of the essential fatty acids. *Am J Clin Nutr* 1958; 6: 656-61.
- Merritt MA, Cramer DW, Missmer SA, Vitonis AF, Titus LJ, Terry KL: Dietary fat intake and risk of epithelial ovarian cancer by tumour histology. *Brit J Cancer* 2014; 110: 1392-1401.
- Milligan G, Stoddart LA., Brown AJ: G protein-coupled receptors for free fatty acids. *Cellular Signalling* 2006; 18: 1360-1365.
- Miura Y: The biological significance of ω -oxidation of fatty acids. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 2013; 89: 370–382.
- Mozaffarian D, Wu JH: Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: effects on risk factors, molecular pathways, and clinical events. *J Am Coll Cardiol*. 2011; 58: 2047-2067.
- Nakamura T, Takebe K, Imamura K, Arai Y, Kudoh K, Terada A, Ishii M, Yamada N, Tandoh Y, Machida K: Changes in plasma fatty acid profile in Japanese patients with chronic pancreatitis. *J Int Med Res* 1995; 23: 27-36

- Nkondjock A, Krewski D, Johnson KC, Ghadirian P; Canadian Cancer Registries Epidemiology Research Group: Specific fatty acid intake and the risk of pancreatic cancer in Canada. *Br J Cancer*. 2005; 92: 971-977.
- Ntambi JM: Regulation of stearoyl-CoA desaturase by polyunsaturated fatty acids and cholesterol. *J Lipid Res* 1999; 40: 1549–1558.
- Obici S, Feng Z, Morgan K, Stein D, Karkanias G, Rossetti L: Central administration of oleic acid inhibits glucose production and food intake. *Diabetes* 2002; 51: 271–275.
- Ostrowska E, Muralitharan M, Cross RF, Bauman DE, Dunshea FR. Dietary conjugated linoleic acids increase lean tissue and decrease fat deposition in growing pigs. *J Nutr* 1999; 129: 2037–42.
- Paniagua J.A., Pérez-Martínez P., Gjelstad IMF, Tierney AC, Delgado-Lista J., Defoort C, Blaak EE, Risérusi U, Drevonc CA, Kiec-Wilkh B, Lovegrove JA, Roched HM, López-Miranda J: A low-fat high-carbohydrate diet supplemented with long-chain n-3 PUFA reduces the risk of the metabolic syndrome. *Atherosclerosis* 2011; 218: 443–450.
- Park Y, Storkson JM, Albright KJ, Liu W, Pariza MW: Evidence that the trans-10,cis-12 isomer of conjugated linoleic acid induces body composition changes in mice. *Lipids*. 1999; 34: 235–41.
- Paton CM, Ntambi JN: Biochemical and physiological function of stearoyl-CoA desaturase. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 297: E28-E37.
- Praticò D, Lawson JA, Rokach J, Fitzgerald GA. The isoprostanes in biology and medicine. *Trends Endocrinol Metab* 2001; 12: 243-247.
- Pratt VC, Watanabe S, Bruera E, Mackey J, Clandinin MT, Baracos VE, Field CJ: Plasma and neutrophil fatty acid composition in advanced cancer patients and response to fish oil supplementation. *Brit J Cancer* 2002; 87: 1370 – 1378.
- Quilliot D, Walters E, Böhme P, Lacroix B, Bonte JP, Fruchart JC, Drouin P, Duriez P, Ziegler O: Fatty acid abnormalities in chronic pancreatitis: effect of concomitant diabetes mellitus. *Eur J Clin Nutr* 2003; 57: 496-503.
- Resh MD: Fatty acylation of proteins: new insights into membrane targeting of myristoylated and palmitoylated proteins. *Biochim Biophys Acta*. 1999; 1451: 1-16.
- Riccardi G, Giacco R, Rivellese AA: Dietary fat, insulin sensitivity and the metabolic syndrome. *Clin Nutr*. 2004; 23: 447-456.

