

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA BIOFYZIKY A FYZIKÁLNÍ CHEMIE

Stanovenie mastných kyselín v ľudských tkanivách
Diplomová práca

ABSTRAKT

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biofyziky a fyzikální chemie

Kandidát: Bc. Ivana Tuřňová

Vedúci diplomovej práce: Mgr. Monika Kuchařová, Ph.D.

Konzultant: prof. MUDr. Zdeněk Zadák, CSc.

Názov diplomovej práce: Stanovenie mastných kyselín v ľudských tkanivách

Mastné kyseliny sú nezanedbateľnou súčasťou lipidov ako jednej zo základných živín. Táto práca v teoretickej časti približuje predovšetkým skupinu polynenasýtených mastných kyselín, ktoré sú dôležitou stavebnou jednotkou membrán buniek i prekursorami viacerých významných biologicky aktívnych látok. Polynenasýtené mastné kyseliny sa takto v ľudskom organizme podieľajú na mnohých fyziologických i patologických procesoch, kde spôsobujú široké spektrum účinkov. Práca ďalej popisuje metódu plynovej chromatografie, ktorá sa v chemickej analýze lipidov používa pre stanovenie mastných kyselín ako zlatý štandard. Experimentálne bolo stanovené zastúpenie mastných kyselín v krvi, svaloch, srdci, pečeni a ľadvinách u 26 kadáverov, ktorí boli na základe predpokladanej prítomnosti/absencie zápalového procesu v čase úmrtia rozdelení do dvoch skupín. Získané údaje boli štatisticky spracované. Výsledky sú popisne zhodnotené a sú naznačené možné vysvetlenia zistených rozdielov v zastúpení mastných kyselín medzi oboma skupinami kadáverov v daných tkanivách.

Kľúčové slová

esenciálne mastné kyseliny, polynenasýtené mastné kyseliny, omega-3 a omega-6 mastné kyseliny

ABSTRACT

Charles University

Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Biophysics and Physical Chemistry

Candidate: Ivana Turňová

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

Consultant: prof. MUDr. Zdeněk Zadák, CSc.

Title of Diploma Thesis: Determination of fatty acids in human tissues

The fatty acids are non-negligible component of lipids as one of the basic nutrients. This thesis in its theoretical part presents above all the group of polyunsaturated fatty acids (PUFA), which are important structural units of the cell membranes, they are also the precursors to several significant biologically active substances. In the human organism PUFA participate in many physiological and pathological processes this way, where they cause the large spectrum of actions. Onwards the thesis describes the gas chromatography method that is used in chemical analysis of lipids for the fatty acid determination as the gold standard. Experimentally, the fatty acid representation was determined in the blood, muscle, heart, liver and kidney among 26 cadavers divided into two groups according to the presence/absence of inflammatory process at the time of death. The data obtained were statistically analysed. The results were descriptively evaluated and there were indicated possible explanations of differences discovered in the fatty acid representation between the both groups of cadavers in the tissues given.

Key words

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

„Vyhlasujem, že táto práca je mojím pôvodným autorským dielom. Všetka literatúra a ďalšie zdroje, z ktorých som pri vypracovaní čerpala, sú uvedené v zozname použitej literatúry a v práci riadne citované. Práca nebola využitá k získaniu iného alebo rovnakého titulu.“

V Hradci Králové, 29. august 2017

Ivana Turňová

Pod'akovanie

Chcela by som sa na tomto mieste poďakovať vedúcej mojej práce Mgr. Monike Kuchařovej, Ph.D. a konzultantovi prof. MUDr. Zdeňkovi Zadákovi, Csc. za všetky rady a pripomienky pri vypracovaní diplomovej práce. Za odbornú pomoc pri realizácii experimentálnej časti ďakujem pracovníkom vo *Výzkumné laboratoři III. interní gerontometabolické kliniky* vo Fakultnej nemocnici Hradec Králové MUDr. Radomírovi Hyšplerovi, Ph.D., RNDr. Mgr. Alene Tichej, Ph.D. a pani laborantke Ivete Svobodovej. Ďalej ďakujem prednostovi *Ústavu soudního lékařství Lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Hradci Králové* doc. MUDr. Petrovi Hejnovi, Ph.D., MBA a pani laborantke Mgr. Vlaste Drahošovej za ústretovosť a poskytnutie biologického materiálu.

Obsah

Zoznam symbolov a skratiek	6
1 Úvod a cieľ práce.....	8
2 Teoretická časť	9
2.1 Masné kyseliny.....	9
2.2 Polynenasýtené ω -3 a ω -6 masné kyseliny	11
2.2.1 Enzymatická premena	14
2.2.2 Nutričné aspekty.....	15
2.3 Zápal a jeho mediátory	18
2.3.1 Biosyntéza eikozanoidov a ich účinky	20
2.3.1.1 Prostaglandíny	22
2.3.1.2 Tromboxany.....	23
2.3.1.3 Leukotriény.....	23
2.3.2 Pôsobenie ďalších lipidových mediátorov v zápalovej odpovedi.....	24
2.3.2.1 Lipoxíny.....	24
2.3.2.2 Rezolvíny	25
2.3.2.3 Protektíny.....	26
2.3.3 Vplyv masných kyselín na zápal a imunitu.....	27
2.4 Chemická analýza lipidov	30
2.4.1 Derivatizácia masných kyselín.....	32
2.4.2 Stanovenie masných kyselín metódou plynovej chromatografie.....	33
3 Experimentálna časť.....	39
3.1 Prístrojové vybavenie a pomôcky	39
3.2 Chemikálie.....	39
3.3 Pracovný postup	40
3.3.1 Príprava vzoriek	40
3.3.2 Extrakcia lipidov	41
3.3.3 Derivatizácia masných kyselín.....	41
3.4 Chromatografická analýza.....	42
3.5 Vyhodnotenie a štatistické spracovanie dát.....	43
4 Výsledky.....	45
4.1 Charakteristika výskumného súboru	45
4.2 Štatistické spracovanie	47
5 Diskusia.....	74
6 Záver.....	78
Zoznam obrázkov	79
Zoznam tabuliek	81
Zoznam použitej literatúry	83
Zoznam príloh	90

Zoznam symbolov a skratiek

AA	arachidonic acid (kyselina arachidónová)
ALA	α-linolenic acid (kyselina α -linolénová)
ATL	aspirin-triggered lipoxin (aspirínom aktivovaný lipoxín)
AUC	area under curve (plocha pod krivkou)
cAMP	cyclic adenosine monophosphate (cyklický adenzín monofosfát)
CNS	central nervous system (centrálny nervový systém)
COX	cyclooxygenase (cyklooxygenáza)
DGLA	dihomo-γ-linolenic acid (kyselina dihomo- γ -linolénová)
DHA	dokosaheptaenoic acid (kyselina dokozaheptaénová)
EPA	eicosapentaenoic acid (kyselina eikozapentaénová)
FAME	fatty acid methyl ester (metylester mastnej kyseliny)
FID	flame ionization detector (plameňovo-ionizačný detektor)
GC	gas chromatography (plynová chromatografia)
GLA	γ-linolenic acid (kyselina γ -linolénová)
HETE	hydroxyeicosatetraenoic acid (kyselina hydroxyeikozatetraénová)
HPEPE	hydroperoxyeicosapentaenoic acid (kyselina hydroperoxyeikozapentaénová)
HPETE	hydroperoxyeicosatetraenoic acid (kyselina hydroperoxyeikozatetraénová)
IL	interleukin (interleukín)
INF	interferon (interferón)
IS	internal standard (vnútorný štandard)
LA	linoleic acid (kyselina linolová)
LX	lipoxin (lipoxín)
LT	leukotriene (leukotrién)
LOX	lipoxygenase (lipoxygenáza)
LVI	large volume injection (nastrekovanie veľkého objemu)
MOF	multiple organ failure (multiorgánové zlyhanie)
MS	mass spectroscopy, mass spectrometer (hmotnostná spektroskopia, hmotnostný spektrometer)

MTBE	methyl-<i>terc</i>-buthyl ether (metyl- <i>terc</i> -butyléter)
MUFA	monounsaturated fatty acid (mononenasýtená masťná kyselina)
NF	nuclear factor (nukleárny faktor)
PAF	platelet-activating factor (faktor aktivujúci trombocyty)
PG	prostaglandin (prostaglandín)
PLOT	porous-layer open tubular (kolóna s vnútornou stenou pokrytou chemicky viazaným sorbentom)
PTV	programmed-temperature vaporizer (teplotne programovateľný odparovač)
PUFA	polyunsaturated fatty acid (polynenasýtená masťná kyselina)
RNS	reactive nitrogen species (reaktívne formy dusíka)
ROS	reactive oxygen species (reaktívne formy kyslíka)
Rv	resolvin (rezolvín)
SCOT	support-coated open tubular (kolóna s vnútornou stenou pokrytou nosičom vrstvy stacionárnej fázy)
SD	standard deviation (smerodajná odchýlka)
SFA	saturated fatty acid (nasýtená masťná kyselina)
SIRS	systemic inflammatory response syndrome (syndróm systémovej zápalovej odpovede)
SPM	specialized pro-resolving mediator (špecializovaný prorezolučný mediátor)
SRS-A	slow-reacting substance of anaphylaxis (pomaly reagujúca substancia anafylaxie)
tMUFA	total of monounsaturated fatty acids (suma mononenasýtených masťných kyselín)
TNF	tumor necrosis factor (tumor nekrotizujúci faktor)
tSFA	total of saturated fatty acids (suma nasýtených masťných kyselín)
TX	thromboxane (tromboxan)
WCOT	wall-coated open tubular (kolóna s vnútornou stenou pokrytou vrstvou stacionárnej fázy)
WHO	World Health Organization (Svetová zdravotnícka organizácia)

1 Úvod a cieľ práce

Viacere epidemiologické, experimentálne i klinické štúdie dosvedčujú existenciu vzájomných vzťahov medzi výživou (jej lipidovými zložkami), infekčnými a zápalovými chorobami sprostredkovanými cytokínmi i rozvojom niektorých nádorových ochorení. Napriek dôležitej úlohe, ktorú v mnohých biologických procesoch zohrávajú predovšetkým polynenasýtené mastné kyseliny, nie sú známe ich zásoby v jednotlivých orgánových systémoch.

Cieľom tejto práce je stanoviť zastúpenie polynenasýtených mastných kyselín vo vybraných tkanivách ľudského organizmu. Stanovované je spektrum mastných kyselín jednak v telách zdravých kadáverov, u ktorých došlo k náhlemu úmrtiu z dôvodu vonkajšej príčiny, a jednak v telách dlhodobo nemocných, polymorbidných pacientov. O podobných experimentoch neexistujú v dostupnej literatúre prakticky žiadne zmienky, a teda nie sú známe ani údaje o zásobách mastných kyselín v konkrétnych tkanivách.

Potrebné vzorky tkanív zabezpečené prostredníctvom *Ústavu soudního lékařství Lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Hradci Králové* sú v spolupráci s *Výzkumnou laboratoří III. interní gerontometabolické kliniky* vo Fakultnej nemocnici Hradec Králové analyzované metódou plynovej chromatografie s plameňovo-ionizačnou detekciou a získané výsledky sú štatisticky spracované.

2 Teoretická časť

Mastné kyseliny sú nepostrádateľnou zložkou lipidov – štruktúrne heterogénnej skupiny biologicky významných látok. Lipidy ako stavebné i funkčné súčasti rastlinných a živočíšnych buniek plnia rôznorodé úlohy. Pre svoju vysokú energetickú hodnotu patria medzi základné živiny a pre obsah esenciálnych mastných kyselín a vitamínov rozpustných v tukoch predstavujú dôležitú súčasť potravy.

Lipidy vytvárajú tukové zásoby organizmu, ktoré okrem funkcie energetického zdroja slúžia ako tepelná izolácia a mechanická ochrana orgánov. V nervovom tkanive fungujú lipidy ako elektrická izolácia na myelinizovaných vláknach [1]. Ďalšou podstatnou úlohou lipidov, hlavne fosfolipidov a cholesterolu, je zabezpečenie fluidity membrán buniek. Lipidy sú tiež prekursori pre syntézu mnohých významných látok, napríklad hormónov, eikozanoidov, ketolátok či žľových kyselín [2].

2.1 Mastné kyseliny

V organizme sa mastné kyseliny vyskytujú prevažne vo forme esterov s alkoholmi (v tukoch a lipidoch membrán), ale nachádzajú sa aj v neesterifikovanej forme, kedy sa označujú ako voľné mastné kyseliny. Pre svoje amfipatické vlastnosti sa viažu väčšinou na bielkoviny a takto sú transportované krvným riečišťom.

Mastné kyseliny je možné rozdeliť podľa viacerých kritérií:

- podľa počtu uhlíkov v reťazci:
 - C4–C6 mastné kyseliny s krátkym reťazcom,
 - C8–C10 mastné kyseliny so stredne dlhým reťazcom,
 - C12–C18 mastné kyseliny s dlhým reťazcom,
 - C > C18 mastné kyseliny s veľmi dlhým reťazcom;
- podľa štruktúry uhlíkového reťazca:
 - jednoduché,
 - rozvetvené;
- podľa prítomnosti dvojitéch väzieb:
 - nasýtené mastné kyseliny (SFA – *saturated fatty acids*) – neobsahujú dvojité väzby,

-
- o nenasýtené mastné kyseliny – obsahujú jednu alebo viac dvojitých väzieb.

Nenasýtené mastné kyseliny sa ďalej rozdeľujú podľa počtu dvojitých väzieb:

- o mononenasýtené (MUFA – *monounsaturated fatty acids*) s jednou dvojitou väzbou,
- o polynenasýtené (PUFA – *polyunsaturated fatty acids*) s dvoma alebo viacerými dvojitými väzbami [3].

Prítomnosť dvojitej väzby umožňuje *cis/trans*-izomériu, ale v prírode sa vyskytujúcich nenasýtených mastných kyselín je obvyklá *cis*-konfigurácia, preto sa z tohto dôvodu v názve kyseliny špeciálne neoznačuje. Počet a poloha dvojitých väzieb sa udáva niekoľkými spôsobmi:

- prostý výpočet v skrátenej zápise mastnej kyseliny¹ v tvare $CN:M;X$, kde je N počet uhlíkov v reťazci, M počet dvojitých väzieb a X poloha dvojitej väzby vzhľadom na uhlík karboxylovej skupiny (C1),
- horný index písmena Δ – číslo označuje polohu dvojitej väzby² vzhľadom na uhlík karboxylovej skupiny (C1),
- ω - alebo n - – číslo označuje polohu dvojitej väzby³ vzhľadom k uhlíku koncovej metylovej skupiny, tzn. k uhlíku najvzdialenejšiemu od karboxylovej skupiny [1][3].

V organizmoch vyšších rastlín a živočíchov sa nachádzajú predovšetkým mastné kyseliny s dlhým reťazcom. Prehľad najdôležitejších kyselín je uvedený v Tab. 1. V mastných kyselínach živočíchov je možné dvojitú väzbu dodatočne zaviesť len medzi existujúcou dvojitou väzbou (napr. ω -3, ω -6 alebo ω -9) a karboxylovú skupinu. Takto sa vytvorili tri skupiny označované ako ω -3, ω -6 a ω -9 nenasýtené mastné kyseliny [1][4].

S nemožnosťou zaviesť dvojitú väzbu na konci reťazca (za C9) súvisí aj ďalšie klasifikačné kritérium, a to schopnosť organizmu syntetizovať danú kyselinu. Človek musí v potrave prijímať tzv. esenciálne (nepostrádateľné) mastné kyseliny, ktoré si ľudské telo nedokáže samo vytvoriť. Do kategórie esenciálnych mastných kyselín patria kyseliny s 18 atómami uhlíka a viacerými dvojitými väzbami [3]. V Tab. 1 sú tieto kyseliny označené hviezdičkou.

¹ Kyselina arachidónová s 20 uhlíkmi a 4 dvojitými väzbami sa zapíše ako C20:4;5,8,11,14.

² Zápis $\Delta^{9,12}$ znamená, že mastná kyselina obsahuje dve dvojité väzby, prvú medzi 9. a 10. uhlíkom a druhú medzi 12. a 13. uhlíkom, počítaným od karboxylového konca.

³ Zápis ω -3, resp. n -3 znamená, že mastná kyselina obsahuje dvojitú väzbu na 3. uhlíku počítanom od metylového konca.

Tab. 1 Prehľad vybraných mastných kyselín

názov kyseliny	skrátенý zápis	systematický názov	zaradenie
laurová	C12:0	dodekánová	SFA
myristová	C14:0	tetradekánová	SFA
palmitová	C16:0	hexadekánová	SFA
palmitolejová	C16:0	<i>cis</i> -9-hexadecénová	ω -7 MUFA
steárová	C18:0	oktadekánová	SFA
olejová	C18:1;9	<i>cis</i> -9-oktadecénová	ω -9 MUFA
elaidová	C18:1;9	<i>trans</i> -9-oktadecénová	ω -9 MUFA
* linolová	C18:2;9,12	all- <i>cis</i> -9,12-oktadekadiénová	ω -6 PUFA
* α -linolénová	C18:3;9,12,15	all- <i>cis</i> -9,12,15-oktadekatriénová	ω -3 PUFA
γ -linolénová	C18:3;6,9,12	all- <i>cis</i> -6,9,12-oktadekatriénová	ω -6 PUFA
arach(id)ová	C20:0	eikozanová	SFA
dihomo- γ -linolénová	C20:3;8,11,14	all- <i>cis</i> -8,11,14-eikozatriénová	ω -6 PUFA
arachidónová	C20:4;5,8,11,14	all- <i>cis</i> -5,8,11,14-eikozatetraénová	ω -6 PUFA
timnodonová	C20:5;5,8,11,14,17	eikozapentaénová	ω -3 PUFA
behénová	C22:0	dokozanová	SFA
eruková	C22:1;13	<i>cis</i> -13-dokozaénová	ω -9 PUFA
klupadónová	C22:5;4,8,12,15,19	all- <i>cis</i> -4,8,12,15,19-dokozapentaénová	ω -6 PUFA
cervonová	C22:6;4,7,10,13,16,19	all- <i>cis</i> -4,7,10,13,16,19-dokozahexaénová	ω -3 PUFA
lignocerová	C24:0	tetrakozanová	SFA
nervonová	C24:1;15	<i>cis</i> -15-tetrakozaénová	ω -9 PUFA

Zdroj: Vlastné spracovanie podľa [3][4]

2.2 Polynenasýtené ω -3 a ω -6 mastné kyseliny

Keď sa hovorí o esenciálnych mastných kyselinách, niekedy sa tento termín zamieňa s termínom polynenasýtené mastné kyseliny. Polynenasýtené mastné kyseliny môžu totiž splniť niektoré úlohy esenciálnych mastných kyselín. Tiež platí, že stav spôsobený nedostatkom esenciálnych mastných kyselín sa môže skorigovať veľkým množstvom polynenasýtených mastných kyselín. To mohlo viesť k dojmu, že tieto termíny sa dajú jednoducho stotožniť [5].

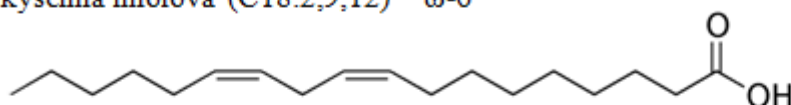
V skutočnosti všetky esenciálne mastné kyseliny patria medzi polynenasýtené, ale nie všetky polynenasýtené mastné kyseliny sú esenciálne. Obe skupiny však zohrávajú významnú úlohu v mnohých patologických klinických stavoch. Ako prekurzory ďalších

biologicky aktívnych látok spôsobujú široké spektrum účinkov (dokonca protichodných⁴), preto je potrebné poznať vzájomné vzťahy týchto látok.

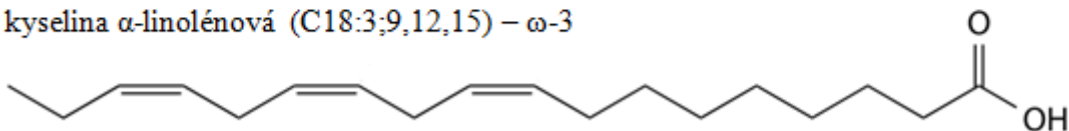
Ako už bolo uvedené, kritérium esenciálnosti mastných kyselín spočíva v schopnosti organizmu syntetizovať danú kyselinu. Mononenasytené mastné kyseliny sa v najväčšej miere syntetizujú z nasýtených uhlíkových reťazcov v endoplazmatickom retikule obličiek pomocou desaturáz – nehemových enzýmov obsahujúcich železo. Podľa polohy, do ktorej tieto enzýmy zavádzajú dvojité väzby, ide o Δ^9 -, Δ^6 -, Δ^5 - a Δ^4 -desaturázy [1][2].

Polynenasýtené mastné kyseliny (PUFA) sa tiež tvoria pomocou systému desaturáz, ale ľudský organizmus si nedokáže vytvoriť **kyselinu linolovú** (C18:2;9,12) zo skupiny ω -6 mastných kyselín a **kyselinu α -linolénovú** (C18:3;9,12,15) zo skupiny ω -3, pretože ďalšie potrebné desaturázy u neho nie sú prítomné. V ľudskom organizme sa *de novo* nesyntetizuje ani kľúčový prekursor eikozanoidov, ω -6 kyselina arachidónová (C20:4;5,8,11,14) [2]. Táto kyselina ale nie je nutrične esenciálna⁵, pretože vzniká z kyseliny linolovej.

kyselina linolová (C18:2;9,12) – ω -6



kyselina α -linolénová (C18:3;9,12,15) – ω -3



Obr. 1 Štruktúry esenciálnych mastných kyselín

Zdroj: [3]

Ďalšie PUFA sa niekedy označujú ako tzv. **podmienene esenciálne**, čo znamená, že sa stávajú esenciálnymi v určitých vývojových obdobiach alebo chorobných stavoch. Príkladom je ω -3 kyselina dokozahexaénová (C22:6;4,7,10,13,16,19) dôležitá pre vývoj i správne fungovanie centrálného nervového systému (CNS – *central nervous system*) [6].

⁴ Tvoria sa z nich napríklad molekuly, ktoré potláčajú zápalový proces, ale i také, ktoré ho podporujú.

⁵ Samotnú kyselinu arachidónovú nie je nutné dodávať zvlášť, ak je strava dostatočne bohatá na kyselinu linolovú [1].

Väčšina kyseliny dokozahehexaénovej (DHA – *dokosahehexaenoic acid*) sa v ľudskom mozgu nashromažďuje v perinatálnom období, od začiatku tretieho trimestra tehotenstva približne do druhého roku života. V tomto období dochádza k rýchlemu dozrievaniu neurónov, tvorbe synapsí a rozširovaniu šedej hmoty. Naopak, k poklesu biomarkerov množstva DHA v mozgu dochádza v období normálneho starnutia, ktoré je charakterizované aj strácaním pamäte a kognitívnych funkcií. Spomenuté dve obdobia sú preto obzvlášť citlivé na príjem ω -3 PUFA [7].

Pre novorodencov je kľúčový príjem ω -3 PUFA u matky, pretože v perinatálnom období sú ω -3 PUFA dodávané prenosom cez placentu alebo v materskom mlieku. To ovplyvňuje množstvo DHA pri narodení a následný rozvoj mozgových a zrakových funkcií po narodení. Uvádza sa, že DHA tvorí približne 25 % všetkých mastných kyselín v mozgovej kôre, viac ako 30 % v sietnici ako celku a až 60 % v tyčinkách svetlocitlivých buniek sietnice. Ženám sa v tehotenstve a čase kojenia odporúča preventívne prijímať 200-300 mg DHA denne, pretože pre optimálny rozvoj funkcií mozgu i sietnice je potrebný prírastok DHA v membránach buniek CNS novorodenca [6].

Membrány buniek sú tiež miestom prvého kontaktu s akýmkoľvek mechanickým stresom z intra- i extracelulárneho prostredia, napríklad voľnými radikálmi, procesmi peroxidácie alebo zápalom. Charakteristickým znakom Alzheimerovej choroby je ukladanie fibrilárneho peptidu β -amyloidu v mozgu a ním spôsobená neurotoxická, tzn. oxidačný stres, porušenie vápnikovej rovnováhy a cholinergnej signalizácie [8]. Ukladanie β -amyloidu je výsledkom priamej interakcie s membránovou dvojvrstvou fosfolipidov [9] a jeho toxicita spočíva hlavne v zmene fyzikálno-chemických vlastností membrány.

DHA zabezpečuje väčšiu fluiditu fosfolipidovej dvojvrstvy membrán, čím zmiernuje abnormality v glukózovom (energetickom) metabolizme mozgových buniek. Existuje hypotéza, že práve „inzulín-rezistentný stav mozgu“ závislý na fluidite membrán, tvorí jadro neurodegeneratívnych procesov, ktoré sa vyskytujú pri Alzheimerovej chorobe [10][11].

Podľa nedávnej štúdie, u pacientov trpiacich ľahkými poruchami poznávania (diagnóza F06.7), došlo pri podávaní 720 mg DHA v kombinácii s kyselinou eikozapentaénovou, sójovými fosfolipidmi, vitamínom E, tryptofanom a melatonínom po dobu 12 týždňov k zlepšeniu mozgových funkcií [12]. To môže byť vysvetlené ako

dôsledok vyššieho množstva DHA a tým vyššou fluiditou membrán erytrocytov, a všeobecne buniek všetkých tkanív, vrátane nervových. Podávanie DHA v potrave tak môže byť prevenciou nástupu Alzheimerovej choroby v budúcnosti [8].

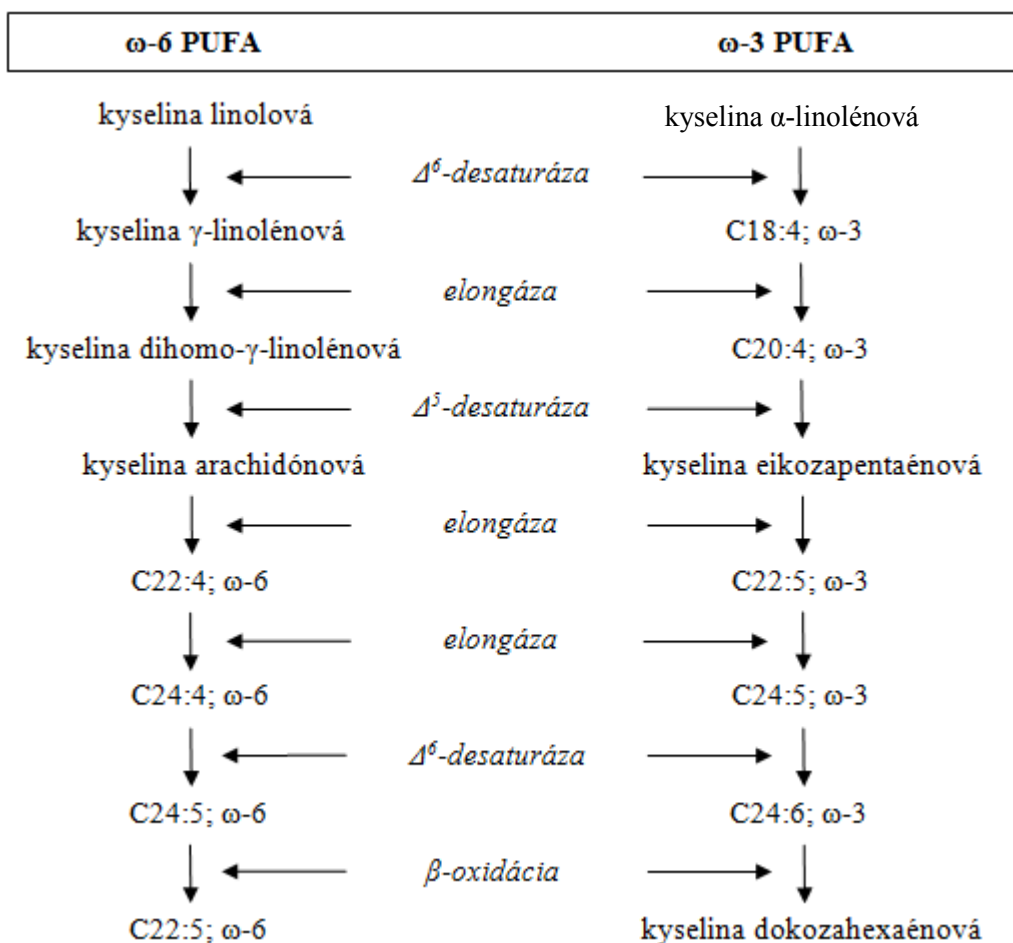
2.2.1 Enzymatická premena

Pri tvorbe ostatných – neesenciálnych – polynenasýtených mastných kyselín a následne z nich vznikajúcich látok zdieľajú esenciálne mastné kyseliny z oboch skupín (ω -3 a ω -6) spoločný enzymatický systém. Kyselina linolová (LA – *linoleic acid*) zo skupiny ω -6 je účinkom Δ^6 -desaturázy premenená na kyselinu γ -linolenovú (C18:3;6,9,12), ktorá je pomocou elongázy predĺžená na kyselinu dihomo- γ -linolenovú (C20:3;8,11,14) [5][13].

Kyselina dihomo- γ -linolénová (DGLA – *dihomo- γ -linolenic acid*) je prekursorom prostaglandínov skupiny 1. Účinkom Δ^5 -desaturázy môže byť DGLA ďalej premenená na kyselinu arachidónovú (AA – *arachidonic acid*). Táto kyselina je prekursorom prostaglandínov skupiny 2, rovnako tromboxanov skupiny 2 a leukotriénov skupiny 4. Okrem toho sa z AA vytvárajú deriváty hydroperoxyeikozatetraénových a hydroxy-eikozatetraénových kyselín, lipoxíny a epoxyeikozatriénové kyseliny [5][13].