- Russell ST, Tisdale MJ: Effect of a tumour-derived lipid-mobilising factor on glucose and lipid metabolism in vivo. *Brit J Cancer* 2002; 87: 580-584.
- Salehi A, Flodgren E, Nilsson NE, Jimenez-Feltstrom J, Miyazaki J, Owman C, Olde B: Free fatty acid receptor 1 (FFA(1) R/GPR40) and its involvement in fatty-acid-stimulated insulin secretion. *Cell Tissue Res* 2005; 322: 207-15.
- Semenkovich CF, Coleman T, Fiedorek FT Jr: Human fatty acid synthase mRNA: tissue distribution, genetic mapping, and kinetics of decay after glucose deprivation. *J Lipid Res* 1995; 36: 1507-21.
- Shirota T, Haji S, Yamasaki Mitsuo, Iwasaki T, Hidaka T, Takeyama Y, Shiozaki H, Harumasa O: Apoptosis in human pancreatic cancer cells induced by eicosapentaenoic acid. *Nutrition* 2005; 21: 1010–1017.
- Scheefers-Borchel U, Scheefers H, Arnold R, Fischer P, Sziegoleit A: Pankreatische Elastase 1: Parameter für die chronische und akute Pankreatitis. *Lab Med* 1992; 16: 427-432.
- Schlosser W, Schlosser S, Ramadani M, Gansauge F, Gansauge S, Beger HG: Cyclooxygenase-2 is overexpressed in chronic pancreatitis. *Pancreas* 2002; 25: 26-30.
- Schneider A, Löhr MJ, Singer MV: The M-ANNHEIM classification of chronic pancreatitis: introduction of a unifying classification system based on a review of previous classifications of the disease. *J Gastroenterol* 2007; 42: 101-119
- Shen W, Chuang CC, Martinez K, Reid T, Brown JM, Lin Xi, Hixson L, Hopkins R, Starnes J, McIntosh M: Conjugated Linoleic Acid Reduces Adiposity and Increases Markers of Browning and Inflammation in White Adipose Tissue of Mice. *J Lipid Res* 2013; 54: 909-922.
- Siguel EN, Lerman RH: Altered fatty acid metabolism in patients with angiographically documented coronary artery disease. *Metabolism* 1994; 43: 982-993
- Siguel EN, Lerman RH: Prevalence of essential fatty acid deficiency in patients with chronic gastrointestinal disorders. *Metabolism* 1996; 45: 12-23.
- Simon JA, Fong J, Bernert JT Jr: Serum fatty acids and blood pressure. *Hypertension*. 1996; 27: 303-307.
- Simopoulos AP: The omega-6/omega-3 fatty acid ratio, genetic variation, and cardiovascular disease. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2008; Suppl 1: 131-134.

- Smith HJ, Greenberg NA, Tisdale MJ: Effect of eicosapentaenoic acid, protein and amino acids on protein synthesis and degradation in skeletal muscle of cachectic mice. *Br J Cancer* 2004; 91: 408-412.
- Smith WL: Nutritionally essential fatty acids and biologically indispensable cyclooxygenases. *Trends Biochem Sci* 2008; 33: 27-37.
- Stöckler S, Opper C, Greinacher A, Hunneman DH, Korenke GC, Unkrig CJ, Hanefeld F: Decreased platelet membrane anisotropy in patients with adrenoleukodystrophy treated with erucic acid (22:1)-rich triglycerides. *J Inherit Metab Dis* 1997; 20: 54-58.
- Stolzenberg-Solomon RZ, Pietinen P, Taylor PR, Virtamo J, Albanes D. A prospective study of medical conditions, anthropometry, physical activity, and pancreatic cancer in male smokers (Finland). *Cancer Causes Control*. 2002; 13: 417-426.
- Thiébaud AC, Jiao L, Silverman DT, Cross AJ, Thompson FE, Subar AF, Hollenbeck AR, Schatzkin A, Stolzenberg-Solomon RZ: Dietary fatty acids and pancreatic cancer in the NIH-AARP diet and health study. *J Natl Cancer Inst*. 2009; 101: 1001-11.
- Tvrzická E, Vecka M, Staňková B, Žák A: Analysis of fatty acids in plasma lipoproteins by gas chromatography-flame ionization detection Quantitative aspects. *Anal Chim Acta* 2002; 465: 337-350.
- Tvrzická E, Kremmyda L-S, Staňková B, Žák A: Fatty acids as biocompounds: Their role in human metabolism, health and disease – a review. Part 1: Classification, dietary sources and biological functions. *Biomed Papers* 2011; 155: 117-130.
- Vigneri P, Frasca F, Sciacca L, Pandini G, Vigneri R: Diabetes and cancer. *Endocr Relat Cancer* 2009; 16: 1103-1123.
- Wakui M, Osipchuk YV, Petersen OH: Receptor-activated cytoplasmic Ca²⁺ spiking mediated by inositol trisphosphate is due to Ca²⁺-induced Ca²⁺ release. *Cell* 1990; 63: 1025-1032.
- Walter K, Hong SM, Nyhan S, Canto M, Fedarko N, Klein A, Griffith M, Omura N, Medghalchi S, Kuhajda F, Goggins M: Serum fatty acid synthase as a marker of pancreatic neoplasia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 2380-2385.
- Wanders RJA, Komen J, Stephan Kemp S: Fatty acid omega-oxidation as a rescue pathway for fatty acid oxidation disorders in humans. *FEBS J* 2011; 278: 182-94.
- Wang X, Li W, Li N, Li J: Omega-3 fatty acids-supplemented parenteral nutrition decreases hyperinflammatory response and attenuates systemic disease sequelae in