Druhá z esenciálnych kyselín, kyselina α -linolénová (ALA – *α -linolenic acid*) zo skupiny ω -3, je pôsobením Δ^6 - a Δ^5 -desaturáz a príslušnej elongázy v troch krokoch premenená na kyselinu eikozapentaénovú (C20:5;5,8,11,14,17). Kyselina eikozapentaénová (EPA – *eikosapentaenoic acid*) je prekursorom prostaglandínov skupiny 3, tromboxanov skupiny 3 a leukotriénov skupiny 3, ďalej je EPA prekursorom pre rezolvíny. Prebieha aj vzájomná konverzia medzi EPA a DHA, ktorá je rovnako prekursorom pre rezolvíny i neuroprotektín D1 [5][13].

Schematicky je proces premeny PUFA znázornený na Obr. 2.



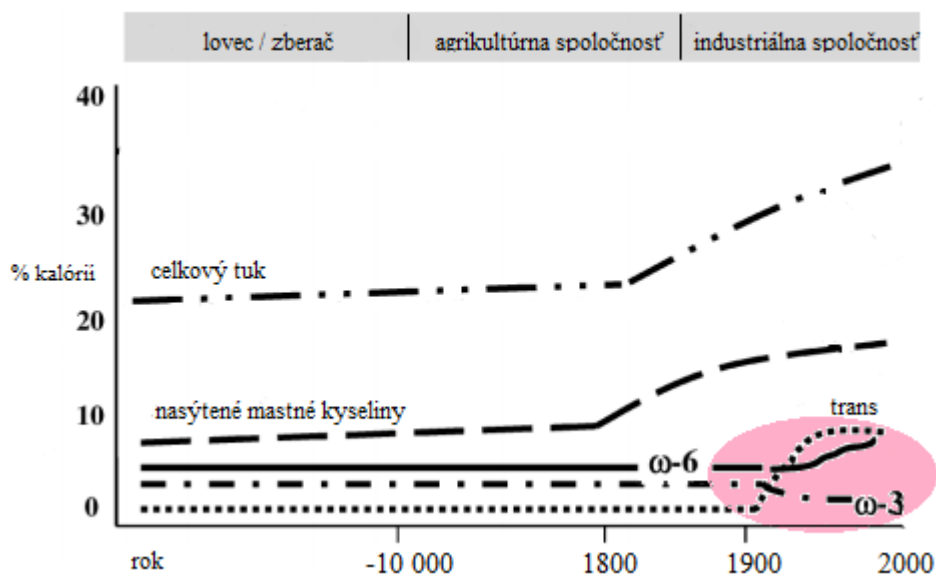
Obr. 2 Enzymatická premena polyneenasýtených mastných kyselín

Zdroj: Upravené podľa [14]

Na Obr. 2 je názorne vidieť, že premeny PUFA v skupinách ω -3 a ω -6 realizuje spoločný enzymatický systém, ale vzájomná premena medzi ω -3 a ω -6 kyselinami nie je možná. V dôsledku prítomnosti takéhoto enzymatického systému v metabolizme PUFA sa medzi ω -3 a ω -6 skupinami uplatňuje kompetitívny mechanizmus, pričom nadbytok jednej skupiny spôsobuje značný pokles konverzie v druhej skupine [13].

2.2.2 Nutričné aspekty

Prechodom od loveckej a zberačskej spoločnosti cez agrikultúrnu až k dnešnej industriálnej spoločnosti sa významne zmenilo aj zloženie potravy, vrátane spotreby a spektra prijímaných lipidov. V období priemyselnej revolúcie prudko narástla hlavne spotreba celkového tuku a nasýtených mastných kyselín. Rovnako sa zmenil aj pomer medzi príjmom ω -3 a ω -6 PUFA v neprospech skupiny ω -3, ako to ilustruje Obr. 3.



Obr. 3 Historické zmeny v príjme lipidov v potrave

Zdroj: Upravené podľa [15]

V súčasnej tzv. západnej strave (*Western diet*) sa tento pomer $\omega-6/\omega-3$ výrazne zmenil z 1 : 1 na 10–25:1 [16]. Pravdepodobne práve pomer $\omega-6/\omega-3$ mastných kyselín je dôležitý z hľadiska viacerých ochorení, v patogenéze ktorých sa uplatňuje zápal (predovšetkým systémový cievny zápal). Optimálny pomer prijímaných $\omega-6/\omega-3$ mastných kyselín by mal byť 1–1,5 : 1, no s poklesom zápalovej aktivity je spojený ešte aj pomer 4 : 1.⁶ Zaujímavá je situácia na indickom subkontinente, kde obyvatelia majú vysoký pomer $\omega-6/\omega-3$ mastných kyselín v potrave i pri takmer vegetariánskej strave. To vedie k extrémne vysokej incidencii kardiovaskulárnych chorôb, napríklad ischemickej choroby srdca, aj napriek neprítomnosti niektorých klasických rizikových faktorov aterosklerózy (cholesterol, hypertenzia) [18].

Naopak, nízky výskyt kardiovaskulárnych chorôb bol vo výskumoch pred už viac ako tridsiatimi rokmi zistený u severských Eskimákov. V kontraste s veľkým množstvom živočíšnych tukov však Eskimáci konzumujú malé množstvo ovocia a zeleniny. Nízka incidencia kardiovaskulárnych chorôb sa preto zdôvodňuje optimálnym pôsobením konzumovaných $\omega-3$ mastných kyselín v mäse a tuku morských rýb [19].

⁶ Podľa súčasných výživových doporučení pre Českú republiku by sa mal pomer $\omega-6/\omega-3$ pohybovať medzi 2 : 1 a 5 : 1 [17].

Negatívne dopady na ľudské zdravie môžu mať aj *trans*-mastné kyseliny⁷, ktoré vznikajú pri priemyselnom spracovaní⁸ tukov a tiež sa objavujú v potrave. Napríklad v procese karcinogenézy sú proteíny geneticky determinované, ale zloženie membrán buniek je s ohľadom na množstvo PUFA v membránach z veľkej časti závislé na príjme z potravy [16]. Vyšší obsah *trans*-mastných kyselín sa vyskytuje v niektorých, väčšinou lacných margarínoch a pokrmových tukoch, v trvanlivom a jemnom pečive, sušienkach, müsli tyčinkách, cukrárenských a čokoládových výrobkoch, kde bol kakaový tuk čiastočne nahradený stuženým rastlinným tukom. V niektorých krajinách (napríklad Dánsko⁹, USA, Kanada) je obsah *trans*-mastných kyselín aj legislatívne obmedzený. V Českej republike zatiaľ k tomu nedošlo, i keď vďaka medializácii zloženia tukov vo výrobkoch na českom trhu sa obsah *trans*-mastných kyselín výrazne znížil [21].

Denný príjem tukov by nemal prekročiť 30 % celkového energetického príjmu, tzn. menej než 80 g. Približne polovicu daného množstva majú tvoriť mononenasýtené mastné kyseliny (rastlinné oleje, mlieko a mliečne výrobky, hydina), menej než tretinu nasýtené (mäso a mäsové výrobky) a asi štvrtinu PUFA (rastlinné oleje, ryby). Doporučený príjem PUFA je relatívne vysoký, je pritom ale nutné dbať i na ochranu PUFA pred oxidáciou, a to súčasným dostatočným príjmom vitamínu E. Jeho najvýdatnejším zdrojom je olej z pšeničných klíčkov. Možno však konzumovať aj ostatné rastlinné oleje alebo potravinové doplnky s obsahom vitamínu E [22].

Podľa doporučení Svetovej zdravotníckej organizácie (WHO – *World Health Organization*) sú riziká kardiovaskulárnych ochorení silne ovplyvnené nutričným zložením tukov, zvlášť ich kvalitatívnou skladbou vo výžive. Z tohto hľadiska sú najúčinnější náhradou nasýtených mastných kyselín PUFA, veľmi dôležitými sú pritom esenciálne mastné kyseliny ALA a LA. Zodpovedajúce množstvo PUFA by malo predstavovať 6–10 % denného príjmu energie. Mastné kyseliny typu ω -6 a ω -3 by mali byť vo vzájomnom pomere (5–8 %) : (1–2 %) alebo aj viac. SFA by mali tvoriť menej než 10 % denného príjmu energie a *trans*-mastné kyseliny menej než 1 %. To znamená nasledujúce doporučené priemerné denné dávky:

⁷ Prospešné PUFA skupiny ω -3 a ω -6 sú v *cis*-konfigurácii. *Trans*-formy mastných kyselín sú nenasýtené mastné kyseliny, ktoré obsahujú aspoň 1 dvojitú väzbu v *trans*-konfigurácii, čím sa uhlíkový reťazec podobá nasýteným mastným kyselinám. Tieto mastné kyseliny zvyšujú cholesterol a pôsobia aterosogénne [18].

⁸ Najviac vznikajú *trans*-mastné kyseliny pri procese „stužovania“ – hydrogenácii tekutých rastlinných olejov pri výrobe mnohých potravinárskych produktov. V menšom množstve obsahujú *trans*-mastné kyseliny aj hovädzie alebo bravčové mäso, prípadne môžu vznikáť pri nesprávnom (príliš prudkom) vysmázaní pri veľmi vysokých teplotách nad 200 °C [17].

⁹ Dánsko bolo prvou krajinou s takouto legislatívnou úpravou [20].

-
- SFA do 26,3 g,
 - *trans*-mastné kyseliny do 2,6 g,
 - PUFA skupiny ω -6 13– 1 g,
 - PUFA skupiny ω -3 2,6–5,2 g a viac [17][19].

PUFA skupiny ω -6 sa nachádzajú v hydine, vajciach, obilninách, pšeničných klíčkoch, väčšine rastlinných olejov, hlavne v slnečnicovom, ďalej v borákovom¹⁰ oleji, ľanovom oleji a semienkach. LA sa vyskytuje tiež v slnečnicových semienkach, sóji, kukurici, sezame a vlašských orechoch [5][18]. Doporučený denný príjem LA je 7–10 g [22].

PUFA skupiny ω -3 obsahujú predovšetkým tučné ryby – lososy, slede, makrely, sardinky, ančovičky. Esenciálna ALA je hojne zastúpená aj v ľanovom, repkovom a sójovom oleji, v dyňových semienkach a zelenej listovej zelenine¹¹ [5]. ALA tvorí takmer štvrtinu celkovej hmotnosti ľanového oleja, ale jej resorpcia z tráviaceho traktu je podstatne nižšia (individuálne 0,3–20 %). Dobrým zdrojom ALA sú aj vlašské orechy, v menšej miere lieskové oriešky a mandle, ale arašidy ju neobsahujú vôbec [18]. Denne sa odporúča prijať 1–2 g ALA (repkový olej, ľanové semienka), tiež viac ako 1 g by mal tvoriť denný príjem EPA + DHA (tučné morské ryby) [22].

PUFA skupiny ω -3 a ω -6 sú metabolicky i funkčné odlišné, ale ako už bolo uvedené, obe skupiny súťažia o rovnaké desaturačné a elongačné enzýmy. Dôsledkom dodania ω -3 PUFA je tak inhibícia syntézy AA z LA zo skupiny ω -6, ako aj znížená tvorba príslušných aktívnych eikozanoidov [5][13]. Rovnováha oboch skupín je dôležitá pre homeostázu a normálny vývoj. Nepomer medzi ω -3 a ω -6 PUFA potom okrem iného prispieva aj k rozvoju zápalových a nádorových¹² ochorení.

2.3 Zápal a jeho mediátory

Súčasťou mnohých chronických zdravotných ťažkostí¹³ je nadmerný zápal, ktorý poškodzuje tkanivá organizmu. Nadmerný alebo neprimeraný zápal a imunosupresia sú

¹⁰ V boráku lekárskom (*Borago officinalis*), rastline zo Stredného východu, Severnej Ameriky i Európy, je vôbec najvyšší obsah kyseliny γ -linolénovej [19].

¹¹ Ako napríklad portulaka zeleninová siata (*Portulaca oleracea*) [5], ľudovo šruha zelená – siata.

¹² Epidemiologické štúdie predpokladajú, že nízkotuková diéta v kombinácii s PUFA, kde je vyvážený pomer ω -3 a ω -6 skupiny, súvisí s nižšou mortalitou nádorov prsníka, hrubého čreva i ďalších nádorov gastrointestinálneho traktu (napríklad pankreasu) a prostaty [16].

¹³ Zápalová zložka sa vyskytuje napríklad pri reumatoidnej artritíde, Crohrovej chorobe, ulceróznej kolitíde, ateroskleróze, lupuse erytematodes, diabete typu I a II, cystickej fibróze, astme, alergií,

tiež súčasťou odpovede organizmu na chirurgické zákroky, poranenia, úrazy či infekcie, kedy môžu postupne viesť k sepe a septickému šoku, preto sú zápalové procesy a možnosti ich ovplyvnenia v centre pozornosti viacerých výskumov a klinických štúdií.

K odpovedi organizmu na poškodenie patrí aktivácia určitých zložiek imunitného systému, ktorá vedie k lokálnemu uvoľneniu chemických mediátorov, a u niektorých látok sa zvyšuje aj ich koncentrácia v krvnom riečišti. Patria k nim:

- eikozanoidy,
- cytokíny,
- reaktívne formy kyslíka a dusíka (ROS – *reactive oxygen species*, RNS – *reactive nitrogen species*),
- faktor aktivujúci doštičky (PAF – *platelet-activating factor*).

Tieto sú súhrnne nazývané ako mediátory zápalu, z čoho sa potom proces ich tvorby označuje ako zápalová odpoveď [23].

Niektoré mediátory sa zapájajú do priamej likvidácie patogénov, ďalšie mediátory majú rôzne regulačné úlohy v hostiteľskej odpovedi na úrovni imunitného systému alebo celého organizmu. Celkovým cieľom zápalovej odpovede je:

- vytvoriť prostredie charakterizované oxidačným stresom a zápalom, ktoré je voči patogénom nepriateľské,
- iniciovať bunkami sprostredkovanú imunitnú odpoveď [23].

Zápalová odpoveď sa vyvinula ako ochranná odpoveď. Pre obranu organizmu pred patogénmi je nevyhnutná, ale neprimeraná či nevhodne načasovaná tvorba zápalových mediátorov môže organizmus poškodiť. Organizmus disponuje antioxidačnými mechanizmami a je schopný tvoriť protizápalové mediátory, ktoré potláčajú nadmerný oxidačný stres a zápal. Rovnováha medzi žiadúcimi a nepriaznivými stavmi sa však môže ľahko narušiť, čo má značný dopad na výsledný stav pacienta [23].

Nekontrolovaná zápalová odpoveď na poškodenie organizmu (napríklad operácia, zranenie, popálenina) sa označuje ako **syndróm systémovej zápalovej odpovede** (SIRS – *systemic inflammatory response syndrom*). SIRS zahŕňa nadmernú tvorbu zápalových cytokínov, predovšetkým tumor nekrotizujúceho faktoru TNF- α (TNF – *tumour necrosis factor*) a interleukínov IL-1 β , IL-6 a IL-8 (IL – *interleukin*).

chronickej obštrukčnej chorobe, psoriáze, skleróze multiplex, neurodegeneratívnych ochoreniach, obezite, rakovinovej kachexii, či akútnych kardiovaskulárnych príhodách alebo syndróme akútnej respiračnej tiesne (zoznam nie je kompletný) [23].