severe acute pancreatitis: a randomised and controlled study. *J Parenteral Enteral Nutr* 2008; 32: 236-241.

- Wendel M, Heller AR: Anticancer actions of omega-3 fatty acids - current state and future perspectives. *Anticancer Agents Med Chem*. 2009; 9: 457-470.
- Weylandt KH, Nadolny A, Kahlke L, Köhnke T, Schmöcker C, Wang J, Lauwers GY, Glickman JN, Kang JX: Reduction of inflammation and chronic tissue damage by omega-3 fatty acids in fat-1 transgenic mice with pancreatitis. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1782: 634-641.
- Witt H, Apte MV, Keim V, Wilson JS: Chronic pancreatitis: Challenges and advances in pathogenesis, genetics, diagnosis, and therapy. *Gastroenterology* 2007; 132: 1557-1573.
- Yang B, Ren XL, Fu YQ, Gao JL, Li D: Ratio of n-3/n-6 PUFAs and risk of breast cancer: a meta-analysis of 274135 adult females from 11 independent prospective studies. *BMC Cancer* 2014; 14: 105-118
- Yonezawa T, Haga S, Kobayashi Y, Katoh K, Obara Y: Unsaturated fatty acids promote proliferation via ERK1/2 and Akt pathway in bovine mammary epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 367: 729-735.
- Zhang X, Cui Y, Fang L, Li F: Chronic high-fat diets induce oxidative injuries and fibrogenesis of pancreatic cells in rats. *Pancreas*. 2008; 37: 31-38.
- Zhang Y-F, Lu J, Yu F-F, Gao H-F, Zhou Y-H (2014) Polyunsaturated Fatty Acid Intake and Risk of Lung Cancer: A Meta-Analysis of Prospective Studies. *PLoS ONE* 2014; 9: e99637. doi:10.1371/journal.pone.0099637
- Zhou Yi-jun, Song Yu-ling, Zhou Hui, Li Yan. Linoleic Acid Activates GPR40/FFA1 and Phospholipase C to Increase $[Ca^{2+}]_i$ Release and Insulin Secretion in Islet Beta-Cells. *Chin Med Sci J* 2012; 27:18-23.
- Žák A, Tvrzická E, Zeman M, Vecka M: Patofyziologie a klinický význam polyenových mastných kyselin řady n-3. *Čas Lék čes* 2005; 144(Suppl.1): 6-18.
- Žák A, Tvrzická E, Vecka M, Jáchymová M, Duffková L, Stanková B, Vávrová L, Kodydková J, Zeman M: Severity of metabolic syndrome unfavorably influences oxidative stress and fatty acid metabolism in men. *Tohoku J Exp Med* 2007; 212: 359-371.
- Žák A, Jáchymová M, Tvrzická E, Vecka M, Duffková L, Zeman M, Slabý A, Staňková B: The influence of polymorphisms of -493G/T MTP promoter and

metabolic syndrome on lipids, fatty acids and oxidative stress. J Nutr Biochem 2008;
19: 634-641.

SEZNAM PUBLIKACÍ

1. Publikace in extenso, které jsou podkladem dizertace

a) s IF

1. **Macášek J.**, Vecka M., Žák A., Urbánek M., Krechler T., Petruželka L., Staňková B., Zeman M.: Plasma fatty acid composition in patients with pancreatic cancer: correlations to clinical parameters. *Nutrition and Cancer - An International Journal* 64(7), 2012, 946-955. **IF=2.695**
2. Krechler T., Zeman M., Vecka M., **Macášek J.**, Jáchymová M., Zima T., Žák A.: Leptin and adiponectin in pancreatic cancer: connection with diabetes mellitus. *Neoplasma* 58(1), 2011, 58-64. **IF=1.440**
3. Vařeka T., Vecka M., Jiráček R., Tvrzická E., **Macášek J.**, Žák A., Zeman M.: Plasma fatty acid profile in depressive disorder resembles insulin resistance state. *Neuroendocrinology Letters* 33(Suppl.2), 2012, 83-86. **IF=1.296**
4. Vecka M., Jáchymová M., Vávrová L., Kodydková J., Macášek J., Urbánek M., Krechler T., Slabý A., Dušková J., Muravská A., Žák A.: Paraoxonase-1 (pon1) status in pancreatic cancer: relation to clinical parameters. *Folia Biologica*. 2012 **IF = 1.151**
5. Kodydková J., Vávrová L., Staňková B., **Macášek J.**, Krechler T., Žák A.: Antioxidant Status and Oxidative Stress Markers in Pancreatic Cancer and Chronic Pancreatitis. *Pancreas* 42(4), 2013, 614-621. **IF = 2.386**
6. Vávrová L., Kodydková J., Zeman M., Dušejovská M., **Macášek J.**, Staňková B., Tvrzická E., Žák A.: Altered activities of antioxidant enzymes in patients with metabolic syndrome. *Obesity Facts* 6(1), 2013, 39-47. **IF = 1.856**

b) bez IF

1. **Macášek J.**, Krechler T., Vecka M., Žák A.: Nutriční parametry u karcinomu pankreatu. *Sborník Atherosklerosa, diagnostika, léčba, prevence v dětském i dospělém věku*, 2009, 60-63.
2. Krechler T., Jáchymová M., Pavlíková M., **Macášek J.**, Vecka M., Žák A., Zeman M.: Leptin a adiponektin u nemocí pankreatu (karcinom pankreatu a chronické pankreatitidy) ve vztahu k diabetu mellitu. *Sborník Atherosklerosa, diagnostika, léčba, prevence v dětském i dospělém věku*, 2009, 38-43.