Prítomnosť SIRS v odpovedi na infekciu alebo v spojení s infekciou sa označuje ako **sepsa**. Uvádza sa, že sepsa je spojená s 20% rizikom úmrtia. Sepsa tiež predisponuje k orgánovému zlyhaniu, kde je riziko úmrtia ešte vyššie. Pri **septickom šoku** sa vyskytuje súčasne multiorgánové zlyhanie (MOF – *multiple organ failure*), metabolická acidóza a hypotenzia. Riziko úmrtia je v prípade septického šoku 40–80 % [23][24].

Významná je aj zvýšená úmrtnosť v dôsledku závažného poškodenia hostiteľských tkanív, ktoré bolo spôsobené zápalovou odpoveďou organizmu pri chorobách ako reumatoidná artritída, zápalové ochorenia čriev a astma [25].

2.3.1 Biosyntéza eikozanoidov a ich účinky

Eikozanoidy sú autokrinne a parakrinne pôsobiace signálne látky odvodené od PUFA s 20 atómami uhlíka (gr. *eikosi* = 20), teda od AA (ω -6) a EPA (ω -3). Môžu vznikáť z membránových fosfolipidov takmer vo všetkých somatických bunkách s výnimkou erytrocytov. Dominantným prekursorom pre biosyntézu eikozanoidov je AA, pretože membrány buniek obsahujú v porovnaní s EPA prevahu AA¹⁴ [4].

Obe uvedené PUFA sú skladované v esterifikovanej forme. V prípade membrán buniek a organel sú uložené na cytosolickej strane fosfolipidovej dvojvrstvy alebo môžu byť uložené v tukových kvapkách (bunkových inklúziách). V tukových kvapkách sa PUFA viažu na neutrálne acylglyceroly v jadre a na polárne hlavičky fosfolipidov na cytosolickom povrchu membrány [13]. K uvoľneniu PUFA z membrán buniek dochádza pôsobením fosfolipázy A₂.

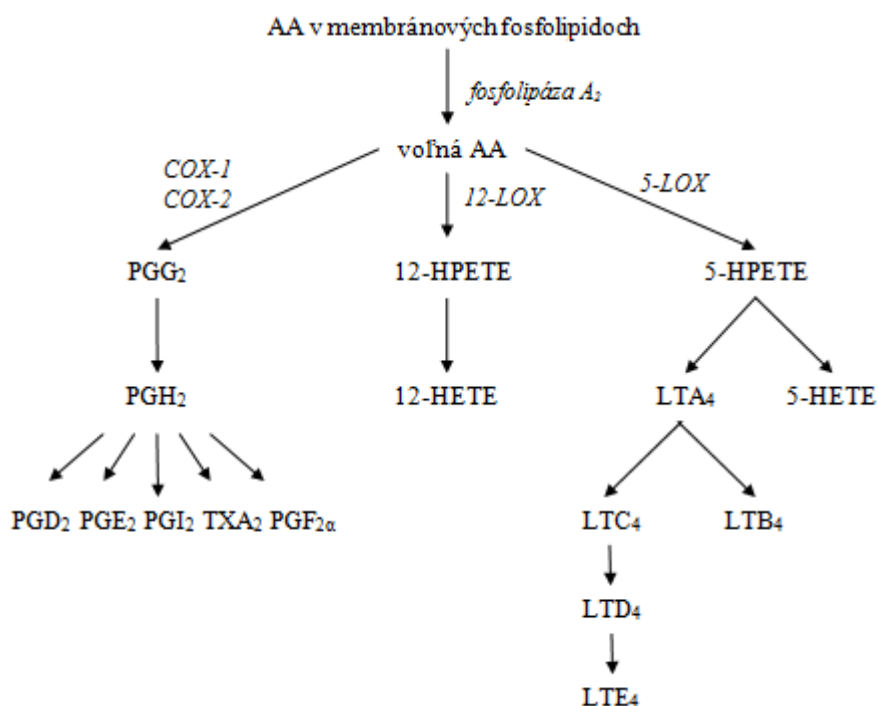
Všetky eikozanoidy pôsobia ako modulátory signálnych dráh či lokálne hormóny (autakoidy¹⁵) a majú schopnosť významne regulovať metabolické procesy organizmu vo fyziologických i patologických podmienkach. Svoje účinky väčšinou navodzujú prostredníctvom receptorov spojených s G-proteínmi, a tak menia v bunkách koncentráciu cyklického adenosín monofosfátu (cAMP – *cyclic adenosine monophosphate*). V trombocytoch, adenohipofýze, štítnej žľaze a pľúcach eikozanoidy zvyšujú koncentráciu cAMP, zatiaľ čo v obličkových tubuloch a tukovom tkanive koncentráciu cAMP znižujú. Podľa enzýmov, ktoré sa uplatňujú pri tvorbe eikozanoidov, sú známe dve hlavné metabolické cesty:

¹⁴ V membránach buniek predstavuje AA až 15 % všetkých mastných kyselín fosfolipidov [4].

¹⁵ Autakoidy sú látky endogénneho pôvodu, ktoré krátkodobo pôsobia v blízkosti miesta svojho vzniku. Netransportujú sa krvou, preto sa označujú ako lokálne hormóny [3].

- cyklooxygenázová (cyklická) cesta – vznikajú prostaglandíny, prostacyklíny a tromboxany (vo všeobecnosti prostanoidy),
- lipoxygenázová (lineárna) cesta – vznikajú leukotriény¹⁶ [2][4].

Nasledujúce obrázky ukazujú syntézu príslušných eikozanoidov z AA (Obr. 4) a z EPA (Obr. 5) oboma uvedenými cestami.

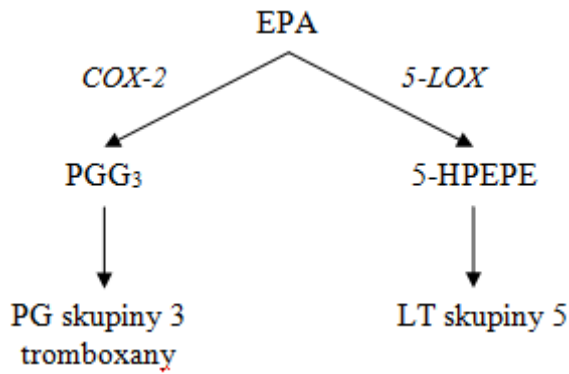


Obr. 4 Syntéza eikozanoidov z kyseliny arachidónovej

Zdroj: Upravené podľa [23]

AA – kyselina arachidónová, COX – cyklooxygenáza, HETE – kyselina hydroxyeikozatetraénová, HPETE – kyselina hydroperoxyeikozatetraénová, LOX – lipoxygenáza, LT – leukotrién, PG – prostaglandín, TX – tromboxan

¹⁶ Lipoxygenázovou cestou vznikajú aj lipoxíny, ale medzi eikozanoidmi ich neuvádzame zámerne, vid' 2.3.2.1.



Obr. 5 Syntéza eikozanoidov z kyseliny eikozapentaénovej

Zdroj: Upravené podľa [23]

COX – cyklooxygenáza, **EPA** – kyselina eikozapentaénová, **HPEPE** – kyselina hydroperoxy-eikozapentaénová, **LOX** – lipoxygenáza, **LT** – leukotrién, **PG** – prostaglandín

Základným rozdielom medzi eikozanoidmi odvodenými od ω -3 a ω -6 PUFA je ich protichodný účinok. Väčšina mediátorov vytvorených z EPA (ω -3) má protizápalové účinky, ale naopak eikozanoidy vytvorené z AA (ω -6) zápal podnecujú alebo majú iné účinky, ktoré poškodenie organizmu ďalej rozširujú [13].

2.3.1.1 Prostaglandíny

Od EPA sú odvodené prostaglandíny skupiny 3, konkrétne PGI₃ a PGE₃ (PG – *prostaglandine*), ktoré majú antiarytmické účinky. Prostaglandíny PGI₂ a PGE₂ odvodené od AA pôsobia na srdce arytmiicky [13].

Prostaglandín PGI₂, ktorý sa tvorí v srdci a endotele ciev, indukuje vazodilatáciu a inhibuje agregáciu trombocytov. Účinky spoločné s PGE₂ spočívajú v znížení proliferácie T-buniek a migrácie lymfocytov a tiež zníženej sekrécii interleukínov IL-1 α a IL-2 [4].

Prostaglandín PGE₂ zvyšuje vazodilatáciu, podporuje účinok bradykinínu a histamínu a podieľa sa na agregácii trombocytov. Hlavnými miestami jeho tvorby sú obličky, slezina a srdce. V týchto orgánoch sa tvorí i PGF₂ α , ktorý zvyšuje vazokonstrikciu, bronchokonstrikciu a kontrakcie hladkej svaloviny [4].

V ovplyvnení zápalového procesu má PGE₂ ďalšie pro- i protizápalové účinky. PGE₂ indukuje cyklooxygenázu COX-2, čím zvyšuje svoju vlastnú syntézu, a v makrofágoch zvyšuje tvorbu interleukínu IL-6, ktorý podporuje zápal. Na druhej strane však PGE₂ inhibuje lipoxygenázu 5-LOX, čím znižuje syntézu prozápalových leukotriénov skupiny 4 [4].

2.3.1.2 Tromboxany

Ďalšie zo skupiny eikozanoidov, tromboxany, sa syntetizujú v trombocytoch. Tromboxan TXA₂ (TX – *thromboxane*) vytvorený z AA účinkuje ako silný aktivátor agregácie trombocytov a spôsobuje vazokonstrikciu. Tieto účinky spôsobuje aj tromboxan TXB₂, spoločne s bronchokonstrikciou a proliferáciou lymfocytov [4][13].

Tromboxan TXB₃ odvodený od EPA má len niekoľko fyziologických účinkov. Tromboxany skupiny 3 inhibujú agregáciu trombocytov sprostredkovanú TXB₂ a taktiež spôsobujú vazodilatáciu [4][13].

2.3.1.3 Leukotriény

Intenzívne prozápalový leukotrién LTB₄ (LT – *leukotriene*), odvodený od ω -6 AA, zvyšuje cievnu permeabilitu, pôsobí na chemotaxiu leukocytov, vedie k tvorbe zápalových cytokínov ako TNF- α a interleukínov IL-1 a IL-6. LTB₄ ďalej indukuje uvoľnenie lyzozomálnych enzýmov a urýchľuje tvorbu reaktívnych foriem kyslíka (ROS – *reactive oxygen species*). Spolu s leukotriénmi LTC₄ a LTD₄ zvyšuje tiež cievnu permeabilitu a spôsobuje hypersenzitivitu. Biosyntézu LTB₄ blokuje LTB₅, derivát ω -3 PUFA [13].

Dôležitá je zmes troch leukotriénov LTC₄, LTD₄ a LTE₄, tzv. pomaly reagujúca substancia anafylaxie (SRS-A – *slow-reacting substance of anaphylaxis*). Leukotriény pôsobia ako silné bronchokonstriktory a ich účinok je v porovnaní s histamínom alebo prostaglandínmi až tisícnásobný [4].

Tvorba leukotriénov prebieha vždy v niekoľkých typoch leukocytov, prípadne v žírnych a epitelálnych bunkách, ako je možné vidieť v Tab. 2.

Tab. 2 Syntéza leukotriénov v jednotlivých druhoch buniek

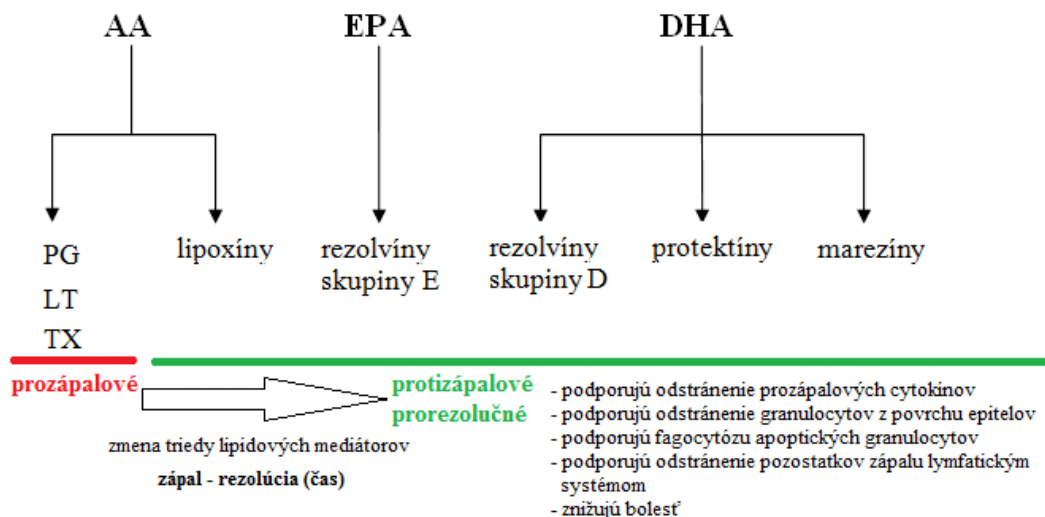
typ bunky	LTB ₄	LTC ₄	LTD ₄	LTE ₄
monocyty	+	+	+	-
alveolárne makrofágy	-	+	+	-
neutrofily	+	-	-	-
eozinofily	+	+	+	-
bazofily	+	+	-	+
žírne bunky	+	+	+	+
bunky epitelu	+	+	+	-

Zdroj: Vlastné spracovanie podľa [4]

2.3.2 Pôsobenie ďalších lipidových mediátorov v zápalovej odpovedi

„Klasické“ lipidové mediátory v zápalovom procese, teda eikozanoidy, vznikajú v prevažnej miere z AA (ω -6 PUFA). V nedávnej minulosti bol tiež objavený nový druh lokálnych lipidových mediátorov, ktoré sa súhrnne označujú ako SPM – *specialized pro-resolving*¹⁷ *mediators*. Patria medzi ne rôzne mediátory ako lipoxíny, rezolvíny, protektíny a marezíny. Tieto látky sa pri obnovení homeostázy tkanív aktívne podieľajú na odstránení zápalových exsudátov. Okrem lipoxínov, tvorených z AA, sa SPM biosyntetizujú z kyselín skupiny ω -3 – EPA a DHA [26].

Východiskové látky pre tvorbu jednotlivých skupín „klasických“ lipidových mediátorov i SPM, spolu s ich protizápalovými i prorezolučnými účinkami, znázorňuje Obr. 6. Postupom času dochádza v zápalovom procese k zmene triedy lipidových mediátorov, ktoré sa tvoria v priebehu zápalu od iniciácie až do jeho rezolúcie.