3. Vecka M., **Macášek J.**, Krechler T., Urbánek M., Zeman M., Žák A.: Složení mastných kyselin u karcinomu pankreatu. Sborník Atherosklerosa, diagnostika, léčba, prevence v dětském i dospělém věku, 2009, 89-93.
4. **Macášek J.**, Zeman M., Krechler T., Vecka M., Jáchymová M., Žák A.: Insulinová rezistence u karcinomu pankreatu. Sborník Atherosklerosa, diagnostika, léčba, prevence v dětském i dospělém věku, 2010, 50-52.
5. **Macášek J.**, Zeman M.: Adipocytokiny u nádorových onemocnění. Sborník Atherosklerosa, diagnostika, léčba, prevence v dětském i dospělém věku, 2011, S9-S12.
6. Kodydková J., Vávrová L., **Macášek J.**, Krechler T., Žák A.: Antioxidační enzymy a karcinom pankreatu. Sborník Atherosklerosa 2011 diagnostika, léčba, prevence v dětském i dospělém věku, 2011, 58-61.
7. **Macášek J.**, Staňková B., Zeman M., Tvrzická E., Vecka M., Žák A.: Mastné kyseliny u karcinomu pankreatu a jiných onkologických onemocnění. Atherosklerosa, diagnostika, léčba, prevence v dětském i dospělém věku 2012, 42-46.
8. Vávrová L., Kodydková J., **Macášek J.**, Ulrych J., Žák A.: Oxidační stres v průběhu akutní pankreatitidy. Klinická biochemie a metabolismus 20(41),(3), 2012, 189-193.
9. Krechler T., Ulrych J., Dvořák M., Hoskovec D., **Macášek J.**, Švestka T., Hořejš J.: Cystické nádory pankreatu – naše zkušenosti. Vnitřní lékařství 59(7), 2013, 572-577.
10. **Macášek J.**, Staňková B., Kodydková J., Vávrová L., Zeman M., Tvrzická E., Krechler T., Žák A.: Složení mastných kyselin u chronické pankreatitidy. Atherosklerosa 2013, sjezdový sborník prací, 27-33.
11. Zeman M., Žák A., Vecka M., Vařeka T., **Macášek J.**: Diabetes mellitus 2. typu a jaterní onemocnění - klinické vztahy. Atherosklerosa, diagnostika, léčba, prevence v dětském i dospělém věku 2013, S23-S31.

c) abstrakta v kongresových sbornících

1. Vecka M., **Macášek J.**, Krechler T., Urbánek M., Zeman M., Žák A.: Nutriční parametry a mastné kyseliny u karcinomu pankreatu. IV. kongres České gastroenterologické společnosti, Praha, 10.-12.12.2009. Česká a slovenská gastroenterologie a hepatologie 63(Suppl.1), 2009, 43.
2. Krechler T., Jáchymová M., Pavlíková M., **Macášek J.**, Vecka M., Žák A., Zeman M.: Leptin a adiponectin u nemocí pankreatu (karcinom pankreatu a chronické

- pankreatitidy) ve vztahu k diabetes mellitus. Abstrakta Atherosklerosa 2009, Praha, 9.-11. 9. 2009. Časopis lékařů českých 148(11), 2009, 565.
3. Krechler T., Jáchymová M., Pavlíková M., Žák A., Zeman M., **Macášek J.:** Leptin and adiponectin plasma concentrations in pancreatic cancer patients. UEGW, London 21. - 25. 11. 2009. Gut 58(Suppl II), 2009, A389.
 4. Krechler T., Jáchymová M., Pavlíková M., **Macášek J.**, Zeman M., Žák A.: Leptin a adiponektin u nemocí pankreatu (karcinom pankreatu a chronické pankreatitidy) ve vztahu k diabetes mellitus. IV. kongres České gastroenterologické společnosti, Praha, 10.-12.12.2009. Česká a slovenská gastroenterologie a hepatologie 63(Suppl.1), 2009, 28.
 5. Vecka M., **Macášek J.**, Krechler T., Urbánek M., Zeman M., Žák A.: Plasma fatty acid composition in pancreatic carcinoma. 78th Congress of the European-Atherosclerosis-Society Hamburg, GERMANY, JUN 20-23, 2010. Atherosclerosis Supplements 11(2), 2010, 208.
 6. **Macášek J.**, Zeman M., Krechler T., Vecka M., Jáchymová M., Žák A.: Inzulínová rezistence u karcinomu pankreatu. Abstr. Atherosklerosa 2010, Praha 8.-10.9.2010. Časopis lékařů českých 150(3), 2011, 189.
 7. Kodydková J., Vávrová L., **Macášek J.**, Krechler T., Žák A.: Antioxidační enzymy a karcinom pankreatu. Abstrakt z kongresu Atherosklerosa 2011. Časopis lékařů českých 151(1), 2012, 32.
 8. Kodydková J., Vávrová L., **Macášek J.**, Krechler T., Žák A.: Antioxidační enzymy a karcinom pankreatu. Abstrakt z kongresu Atherosklerosa 2011. Časopis lékařů českých 151(1), 2012, 32.
 9. **Macášek J.**, Zeman M.: Adipocytokiny u nádorových onemocnění. Abstrakt z kongresu Atherosklerosa 2011. Časopis lékařů českých 151(1), 2012, 32.
 10. Zeman M., Vařeka T., **Macášek J.**, Krechler T., Vecka M., Žák A.: Diabetes mellitus, inzulínová rezistence a karcinom pankreatu. Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa 15(Suppl.1), 2012, 52.
 11. Vařeka T., Zeman M., Krechler T., Vecka M., **Macášek J.:** Adipokiny v možné predikci ca pankreatu u pacientů s DM 2. typu. Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa 15(Suppl.1), 2012, 51-52.