Obr. 6 Tvorba lipidových mediátorov z AA, EPA a DHA

Zdroj: Upravené podľa [41]

2.3.2.1 Lipoxíny

Lipoxíny sú hlavnou skupinou špecializovaných mediátorov, u ktorých boli po prvý krát rozpoznané protizápalové i prorezolučné účinky. Vznikajú z AA sledom reakcií katalyzovaných lipoxygenázami počas medzibunkových interakcií. Lipoxíny sú štruktúrne a funkčne odlišné od prozápalových eikozanoidov, ktoré sa tvoria najmä v počiatkoch zápalového procesu [27].

¹⁷ *Pro-resolving* = prorezolučné nie sú jednoduchým synonymom protizápalových.

Lipoxíny:

- zabraňujú chemotaxii granulocytov a ich migrácii cez endotel a epitel,
- potláčajú v eozinofiloch signalizáciu sprostredkovanú cytokínmi,
- inhibujú oxidatívne vzplanutie a degranuláciu azurofilných granúl neutrofilov,
- stimulujú nezápalové odstránenie apoptických neutrofilov prostredníctvom fagocytózy makrofágmi [27].

Lipoxín LXA₄ (LX – *lipoxin*) zdieľa viacero funkcií aj so svojimi endogénnymi 15-R-enantiómami – lipoxínmi aktivovanými aspirínom, tzv. ATL (*aspirin-triggered lipoxin*). Klinické štúdie ukázali tiež bronchoprotektívnu funkciu lipoxínov, kedy u astmatických pacientov inhalačne podaný LXA₄ účinne pôsobil proti bronchokonstrikcii navodenej leukotriénom LTC₄ [27][28][29][30][31]. Úloha lipoxínov pri rezolúcii alergickej astmy sa odvodzuje aj od účinkov na modelových organizmoch myši, u ktorých lipoxíny bránili zvýšenej rezpozivite a alergickému zápalu dýchacích ciest [29][31][32].

2.3.2.2 Rezolvíny

Obrovský priestor vo výskume prorezolučných mediátorov sa otvoril identifikovaním rezolvínov. Táto nová skupina lipidových mediátorov podporuje rezolúciu zápalu agonistickým pôsobením na špecifických receptoroch [27]. Prvýkrát boli rezolvíny izolované z prorezolučných exsudátov myši liečených aspirínom a EPA *in vivo*, ktoré boli následne inkubované s ľudskými bunkami endotelu s neutrofilmi *in vitro* [33][34].

Tieto endogénne autakoidy sú odvodené od ω -3 PUFA, konkrétne EPA a DHA. Podľa východiskovej kyseliny sa rozdeľujú na dve skupiny. Prvá skupina je označená ako RvE – rezolvíny skupiny E odvodené od EPA (Rv – resolvin). Druhá skupina sa nazýva RvD – rezolvíny skupiny D odvodené od DHA. Rezolvíny vznikajú vzájomnými interakciami lipooxygenáz a cyklooxygenázy COX-2 – izoformy konštitutívnej cyklooxygenázy COX-1, ktorá je acetylovaná aspirínom (kyselinou acetylsalicylovou) [27][34]. Medziprodukty biosyntézy rezolvínu RvE1 sa môžu tvoriť aj procesom, v ktorom sa uplatňuje cytochróm P450. Tento proces nie je na aspiríne závislý [27][33][35].

Existujú už značné dôkazy, že rezolvíny vyvolávajú široké spektrum účinkov, ktoré sa dosahujú predovšetkým spôsobom signalizácie, špecifickým pre určitý typ

bunky. Ide hlavne o protizápalové účinky na neutrofilny, prorezolučné účinky na makrofágy a v neposlednom rade o cytoprotektívne účinky na štruktúralne bunky tkanív [27].

Rezolvíny najčastejšie zastavujú pohyb a hromadenie neutrofilov, zabraňujú uvoľňovaniu prozápalových mediátorov a potláčajú expresiu zápalových génov [27]. Ako príklad silného potlačenia infiltrácie neutrofilov je možné uviesť 50% inhibíciu pri injekčnom podaní rezolvínov RvD a 75–80% inhibíciu pri podaní RvE1. Indometacín podaný v rovnakom množstve dosiahol len približne 25 % [34][36][37].

Ďalšie rôznorodé účinky, pozorované na zvieracích modeloch, sú špecifické pre určité orgány a patologické stavy, pričom rezolvíny:

- inhibujú zvýšenú rezponzivitu bronchov, sekréciu hlienu a hromadenie eozinofilov pri alergickej astme, zvyšujú uvoľňovanie interferónu IFN- γ a LXA₄,
- chránia pri diabete pečeň pred steatózou a inzulínovou rezistenciou v dôsledku obezity,
- pôsobia kardioprotektívne pri ischemicko-reperfúznom poškodení srdca, znižujú rozsah infarktu myokardu,
- inhibujú úbytok spojivových tkanív a kostí, modulujú diferenciáciu osteoklastov a resorpciu kostí pri paradentóze,
- regulujú tvorbu cytokínov, podporujú odstránenie apoptických neutrofilov fagocytózou a indukujú fenotypickú zmenu makrofágov pri peritonitíde,
- znižujú upchanie ciev a neoangiogézu pri retinopatii [27].

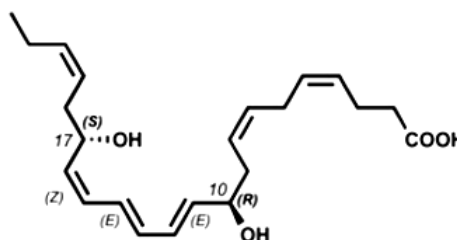
2.3.2.3 Protektíny

Protektíny sú spoločne s marezínmi doteraz najmenej popísanou skupinou lipidových mediátorov so silnými ochrannými a protizápalovými účinkami. Biosyntéza protektínu PD1 odvodeného od DHA bola viacerými štúdiami [34][37][38][39][40] zdokumentovaná v niekoľkých typoch ľudských buniek, myších exsudátoch, pokožke a mozgovom tkanive. PD1 sa syntetizuje aj v izolovaných tkanivách rýb¹⁸ [41][42].

Z hľadiska chemickej štruktúry obsahuje protektín PD1 konjugované dihydroxytriény, vid' Obr. 7. Dokozatriény vďaka dvojitém väzbám a izoformám

¹⁸ Syntéza rezolvínov a protektínov z endogénnej DHA mozgovými bunkami pstruha by mohla byť dôkazom, že tieto štruktúry sú zachované od rýb až k človeku ako chemické signály v odlišných biologických systémoch [42].

v pôsobiacom enzymatickom komplexe vykazujú pomerne zložitú stereochemiu, ktorá má veľký vplyv na rozdielnú účinnosť jednotlivých derivátov DHA (i synteticky pripravených) *in vitro*¹⁹ aj *in vivo*. Pre endogénne pôsobiacu bioaktívnu molekulu je dôležitá hlavne konfigurácia konjugovaného systému dvojitych väzieb a chiralita alkoholovej skupiny na uhlíku C10. Medzi rezolučnými mechanizmami sa tak môžu objavovať dokonca orgánovo špecifické rozdiely, napríklad v ich kinetike [41].



(10*R*,17*S*)-dihydroxy-(4*Z*,7*Z*,11*E*,13*E*,15*Z*,19*Z*)-dokoza-4,7,11,13,15,19-hexaénová kyselina

Obr. 7 Protektín PD1

Zdroj: [41]

Uvedená skúmaná bioaktívna molekula bola pôvodne nazvaná ako neuroprotektín D1 (NPD1) pre svoj pôvod v nervovom tkanive a silné protektívne účinky v sietnici a mozgu [38][43][44]. Tento mediátor má však širší rozsah pôsobenia v imunitnom, kardiovaskulárnom i renálnom systéme, preto sa vzhľadom na svoju lokálnu biosyntézu a účinky mimo nervového systému označuje aj ako PD1 [36][41]. Jeho tvorba a imunoloregulačné funkcie boli preukázané v lymfocytoch [45][46][47]. Už v nanomolárnych množstvách PD1/NPD1 plní ochrannú úlohu v obličkách [48], indukuje regeneráciu nervov v rohovke [49] a stimuluje diferenciáciu srdcových a nervových kmeňových buniek [50].

Podobne ako v skupinách ostatných lipidových mediátorov, ďalším predmetom skúmania sú aj účinky tzv. aspirínom aktivovaných (*aspirin triggered*) protektínov AT-PD1/AT-NPD1 [41].

2.3.3 Vplyv mastných kyselín na zápal a imunitu

Výskumy v uplynulých tridsiatich rokoch naznačili, že keď sú určité mastné kyseliny dodávané v dostatočnom množstve, môžu meniť funkčnú odpoveď buniek imunitného systému. Väčšina týchto výskumov sa zamerala na porovnateľné

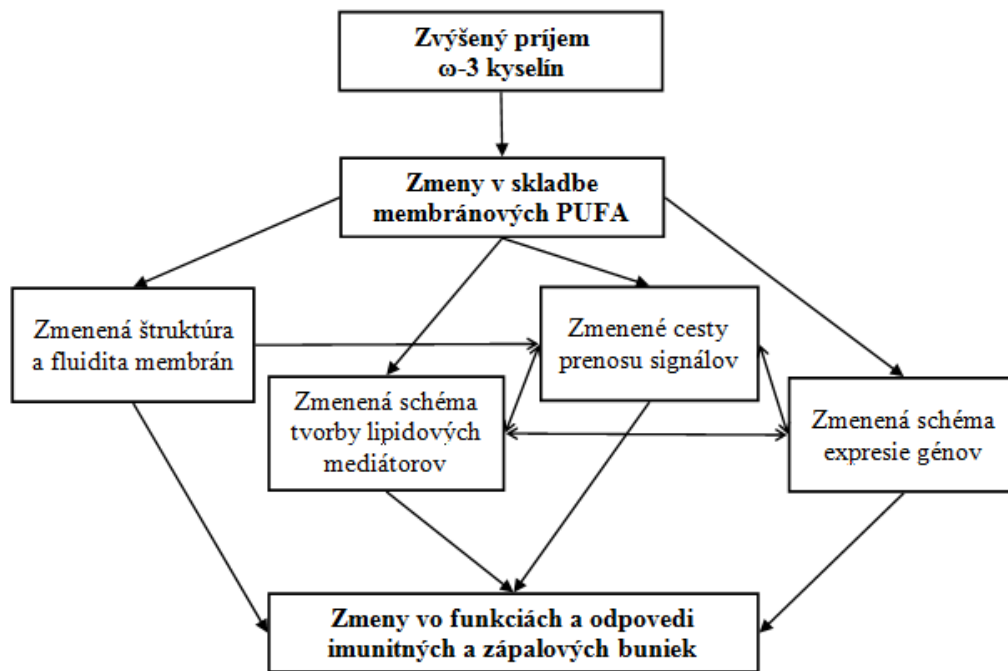
¹⁹ Napríklad synteticky pripravený PD1 o 30 % inhiboval migráciu ľudských granulocytov vyvolanú LTB₄ a T-lymfocyty, ale jeho $\Delta 15$ -*trans*-izomér migráciu granulocytov *in vitro* nezastavil [41].

a kontrastujúce účinky ω -6 a ω -3 PUFA. Typicky majú ľudské imunitné a zápalové bunky vyšší obsah ω -6 PUFA, pričom LA a AA majú približne 30% zastúpenie v skladbe prítomných mastných kyselín. LA môže podľa štúdií s bunkovými kultúrami ľudských epitelových buniek zohrávať úlohu v podporovaní zápalu prostredníctvom aktivácie nukleárneho faktora NF- κ B (NF – *nuclear factor*) [51][52] a zvýšenej tvorby TNF- α [53], IL-6 a ďalších mediátorov [25][54][55].

V monocytoch AA tiež aktivuje NF- κ B [56] a v osteoblastoch indukuje tvorbu TNF- α , IL-1 α a IL-1 β [57]. V makrofágoch a osteoblastoch AA indukuje aj tvorbu IL-6 [58][59] a je hlavným substrátom pre cyklooxygenázy a lipoxygenázy, ktoré sa podieľajú na syntéze zápalových mediátorov [58][60]. Takto môže nadmerný príjem ω -6 PUFA podporovať (alebo prinajmenšom zhoršovať) zápal a imunosupresiu, hlavne u pacientov s už existujúcim zápalovým stavom. Typickým príkladom sú pacienti trpiaci reumatickou artritídou, chronickými zápalovými ochoreniami čriev, kriticky chorí pacienti po poškodení úrazmi alebo popáleninami, pacienti po rozsiahlych chirurgických zákrokoch [25].

PUFA zo skupiny ω -3, menovite EPA a DHA, sú bohato obsiahnuté v rybom oleji i tučných rybách a ukázalo sa, že konzumácia rybieho oleja vedie k zvýšenému množstvu EPA a DHA v membránach buniek zapojených do zápalového a imunitného procesu. Čiastočne sa to deje na úkor AA a zmeny v skladbe mastných kyselín sa prejaví spôsobom závislým na dávke a dĺžke podania. Zmeny sa objavujú v intervale dní až týždňov, po 4 týždňoch je pozorovateľné takmer ich maximum [61][62].

Zmenená skladba mastných kyselín v membránach imunitných buniek sa prejaví viacerými účinkami na ich štruktúru a funkciu, vrátane zmien fluidity membrán, tvorby funkčných mikrodomén, transportu proteínov, expresie receptorov a spustenia medzibunkových signalizačných kaskád, ktoré následne vplyvajú na aktiváciu transkripčných faktorov a expresiu génov [25]. Zložitosť celého procesu a vzájomnú prepojenosť jednotlivých zložiek ilustruje Obr. 8.



Obr. 8 Dôsledky zvýšeného príjmu ω -3 kyselín

Zdroj: Upravené podľa [25]

Okrem vyššie uvedených účinkov môžu ω -3 PUFA spôsobiť zmeny v tvorbe lipidových mediátorov zápalu niekoľkými ďalšími mechanizmami, ktoré sú takisto spojené so zložením mastných kyselín vo fosfolipidoch membrán:

- znížené množstvo AA vedie k zníženej tvorbe eikozanoidov (PGE_2 a leukotriénov skupiny 4) zápalovými bunkami [63][64][65][66],
- EPA je alternatívnym substrátom pre cyklooxygenázy a lipoxygenázy, ktoré vytvárajú prostaglandíny skupiny 3, tromboxany a leukotriény skupiny 5 [64][65]; tieto mediátory sú menej účinné než zápalové mediátory odvodené od AA [58],
- EPA spolu s DHA tvoria silne protizápalové a prorezolučné rezolvíny a protektíny [25][36].

Účinky ω -3 PUFA obsiahnutých v rybom oleji na bunkami sprostredkovanú imunitu sú doteraz nejasné a niektoré tvrdenia v dostupnej literatúre si vzájomne odporujú [61][62]. Z množstva štúdií so zvieracími modelmi ale vyplýva, že podávanie ω -3 PUFA vo forme rybieho oleja²⁰ zvyšuje prežitie po tom, ako bol organizmus vystavený patogénom [25].

²⁰ Viaceré štúdie považujú pokles tvorby PGE_2 indukovaný rybím olejom za kľúčový efekt jeho podávania a naznačujú, že imunosupresívne účinky PGE_2 vytvoreného v odpovedi na infekciu môžu mať na prežitie hostiteľa neprazdný dopad [25].

2.4 Chemická analýza lipidov

Chemická analýza lipidov môže byť pomerne zložitá, pretože sa značne líšia svojou polaritou a ich štruktúra vyžaduje špecifický spôsob detekcie.²¹ V súčasnosti sa ale už ponúka širšie spektrum možností analýzy lipidov. Medzi najrozšírenejšie metódy analýzy mastných kyselín v oblasti biochémie patrí plynová chromatografia (GC – *gas chromatography*). Na detekciu v GC sa tradične používa plameňovo-ionizačný detektor (FID – *flame-ionization detector*), ktorý môže byť prípadne spojený s hmotnostným spektrometrom (MS – *mass spectrometer*) [67][68].

Pred samotným stanovením jednotlivých látok zahŕňa analytický proces vo všeobecnosti tri základné kroky:

- extrakciu zo vzorky,
- analytickú separáciu,²²
- identifikáciu a kvantifikáciu [67].

Ďalšia ťažkosť pri charakterizácii lipidov spočíva v ich nestabilite. Oxidácia PUFA je jednou zo základných reakcií v chemizme lipidov. Na vzduchu sa z nenasýtených lipidov tvoria prchavé oxidačné zlúčeniny. Mechanizmus oxidácie pokračuje prostredníctvom reaktívnych foriem kyslíka (ROS), po začatí prebieha autokatalyticky a napomáha mu aj silné svetlo. V prítomnosti niektorých farbív (chlorofyl, hemoglobín) alebo kovov (železo, olovo, meď) vzniká pri fotooxidácii singletový kyslík, ktorý atakuje dvojité väzby mastných kyselín a tvorí väzby peroxidové. V porovnaní s kyselinou olejovou je napríklad LA oxidovaná dvadsaťkrát rýchlejšie a každá ďalšia dvojité väzba zvyšuje mieru degradácie dvoj- až trojnásobne. Práve preto sú fosfolipidy s vysokým obsahom PUFA (hlavne LA, AA) veľmi náchylné na oxidáciu [67][68].

Podľa možnosti by sa lipidmi malo zaobchádzať v atmosfére dusíka. Okrem prirodzene sa vyskytujúcich antioxidantov (napríklad tokoferolov) je možné do extraktu pridať aj syntetické antioxidanty, ako je butyl-hydroxytoluén. Tento pri následnej chromatografii neinterferuje, pretože je pomerne prchavý a možno ho odstrániť spolu s rozpúšťadlami pri ich odparovaní pomocou prúdu dusíka. Antioxidanty pridané v nadmernom množstve by naopak mohli oxidáciu podporovať [68].

²¹ Lipidy napríklad neobsahujú dostatok chromoforov, ktoré by uľahčili spektrofotometrickú detekciu.

²² Používajú sa chromatografické alebo elektroforetické metódy, ale pri použití nových prístupov s MS detekciou nie je niekedy separácia nutná.

Obvykle sa lipidy nevyskytujú vo svojej voľnej forme, ale sú obsiahnuté v biologickej matrici, preto je pred následnou analýzou nevyhnutná extrakcia. Vo všeobecnosti extrakcia spočíva v troch krokoch:

- separácia lipidov z matrice,
- odstránenie všetkých nelipidových zlúčenín z extraktu,
- frakcionácia a izolácia lipidových tried z extraktu [67].

Zloženie lipidového extraktu závisí od metódy extrakcie, predovšetkým od použitého rozpúšťadla. Nepolárne rozpúšťadlá (hexán, petroléter, superkritický oxid uhličitý) je možné použiť na extrakciu jednoduchých nepolárnych lipidov, napríklad esterov mastných kyselín a acylglycerolov. Zložené a polárnejšie lipidy (fosfolipidy, lipoproteíny, glykolipidy a voľné mastné kyseliny) vyžadujú polárnejšie rozpúšťadlá, ako napríklad metanol alebo acetonitril. Pri extrakcii lipidov z potravín a rôznych biologických tkanív je potrebná predošlá hydrolýza materiálu (hlavne u lipidov spojených s proteínmi matrice), obzvlášť ak sa požaduje kvantitatívna izolácia [67].

V tkanivách sa lipidy vyskytujú v rôznych formách. Jednoduché lipidy sú často súčasťou veľkých celkov v zásobných tkanivách, odkiaľ sa extrahujú pomerne bez ťažkostí. Zložené lipidy obyčajne tvoria membrány, kde interagujú hlavne s proteínmi a polysacharidmi, preto ich nemožno extrahovať tak ľahko. Na extrakciu z tkanív je preto potrebné použiť rozpúšťadlá, ktoré nielen ľahko rozpustia lipidy, ale aj prekonajú interakcie vznikajúce s tkanivovou maticou [68].

Pravdepodobne doteraz najčastejšie používanými rozpúšťadlami sú chloroform a metanol v dvojkrokovej extrakcii. Po roku 1950 tento postup rozvinul Folch a použil zmes chloroformu a metanolu v objemovom pomere 2 : 1 spolu s veľkým objemom vodného soľného roztoku na vymytie nelipidových zložiek. Medzi hlavné nevýhody postupu patrila tvorba emulzií. Časom sa metóda viacerými spôsobmi modifikovala so zámerom extrahovať požadované lipidy čo najúčinnjšie [67][69][70][71].

Folchova metóda sa používa na extrakciu lipidov zo živočíšnych tkanív, rastlinných pletív i baktérií. Obvykle sa materiál zhomogenizuje v prítomnosti oboch rozpúšťadiel, ale ak sa pred pridaním chloroformu do zmesi najprv vykoná extrakcia iba s metanolom, môžu sa dosiahnuť lepšie výsledky. Vo všeobecnosti nie je potrebné na uľahčenie extrakcie rozpúšťadlo zahrievať, ale niektoré zložitejšie vzorky môžu vyžadovať viac ako jednu extrakciu [68].

Limitujúcim faktorom GC je teplotná stabilita a prchavosť analytov, preto je potrebná ich derivatizácia. Derivatizácia zložených biomolekúl môže byť obtiažna a často pozostáva z viacerých reakčných krokov. Príprava vzorky môže zahŕňať predseparáciu lipidových tried, hydrolýzu, derivatizáciu alebo pyrolýzu [68][69].

2.4.1 Derivatizácia mastných kyselín

V mnohých odvetviach biologických vied je GC rutinne využívaná na analýzu mastných kyselín s dlhým reťazcom ($C > 12$). Separáciu týchto karboxylovaných zlúčenín pomocou GC ale komplikuje ich relatívne vysoká polarita, preto musia byť prevedené na nepolárne deriváty mastných kyselín, ktoré sú zároveň menej prchavé ako voľné mastné kyseliny. Takmer univerzálne sa z tohto dôvodu pri analýze mastných kyselín pripravujú metylestery mastných kyselín (FAME – *fatty acid methyl ester*). Reakcie môžu byť katalyzované kyslo alebo bázicky [72][73].

V prítomnosti kyslého katalyzátora sú voľné mastné kyseliny esterifikované a *O*-acetylované lipidy transesterifikované zahrievaním v nadbytku bezvodého metanolu. Najmiernejším a zrejme najčastejším činidlom je 5% HCl v bezvodom metanole. Toto činidlo sa pripravuje prebublávaním plynného HCl do bezvodého metanolu. Jednoduchší spôsob prípravy činidla spočíva v pomalom pridávaní acetylchloridu do chladeného bezvodého metanolu. Zvyčajne sa vzorka lipidov a činidlo zahrievajú pod spätným chladičom približne 2 hodiny, ale môžu sa zahrievať aj kratší čas v uzavretých skúmavkách pri vyššej teplote [68].

Lipidy možno rovnakým spôsobom i porovnateľnou rýchlosťou transesterifikovať tiež 1–2% roztokom koncentrovanej H_2SO_4 v metanole. Príprava činidla je veľmi jednoduchá, preto sa pri esterifikácii voľných mastných kyselín preferuje, ale používa sa pri teplote nižšej ako teplota refluxu (spätného toku). Pri neopatrnom zaobchádzaní s činidlom môže dôjsť k čiastočnému rozkladu PUFA [68].

V prípade kyslo katalyzovanej prípravy sa FAME často získavajú aj zahrievaním voľných mastných kyselín s nadbytkom bezvodého metanolu v prítomnosti BF_3 ako katalyzátora. Napriek svojej popularite má zmes metanolu a BF_3 niektoré nevýhody, predovšetkým obmedzenú dobu skladovania i pri uchovávaní v chlade. Použitím starých alebo príliš koncentrovaných roztokov môže dôjsť k tvorbe artefaktov alebo strate značného množstva PUFA [68]. Roztok s 12–14% koncentráciou tvorí metylestery z voľných mastných kyselín veľmi rýchlo a je schopný transesterifikovať všetky lipidy,

z ktorých sa biologické vzorky typicky skladajú [74]. Podľa Christieho [68] je z hľadiska veľkého potrebného množstva roztoku v porovnaní s inými katalyzátormi a viaceré známe postranné reakcie toto činidlo preceňované a jeho používaniu by sa malo vyhýbať.

Bázické katalyzátory v bezvodom metanole transesterifikujú neutrálne lipidy v porovnaní s kyslými katalyzátormi rýchlejšie. Nemajú však schopnosť esterifikovať voľné mastné kyseliny. Pri použití bázického katalyzátora tvoria estery lipidov záporne nabitý medziprodukt, ktorý sa v prítomnosti nadbytku alkoholu premieňa na nový ester. Voľné mastné kyseliny ale nie sú citlivé na nukleofilný atak alkoholov alebo báz, preto v týchto podmienkach esterifikované nie sú [73][75].

Vyššiu rýchlosť reakcií ako pri kyslej katalýze ilustruje napríklad transesterifikácia triacylglyceridov a fosfoglyceridov, ktorá prebehne za niekoľko minút už pri laboratórnej teplote [68][74]. Znižuje sa tým riziko degradácie PUFA a pri tejto teplote sa nemusí použiť butyl-hydroxytoluén, čo niekedy spôsobovalo problém pri GC analýze. V niektorých prípadoch nebolo možné separovať metyl-myristát alebo metyl-palmitoleát od butyl-hydroxytoluénu a jeho derivátov [74].

Bázické katalyzačné činidlá sú stabilné pri laboratórnej teplote až niekoľko mesiacov, najmä ak sa pri ich príprave použil metanol bez kyslíka (*oxygen-free methanol*) [68]. Najviac používanými bázickými katalyzátormi sú KOH, NaOH a CH₃ONa v bezvodom metanole. Prítomnosť vody vedie k ireverzibilnej hydrolýze lipidov, preto bázické katalytické reakcie musia prebiehať v striktne bezvodých podmienkach, čo v prípade biologických vzoriek môže byť náročné zabezpečiť [73].

Alternatívne je možné použiť kombinovanú katalýzu v dvoch krokoch (pomocou KOH a BF₃, obe látky v bezvodom metanole). Bázická katalýza je síce rýchlejšia ako kyslá, ale z voľných mastných vytvorí karboxylové soli, ktoré nie je možné stanoviť pomocou GC. Problém sa dá vyriešiť druhou kyslou katalýzou, ale predlžuje to čas prípravy vzoriek [73].

2.4.2 Stanovenie mastných kyselín metódou plynovej chromatografie

Princípom separácie a stanovenia látok pomocou GC je rozdeľovanie zložiek medzi dve fázy – stacionárnu (nepohyblivú) a mobilnú (pohyblivú). Mobilnú fázu predstavuje nosný plyn prechádzajúci kolónou so stacionárnou fázou. Do vyhrievanej komory sa injektorom (dávkočom) vnesie analyzovaná vzorka, ktorá sa odparí.

Vzorka vo forme pár je nosným plynom ďalej unášaná do kolóny. Dochádza k interakcii vzorky so stacionárnou fázou, kde sú jednotlivé zložky rôzne pevne zadržované podľa ich rozdielnej afinity k stacionárnej fáze. Na konci kolóny potom zložky vystupujú podľa stupňa zadržania v rôznych retenčných časoch a vstupujú do detektora. Pri vyhodnotení signálu z detektora sa z časového priebehu intezity signálu určí druh a kvantitatívne zastúpenie zložiek [68][76].

Plynový chromatograf má teda tri základné zložky:

- nastrekovací systém,
- kolónu,
- detektor.

Technika nastrekovania vzorky musí zaistiť odparenie vzorky v čo najkratšom čase [76]. Nastrekovacie systémy je možné v zásade rozdeliť do dvoch hlavných skupín na odparovacie injektory a *on-column* injektory. Existuje ale niekoľko spôsobov dávkovania vzoriek pre GC:

- nastrekovanie konvenčným odparovacím injektorom [77][78],
- priame nastrekovanie na kolónu – *on column* technika,
- nastrekovanie pomocou tzv. PTV injektora (*programmed-temperature vaporizer*), pracujúceho v rôznych režimoch delenia vzorky [77].

V prípade odparovacích injektorov môže byť medzi injektor a kolónu zaradený *splitter* (delič toku), ktorý umožňuje viesť na kolónu len časť odparenej vzorky a zvyšok sa odvádza do odpadu. Technika *splitless* (bez deliča toku) sa používa na analýzu zriedených vzoriek a relatívne veľkých objemov, ktoré je nutné použiť pre stopovú analýzu [76].

Na dávkovanie FAME sa najčastejšie používa nastrekovanie technikou *split* (s deličom toku) vzhľadom na relatívne vysoké koncentrácie FAME a tým vznikajúce riziko možnej degradácie kolóny. Splitovací pomer (*split ratio*) typicky používaný pri analýze FAME sa pohybuje medzi 1 : 10 až 1 : 200 [74].

Hlavnou nevýhodou techniky *split* je diskriminácia medzi nízko- a vysokovriacimi zložkami vzorky, kedy nastreknutá vzorka nie je identická so vzorkou skutočne nanosenou na kolónu, a to v dôsledku rozdielnej prchavosti zložiek vzorky („skreslenie vzorky“). Široké rozmedzie teplôt varu je spôsobené počtom atómov uhlíka jednotlivých zložiek. V prípade prirodzene sa vyskytujúcich mastných kyselín

predstavuje tento počet 4–24 atómov uhlíka. Diskriminácii zložiek je možné predchádzať použitím automatického vysokorýchlostného nastrekovania, malého objemu a nízkej koncentrácie vzoriek, vysokej teploty injektora²³ a jeho vhodného tvaru [74]. Upraviť diskrimináciu pomáha aj použitie troch vnútorných štandardov, ktoré pokrývajú široké rozmedzie bodov varu, napríklad C11:0, C17:0 a C21:0 [79].

Prekonať problémy spojené s klasickým *split* nástrekom môže byť nastrekovanie studenej vzorky, a to spôsobom *on-column*, alebo použitie PTV injektora.