2. Publikace in extenso bez vztahu k tématu dizertace

a) s IF

1. Zeman M., Stopka P., Vecka M., Žák A., Písaříková A., Jiráček R., Staňková B., Vávrová L., Kodydková J., Křížová J., **Macáček J.**: Stanovení hydroxylových a nitroxidových radikálů u deprese a hyperlipidémie elektronovou paramagnetickou rezonancí. *Chemické listy* 103(8), 2009, 667-671. **IF: 0.717**
2. Kodydková J., Vávrová L., Zeman M., Jiráček R., **Macáček J.**, Staňková B., Tvrzická E., Žák A.: Antioxidative enzymes and increased oxidative stress in depressive women. *Clinical Biochemistry* 42(13-14), 2009, 1368-1374. **IF: 2.019**

b) bez IF

1. Dušejovská M., Vařeka T., **Macáček J.**, Hrubant K., Žák A., Zeman M.: Shyův-Dragerův syndrom. *Časopis lékařů českých* 149(5), 2010, 225-228.
2. **Macáček J.**, Zeman M., Vecka M., Vávrová L., Kodydková J., Tvrzická E., Žák A.: Reaktivní kyslíkové a dusíkové sloučeniny v klinické medicíně. *Časopis lékařů českých* 150(8), 2011, 423-432.
3. Vařeka T., **Macáček J.**, Zeman M.: Nejasné hypoglykémie u 20-ti letého muže bez diagnózy diabetes mellitus. *Kazuistiky v diabetologii* 11(4), 2013, 21-22.
4. **Macáček J.**, Zeman M., Tvrzická E.: Adiponektin a leptin v rozvoji metabolického syndromu. *Ateroskleróza* 13(3-4), 2009, 66-69.

c) abstrakta v kongresových sbornících

1. **Macáček J.**, Jirkovská M., Tvrzická E., Staňková B., Vecka M.: Distribution of the size of LDL particles prepared under different conditions. *Proceedings S⁴G International Conference on Stereology, Spatial Statistics and Stochastic Geometry, Prague 2006*, 423-428.
2. **Macáček J.**, Jirkovská M., Tvrzická E., Staňková B., Vecka M.: The size of LDL particles could be influenced by different conditions during a preparation. *Central and Eastern Europe Conference on Health and the Environment, Bratislava, 22. - 25. 10. 2006. Book of abstracts 2006*, 39-40.
3. **Macáček J.**, Jirkovská M., Tvrzická E., Staňková B., Vecka M., Žák A.: Vliv skladování na distribuci velikosti částic lipoproteidů o nízké hustotě. 7. studentská vědecká konference, Praha, 22. 5. 2006. *Sborník abstrakt 2006*, 47.

4. **Macášek J.**, Tvrzická E., Žák A.: Apolipoproteiny – současný pohled. Sborník Atherosklerosa – diagnostika, léčba, prevence v dětském i dospělém věku, Praha, 2007, S35-S42.
5. **Macášek J.**, Zeman M., Tvrzická E., Staňková E., Žák A.: Poměr adiponektin/leptin jako ukazatel rizika rozvoje atherosklerozy. Atherosklerosa, diagnostika, léčba, prevence v dětském i dospělém věku 2008, 49-51.
6. **Macášek J.**, Vařeka T., Zeman M., Vecka M., Tvrzická E., Jáchymová M., Duffková L., Staňková B., Vávrová L., Kodydková J., Žák A.: Poměr adiponektin-leptin je snížen u metabolického syndromu. Sborník 9. studentské vědecké konference 21. 5. 2008, 39-40.
7. **Macášek J.**, Zeman M., Tvrzická E., Staňková B., Žák A.: Poměr adiponektin/leptin jako rizikový parametr rozvoje aterosklerózy. XXVIII. dny mladých internistů, Olomouc, 4. - 5. 6. 2009. Vnitřní lékařství 55(Suppl.1), 2009, S177.
8. **Macášek J.**, Zeman M.: Adiponektin a leptin v rozvoji metabolického syndromu. Sborník Atherosklerosa, diagnostika, léčba, prevence v dětském i dospělém věku, 2009, S6-S9.
9. Dušejovská M., **Macášek J.**, Vařeka T., Zeman M., Hrubant K., Žák A.: Kazuistika – Shytův-Dragerův syndrom. XXVIII. dny mladých internistů, Olomouc, 4. - 5. 6. 2009. Vnitřní lékařství 55(Suppl.1), 2009, S193.
10. Vařeka T., Zeman M., Vecka M., Dušejovská M., Jirák R., Žák A., Tvrzická E., **Macášek J.**, Staňková B.: Features of metabolic syndrome in depressive disorder. 78th Congress of the European-Atherosclerosis-Society Hamburg, GERMANY, JUN 20-23, 2010. Atherosclerosis Supplements 11(2), 2010, 161.
11. Zeman M., Jirák R., Vecka M., Žák A., **Macášek J.**, Tvrzická E., Vařeka T., Vávrová L., Kodydková J., Staňková B.: Leptin, adiponectin and leptin to adiponectin ratio in depressive women. 78th Congress of the European-Atherosclerosis-Society Hamburg, GERMANY, JUN 20-23, 2010. Atherosclerosis Supplements 11(2), 2010, 159.
12. Vařeka T., Zeman M., **Macášek J.**, Vecka M., Kodydková J., Vávrová L., Žák A.: Léčba niacinem, možnosti použití preparátu TREDAPTIVE® (naše pozorování). Atherosklerosa 2012, sjezdový sborník prací, 47-51.
13. Zeman M., Jirák R., Vařeka T., **Macášek J.**, Vecka M., Tvrzická E., Žák A.: Mastné kyseliny a depresivní porucha. Atherosklerosa 2012, sjezdový sborník prací, S9-S16.

d) kapitoly v knize

1. **Macášek J.:** Cyanóza. In Lukáš K., Žák A. Chorobné znaky a příznaky. Praha, Grada 2010, 79-82.
2. **Macášek J.:** Dušnost. In Lukáš K., Žák A. Chorobné znaky a příznaky. Praha, Grada 2010, 83-90.
3. **Macášek J.:** Hypertenze. In Lukáš K., Žák A. Chorobné znaky a příznaky. Praha, Grada 2010, 163-170.
4. **Macášek J.:** Hypotenze. In Lukáš K., Žák A. Chorobné znaky a příznaky. Praha, Grada 2010, 185-188.
5. **Macášek J.:** Synkopa. In Lukáš K., Žák A. Chorobné znaky a příznaky. Praha, Grada 2010, 363-366.
6. **Macášek J.:** Anosmie. In Lukáš K., Žák A. a kol: Chorobné znaky a příznaky 2. 1. vyd. Praha, Grada 2011, 51-53.
7. **Macášek J.:** Ataxie. In Lukáš K., Žák A. a kol: Chorobné znaky a příznaky 2. 1. vyd. Praha, Grada 2011, 55-57.
8. **Macášek J.:** Nystagmus. In Lukáš K., Žák A. a kol: Chorobné znaky a příznaky 2. 1. vyd. Praha, Grada 2011, 143-146.
9. **Macášek J.,** Tvrzická E., Žák A.: Apolipoproteiny – současný pohled. In A. Žák Ateroskleróza – nové pohledy. 1. vyd. Praha, Grada 2011, 39-48.
10. Kocík M., **Macášek J.:** Poruchy srdečního rytmu. In Lukáš K., Žák A. a kol: Chorobné znaky a příznaky 2. 1. vyd. Praha, Grada 2011, 219-232.