Pri *on-column* technike sa vzorka priamo²⁴ naniesie do studenej časti kolóny a nevyžaduje sa predchádzajúce odparenie vo vyhrievanej komore injektora ako pri *split/splitless* nástreku. Keďže nedochádza k deleniu toku a ani k odparovaniu v striekačke, zabráni sa diskriminácii vzorky. Takto môžu byť s vysokou presnosťou stanovené aj vzorky so širokým rozmedzím prchavosti jednotlivých zložiek. Čo sa týka optimalizovania kvantifikácie, je *on-column* technika najspoľahlivejšou metódou naniesenia vzorky na kapilárnu kolónu. Platí to aj v prípade analýzy FAME so širokým rozpätím dĺžky reťazcov [74].

Moderné chromatografické systémy ponúkajú tiež *on-column* dávkovanie s programovateľnou teplotou. To zabráni hromadeniu vysoko prchavých zložiek, ktoré bolo problémom v starších *on-column* injektoroch. Hlavnou nevýhodou tejto techniky je možné zničenie určitých kolón niektorými rozpúšťadlami [74].

Špeciálny typom injektora je PTV injektor. Vzorka sa privádza do studenej odparovacej komory naplnenej deaktivovaným sklom alebo kremičitou vatou, aby došlo k rovnomernému zmiešaniu vzorky a nosného plynu. Po odstránení striekačky a odparení rozpúšťadla sa komora veľmi rýchlo zahreje na 250–300 °C na odparenie vysokovriacich zložiek. Ako v prípade *on-column* metódy, ani tu sa nevyskytuje odparovanie vzorky vo vnútri striekačky. PTV injektory ale poskytujú aj ďalšie výhody, napríklad možnosť používania vo viacerých režimoch:

- *split* nástrek za studena,
- *splitless* nástrek za studena,
- v režime s odstránením rozpúšťadla – pri dávkovaní veľkých objemov, tzv. LVI nastrekovaní (*large volumes injection*) [74][79].

²³ S teplotou až 375°C oproti bežne používaným 250–300 °C [74][78].

²⁴ Tzn. bez predhriatia a zmiešania s nosným plynom.

Pri PTV technike nie sú potrebné špeciálne striekačky a vnútornú sklenenú náplň je možné vyčistiť a odstrániť z nej neprchavé zvyšky. Nevýhodou techniky je, že kremičitá vata je povrch, na ktorom metylestery PUFA môžu degradovať, hlavne pri vysokej teplote injektora [74].

Pri *split* nastrekovaní vzoriek s vysokou koncentráciou FAME za studena odpadá riziko preťaženia kapacity kapilárnej kolóny. Oproti klasickému *split* nástreku so zahriatím nevzniká ani nelineárne delenie (*splitting*) spôsobené tlakovými vlnami, pretože odparenie rozpúšťadla nastane pred odparovaním analyzovaných zložiek. Ukázalo sa, že analýzy FAME s viac ako 10 atómami uhlíka takto dosahujú výsledky s veľmi vysokou správnosťou a presnosťou [74][79].

Splitless nastrekovanie je vo všeobecnosti vhodné a užitočné pri analýze veľmi zriedených roztokov. Na ich analýzu bola vyvinutá metóda s odstránením rozpúšťadla, kedy sa nastrekujú vzorky s veľkým objemom (až do 250 μ l). V biologickom výskume je PTV *splitless* technika vstrekovania objektom záujmu, pretože vzorky sú zvyčajne malé, a tým aj koncentrácie analyzovaných FAME sú veľmi nízke [74].

Chromatografické kolóny sa podľa konštrukcie rozdeľujú na náplňové a kapilárne. Výhodou náplňových kolón je ich veľmi veľká kapacita, ale nevýhodou je pomerne nízka rozlišovacia schopnosť. Používajú sa napríklad na analýzu jednoduchých zmesí FAME, ako sú rastlinné oleje, ktoré neobsahujú žiadnu masťnú kyselinu s viac ako 18 atómami uhlíka. V súčasnosti sú už ale náplňové kolóny prakticky obsolentné [74].

Najväčšou výhodou kapilárnych kolón je ich veľmi vysoká rozlišovacia schopnosť. Najviac používané moderné kolóny pre analýzu FAME sú dlhé 25–50 m. Nevýhodou kapilárnych kolón je riziko ich ľahkého preťaženia, čo znižuje schopnosť rozlíšenia a kvantifikácie. Vyžadujú tiež obozretnejšie zaobchádzanie a citlivejšie detektory s vyššou odozvou. Rozlišovaciu schopnosť kolóny určujú viaceré parametre, ako dĺžka kolóny a jej vnútorný priemer, polarita stacionárnej fázy a hrúbka vnútornej vrstvy/filmu kvapaliny [74].

V praxi sa používajú tri typy kapilárnych kolón:

- SCOT (*support-coated open tubular*) kolóny – na vnútornej stene kapiláry je zachytená vrstvička nosiča, na ktorom je zakotvená kvapalina. Tieto kolóny rýchlo zaznamenali oblubu, zvyčajne sú dlhé 10–18 m, s vnútorným priemerom 0,5–1,25 mm.

-
- WCOT (*wall-coated open tubular*) kolóny – tenký film kvapalnej fázy je zakotvený na vnútornej stene kapiláry. Obvyklá dĺžka kolóny je 25–50 m, vnútorný priemer 0,1–0,3 mm. Kolóny poskytujú vynikajúce rozlíšenie, ale limitujúcimi sú veľkosť vzorky a spôsob jej dávkovania. Najvhodnejším materiálom na výrobu WCOT kolón je vysoko inertné kremenné sklo [68].
 - PLOT (*porous-layer open tubular*) kolóny – na vnútornej stene kapiláry je chemicky zachytená vrstvička pevného sorbentu (Al_2O_3) [80].

Polarita stacionárnej fázy ovplyvňuje retenčné časy FAME, hlavne nenasýtených. Separácia FAME môže prebiehať na kapilárnych kolónach s nepolárnymi, stredne polárnymi i vysoko polárnymi stacionárnymi fázami. Vo všeobecnosti platí, že najvyššiu rozlišovaciu schopnosť pri analýze nenasýtených FAME majú kolóny s vysoko polárnymi stacionárnymi fázami a sú vhodné pri zložitej zmesi FAME, akými sú napríklad vzorky z biologických membrán. V porovnaní s nepolárnymi stacionárnymi fázami ale majú nižšiu teplotnú stabilitu a kratšiu živosť. Najdôležitejšie vysoko polárne stacionárne fázy sú vyrobené z polymérnych materiálov. Používajú sa kyano(etyl)polysiloxan, bis-kyano(propyl)polysiloxan alebo zmes bis-kyano(propyl)polysiloxanu a kyano(propyl)fenylpolysiloxanu [73][74].

Stredne polárne stacionárne fázy vo väčšine prípadov tiež dovoľujú prijateľnú separáciu FAME v biologických materiáloch ako plazma [81], tukové tkanivo [82], membrány erytrocytov [74], olej z morských rýb [83]. Elučné poradie FAME s 18–22 atómami uhlíka sa od poradia na vysoko polárnych fázach mierne líši. Medzi najdôležitejšie stredne polárne fázy sa zaraďujú polyetylén glykol (prípadne okyslený polyetylén glykol) alebo zmesi dimethylpolysiloxanu a kyano(propyl)fenylpolysiloxanu v rôznych pomeroch. Tieto kolóny výhodne spájajú relatívne vysokú schopnosť rozlíšenia s pomerne dobrou teplotnou stabilitou [73][74].

Teplotne najstabilnejšie sú nepolárne stacionárne fázy, avšak majú nízku rozlišovaciu schopnosť. Nepolárne stacionárne fázy sú vo väčšine prípadov založené na metylsilikónoch – 100% dimethylpolysiloxane, prípadne na dimethylpolysiloxane s 5% prídavkom fenylpolysiloxanu.

Na nepolárnych stacionárnych fázach eluujú FAME v závislosti na teplote bodu varu, preto nenasýtené FAME eluujú pred nasýtenými, teda v obrátenom poradí v porovnaní s polárnymi stacionárnymi fázami. Hlavnou nevýhodou nepolárnych kolón je, že dochádza k čiastočnému prekryvaniu niektorých nenasýtených FAME,

metylestery LA a ALA sa dokonca celkom prekrývajú [68]. PUFA majú v biologických vzorkách dôležitú úlohu, preto sa pri ich analýze odporúča z uvedených dôvodov použiť polárnejšie stacionárne fázy [74].

Výber typu kolóny by mal vždy závisieť od povahy analyzovanej vzorky a určenie konkrétnych podmienok separácie je kompromisom, aby sa dosiahlo adekvátne rozlíšenie v prijateľnom čase.

Najvhodnejším a najrozšírenejším detektorom v GC je plameňovo-ionizačný detektor (FID), ktorý je veľmi citlivý. FID poskytuje odozvu pre takmer všetky organické látky, a to s dobrou linearitou v širokom rozmedzí koncentrácií. Pre uhľovodíky je odozva úmerná počtu atómov uhlíka v molekule. Väčšina anorganických plynov a niektoré organické látky (napríklad formaldehyd) odozvu neposkytujú [76][84].

Princíp FID spočíva v meraní zmeny elektrickej vodivosti vodíkového plameňa, spôsobenej prítomnosťou eluovanej organickej látky. Detektor sa skladá z malého horáka, ktorý má v spodnej časti umiestnený prívod nosného plynu vystupujúceho z kolóny, prídavného inertného plynu a vodíka. Pred vstupom do trysky horáka sa tieto plyny zmiešajú. Do spodnej časti detektora sa ako oxidačný plyn privádza syntetický vzduch [76][84].

Pri spaľovaní organických látok, ktoré vystupujú z kolóny, dochádza v kyslíkovo-vodíkovom plameni k ich ionizácii. Ióny a voľné elektróny v nosnom plyne vytvárajú merateľný tok prúdu v priestore medzi dvoma elektródami (cylindrickým kolektorom umiestneným nad plameňom a špičkou horáka), na ktoré je vložené jednosmerné napätie [68][84].

Elektrická vodivosť plameňa je minimálna a ak do neho prichádza iba nosný plyn, vzniká len nepatrné množstvo iónov. Vodivosť plameňa sa zvýši, ak do detektoru vstúpi spolu s nosným plynom aj látka spáliteľná vo vodíkovom plameni. Vznikajúce iónové častice a elektróny takto zvýšia ionizačný prúd a výsledný tok prúdu má väčšiu intenzitu než prúd vzniknutý pri prietoku samotného nosného prúdu s vodíkom. Odozva detektora je priamo úmerná koncentrácii stanovovanej látky v nosnom plyne, závisí však na jej štruktúre [76][84].

3 Experimentálna časť

3.1 Prístrojové vybavenie a pomôcky

- laboratórne váhy LE 623S-OCE (Sartorius, Nemecko)
- homogenizátor T18 Basic ULTRA-TURRAX (IKA, Nemecko)
- vortex Lab Dancer Vario Yellow Line (IKA, Nemecko)
- trepačka Roller 6 Digital (IKA, Nemecko)
- termoblok QBT2 Digital (Grant, Veľká Británia)
- rotátor SB3 (Stuart, Veľká Británia)
- horúcovzdušný sterilizátor Stericell 55 (Brněnská medicínská technika, ČR)
- centrifúga 5810R (Eppendorf, Nemecko)
- chromatograf GC 8000 series (Fisons Instruments, USA)
- kapilárna kolóna SP 2330 (30 m × 0,25 mm × 0,2 µm film thickness) (Supelco, USA)
- pipety Biohit Proline (Sartorius, Nemecko)
- mikropipety Finnpiquette F1-Clip Tip (Thermo Fisher Scientific, USA)
- laboratórne sklo a plast
- skalpel, chirurgické nožnice
- krimpovacie kliešte

3.2 Chemikálie

- metanol (Merck, Nemecko)
- metyl-*terc*-butyléter (Sigma-Aldrich, Nemecko)
- toluén (Merck, Nemecko)
- acetylchlorid (Merck, Nemecko)
- kyselina heptadekánová (Sigma-Aldrich, Nemecko)
- uhličitan draselný (Merck, Nemecko)
- kvapalný dusík (SIAD, ČR)
- hélium (SIAD, ČR)
- fyziologický roztok – NaCl 0,9% (Braun, Nemecko)
- destilovaná voda (Nemocniční lékárna Fakultní nemocnice Hradec Králové, ČR)

3.3 Pracovný postup

V spolupráci s *Ústavem soudního lékařství Lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Hradci Králové* sme v období od 8.3.2016 do 9.1.2017 nazbierali k stanoveniu mastných kyselín biologický materiál od 26 zomrelých. U každého zomrelého boli odobrané vzorky s rozmermi približne 3×3 cm z nasledujúcich tkanív:

- srdcová svalovina,
- kostrový sval,
- pečeň,
- ľadviny,

a plná krv (zrážanlivá) v objeme asi 3 ml. Celkom bolo odobraných 130 vzoriek (5 ks od každého zomrelého).

Zomrelí boli rozdelení do dvoch skupín, pričom kritériom rozdelenia bola príčina smrti. V skupine A sa jednalo o náhle úmrtia z dôvodu vonkajších príčin, akými sú napríklad dopravné nehody a rôzne náhodné príčiny – pády, poranenia, vystavenie neživotným mechanickým silám (16 kadáverov). Do skupiny M boli zaradení dlhodobó nemocní, polymorbidní pacienti, u ktorých sa v dobe úmrtia predpokladá aktuálne prebiehajúci zápalový proces (10 kadáverov). Charakteristika kadáverov je uvedená v Tab. 3 a Tab. 4, viď 4.1.

Odobraný biologický materiál sme v čo najkratšom čase po odbere zamrazili a do doby analýzy uchovávali v mraziacom boxe pri teplote -70°C .

3.3.1 Príprava vzoriek

Po samovoľnom rozmrazení materiálu pri laboratórnej teplote sme z tkanív navázili vzorky s hmotnosťou 1–1,1 g. Tkanivá sme pomocou skalpelu a nožníc rozdelili na menšie časti, ku ktorým sme do plastových sputoviek pridali 2 ml fyziologického roztoku. Následne sme tkanivá homogénizátorom mechanicky úplne rozrušili a 200 μl homogénizátu sme napipetovali do 10ml sklenených vialiek.

V prípade krvi sme do sputoviek napipetovali 1 ml krvi a ďalej sme postupovali zhodným spôsobom ako pri zhomogenizovaných tkanivách: pridali sme 2 ml fyziologického roztoku, dôkladne premiešali a do 10ml sklenených vialiek sme napipetovali vzorky s objemom 200 μl .

3.3.2 Extrakcia lipidov

Postup extrakcie vychádzal z metódy, ktorú predstavil Matyash [71] ako alternatívu k tradične známej metóde podľa Folcha. Do všetkých vialiek sme pridali 1,5 ml metanolu a 5 ml metyl-*terc*-butyléru (MTBE). Vialky sme uzavreli viečkami s teflónovou vrstvou a dôkladne premiešali pomocou vortexu. Po 1hod inkubácii pri laboratórnej teplote na horizontálnej trepačke sme indukovali separáciu fáz pridaním 1,25 ml destilovanej vody. Po ďalšej 10min inkubácii pri laboratórnej teplote sme vzorky centrifugovali 10 min pri 1 000 ot/min. Sklenenou Pasteurovou pipetou sme vrchnú organickú vrstvu odpipetovali do acylačných skúmaviek.

Spodnú vrstvu vo vialkách sme reextrahovali pridaním 2 ml roztoku MTBE : metanol : voda v objemovom pomere 10 : 3 : 2,5 a opätovne centrifugovali 10 min pri 1 000 ot/min. Vrchnú organickú vrstvu sme znova odpipetovali, skúmavky sme umiestnili do vyhrievaného termobloku s teplotou 60 °C a organickú fázu sme vysušili prúdom kvapalného dusíka.

3.3.3 Derivatizácia mastných kyselín

Do skúmaviek s extraktom lipidov sme napipetovali 50 µl IS kyseliny heptadekánovej, 3 ml metanolu a 1 ml zmesi toluén : acetylchlorid v objemovom pomere 4 : 1. Skúmavky sme dôkladne uzavreli viečkami s gumovým tesnením a použitím rotátora sme obsah 15 min premiešavali. Následne sme skúmavky 1 hod inkubovali v termostate pri teplote 100 °C. Počas inkubácie v termostate by mohlo dôjsť k úniku organickej fázy, preto sme stav vzoriek priebežne kontrolovali, aby nedošlo k ich odpareniu a prípadne povolené viečka sme dotiahli.

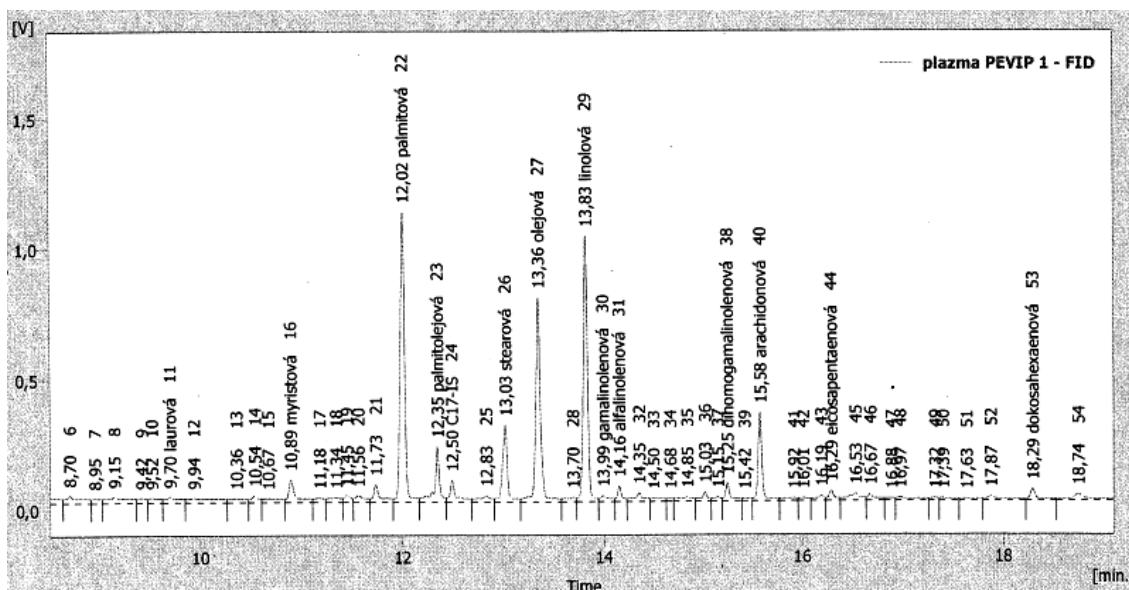
Po vychladnutí sme do skúmaviek pridali 6 ml 12% roztoku K₂CO₃ a obsah sme znova 15 min premiešavali na rotátore. Vzorky sme potom 5 min centrifugovali v chladenej centrifúge pri teplote 4 °C a 3000 ot/min. Oddelenú číru vrchnú vrstvu sme odpipetovali do vialiek, ktoré sme pomocou krimpovacích klieští uzavreli hliníkovými viečkami. Do doby analýzy plynovým chromatografom sme takto spracované vzorky uchovávali v mraziacom boxe pri teplote -18 °C.

3.4 Chromatografická analýza

Pripravené vzorky sme analyzovali plynovým chromatografom GC 8000 series s FID detektorom. Bola použitá kapilárna kolóna SPTM 2330²⁵ pri nasledovných chromatografických podmienkach:

- teplota injektora 280 °C,
- teplota kolónového termostatu počiatočná teplota 110 °C po dobu 2 min,
- teplotný gradient 14 °C/1 min do výslednej teploty 250 °C,
- teplota detektora 330 °C,
- tlak nosného plynu (hélium) 300 kPa,
- objem nástreku 2 µl.

Na Obr. 9 je zaznamenaný chromatogram analýzy mastných kyselín v plazme, ktorý *Výzkumná laboratoř III. interní gerontometabolické kliniky* vo Fakultnej nemocnici Hradec Králové používa ako záznam štandardu.



Obr. 9 Záznam štandardu mastných kyselín

Zdroj: *Výzkumná laboratoř III. interní gerontometabolické kliniky*

Celkovo je na zázname identifikovaných 13 mastných kyselín v tomto poradí:

- kyselina laurová (C12:0),
- kyselina myristová (C14:0),

²⁵ 30 m × 0,25 mm × 0,2 µm film thickness;
bis-kyano(propyl)polysiloxan (90 %)-kyano(propyl)fenylpolysiloxan (10 %)

-
- kyselina palmitová (PA),
 - kyselina palmitolejová (POA),
 - kyselina steárová (SA),
 - kyselina olejová (OA),
 - kyselina linolová (LA),
 - kyselina γ -linolénová (GLA),
 - kyselina α -linolénová (ALA),
 - kyselina dihomogamma-linolénová (DGLA),
 - kyselina arachidónová (AA),
 - kyselina eikozapentaénová (EPA),
 - kyselina dokozaheptaénová (DHA).

Mastné kyseliny obsiahnuté vo vzorkách sme identifikovali porovnaním uvedeného štandardného záznamu s nami získanými chromatografickými záznamami a zodpovedajúce štandardné retenčné časy sme priradili k zaznamenaným píkum. Pomocou softwaru Clarity (DataApex, ČR) sme pre identifikované mastné kyseliny integrovaním vypočítali príslušné plochy pod píkmi (AUC – *area under curve*) a metódou normalizácie²⁶ sme určili percentuálne zastúpenie mastných kyselín vo vzorkách.

3.5 Vyhodnotenie a štatistické spracovanie dát

Okrem percentuálneho zastúpenia jednotlivých mastných kyselín vo vzorkách sme vypočítali ďalšie parametre:

- sumu nasýtených mastných kyselín = tSFA [%] (*total of saturated fatty acids*),
- sumu mononenasýtených mastných kyselín = tMUFA [%]
(*total of monounsaturated fatty acids*),
- sumu ω -6 PUFA = ω -6 [%],
- sumu ω -3 PUFA = ω -3 [%],
- pomer kyseliny olejovej a kyseliny steárovej = Δ -9,
- pomer kyseliny arachidónovej a kyseliny eikozapentaénovej = AA/EPA,
- pomer kyseliny arachidónovej a kyseliny dihomogamma-linolénovej = Δ -5.

²⁶ Metóda normalizácie: obsah analyzovanej látky sa vyjadří ako percentuálny obsah z celkovej plochy všetkých kvantitatívne hodnotených píkum.

Pre štatistické spracovanie získaných dát sme využili softwarové prostriedky *MatLab* (MathWorks, USA) a *GraphPad Prism* (GraphPad Software, USA). Normalita rozdelenia dát bola posúdená D'Agostino-Pearson *omnibus* K2 testom.

Pre porovnanie súborov dát s normálnym rozdelením sme použili dvojvýberový Studentov *t*-test zhody dvoch stredných hodnôt. Predpoklad rovnosti rozptylov sme overili pomocou Fisherovho testu. Ak predpoklad rovnosti rozptylov nebol splnený, pre porovnanie súborov sme použili Welchov test. V prípade nerovnomerného rozdelenia dát bol pre porovnanie súborov použitý Mann-Whitney test. Pre testovanie štatistických hypotéz sme zvolili hladinu významnosti $p = 0,05$.

Vzhľadom k veľkému rozsahu spracovávaných údajov je k diplomovej práci priložená samostatná tabuľková príloha označená ako Príloha B. V nej sú namerané hodnoty prezentované v tabuľkách podľa jednotlivých tkanív (krv, pečeň, srdce, sval, ľadviny) pre obe skupiny kadáverov (A, M).

Pre všetky identifikované mastné kyseliny v každom tkanive v oboch skupinách sú zaznamenané hodnoty AUC. Z týchto hodnôt sme vypočítali percentuálne zastúpenie mastných kyselín a uviedli ich deskriptívnu štatistiku (počet hodnôt, minimálnu a maximálnu hodnotu, aritmetický priemer, smerodajnú odchýlku, medián, dolný a horný kvartil) a určili normalitu rozdelenia dát. Ďalej sú analogickým spôsobom uvedené v tabuľkách aj ostatné porovnávané parametre, tzn. tSFA [%], tMUFA [%], ω -6 [%], ω -3 [%], Δ -9, AA/EPA a Δ -5. Pri štatistickom vyhodnotení sme nepracovali s vylúčenými odľahlými hodnotami, ktoré sú v tabuľkách graficky zvýraznené.

Následne sme tieto výsledky transformovali do tabuliek podľa jednotlivých mastných kyselín a ostatných porovnávaných parametrov, aby bolo možné porovnať zastúpenie mastných kyselín a hodnoty parametrov v tkanivách a skupinách medzi sebou. Pre identifikované mastné kyseliny sme zhotovili príslušné stĺpcové a krabicové grafy. Z kapacitných dôvodov sme v 4.2 uviedli tieto údaje iba pre identifikované ω -3 a ω -6 PUFA²⁷ a vzájomný pomer AA/EPA. Tabuľky a grafy ostatných mastných kyselín a porovnávaných parametrov²⁸ sú obsahom Prílohy A zaradenej na konci práce.

²⁷ LA, GLA, ALA, DGLA, AA, EPA, DHA

²⁸ kyselina laurová, kyselina myristová, kyselina palmitová, kyselina palmitolejová, kyselina steárová, kyselina olejová, Δ -9, Δ -5

4 Výsledky

4.1 Charakteristika výskumného súboru

Základné údaje o jednotlivých kadáveroch uvádzajú Tab. 3 a Tab. 4.

Tab. 3 Charakteristika skupiny A

Skupina A				
	pohlavie	vek	príčina úmrtia/diagnóza	dátum odberu
1	muž	41	samovražda zastrelením – pomliaždenie mozgu	8.3.2016
2	muž	56	dopravný úraz – tupý úraz hlavy, trupu a končatín; úrazovo krvácavý šok	16.3.2016
3	muž	31	utopenie v ťažkom stupni opitosti	17.3.2016
4	muž	70	dopravný úraz – tupý úraz hlavy, trupu a končatín; roztrhnutie hrudnej aorty	21.3.2016
5	muž	55	dopravný úraz – tupý úraz hlavy, krku, trupu a končatín; úrazový šok	5.4.2016
6	žena	20	dopravný úraz – tupý úraz hlavy, trupu a končatín; edém mozgu	9.6.2016
7	muž	53	obesenie	16.6.2016
8	žena	66	náhle úmrtie – akútny infarkt medzikomorovej priehradky a srdcového hrotu (ruptúra svaloviny)	1.7.2016
9	muž	49	dopravný úraz – difúzne poranenie mozgu; otvorená rana – prolaps mozgu	4.7.2016
10	žena	48	dopravný úraz – tupý úraz hlavy, krku, trupu a končatín; pomliaždenie mozgu	4.7.2016
11	muž	39	samovražda skokom z výšky – tupý úraz hlavy, trupu a končatín; úrazový šok	12.7.2016
12	muž	30	utopenie v stave po požití nevelkého množstva alkoholických nápojov	18.7.2016
13	muž	19	úraz na železnici – tupý úraz hlavy, krku, trupu a končatín; vonkajšie a vnútorné vykrvácanie	21.7.2016
14	muž	16	náhle úmrtie – zlyhanie srdca; ťažký hemoragický edém pľúc, edém mozgu	1.8.2016
15	žena	18	úraz na železnici – polytrauma; úrazovo krvácavý šok	2.8.2016
16	muž	40	dopravný úraz – úplné prerušenie mozgového kmeňa	19.9.2016

Zdroj: Vlastné spracovanie

Tab. 4 Charakteristika skupiny M

Skupina M				
pohlavie	vek	príčina úmrtia/diagnóza	dátum odberu	
1	muž	74	centrálna mozgová príhoda; kardiopulmonálne zlyhanie; stav 1 mesiac po tupom úraze hlavy; zápal priedušiek a pľúc; náhrada dvojčipej a aortálnej srdcovej chlopne	15.9.2016
2	muž	67	generalizovaný zhubný karcinóm pažeráka; kardiopulmonálne zlyhanie; hnisavý zápal mäkkých tkanív krku; septická aktivácia pulpy sleziny a nadobličiek	3.10.2016
3	žena	76	generalizovaný zhubný karcinóm sliznice maternice; kardiopulmonálne zlyhanie; subakútna pľúcna embólia, pľúcny infarkt, edém pľúc	7.10.2016
4	muž	82	polytrauma; kardiopulmonálne zlyhanie; stav 2 mesiace po tupom úraze hlavy, trupu a končatín (trepanácia lebky, tracheostomia, fraktúra panvy a oboch kostí stehenných); akútny zápal priedušiek	1.11.2016
5	muž	73	generalizovaný zhubný karcinóm hrubého čreva; bezprostredná príčina – drvivé poranenie lebky; tupý úraz hlavy, trupu a končatín; atrofický zápal priedušiek; osteoporóza	24.11.2016
6	žena	71	generalizovaný zhubný melanóm kože; akútny lalôčkový zápal pľúc; edém mozgu; atrofický zápal priedušiek; steatóza pečene	24.11.2016
7	žena	73	karcinóm prsníka, pľúc a medzihrudia; kardiopulmonálne zlyhanie; edém pľúc a mozgu; kachexia	23.11.2016
8	muž	73	generalizovaný zhubný karcinóm pľúc; akútny zápal priedušiek; edém pľúc a mozgu; ateroskleróza; kachexia	9.12.2016
9	žena	23	kardiopulmonálne zlyhanie; stav po tupom úraze hlavy, krku a trupu (4 roky vo vigílnej kóme); akútny zápal priedušiek a pľúc; infekčná aktivácia pulpy sleziny; edém pľúc a mozgu; steatóza pečene	9.12.2016
10	žena	87	lalôčkový zápal pľúc; hnisavý zápal priedušiek; dlhodobé hromadenie krvi vo vnútorných orgánoch; edém pľúc a mozgu; cysty na povrchu obličiek; ateroskleróza	9.1.2017

Zdroj: Vlastné spracovanie

Celkový priemerný vek kadáverov dosahoval hodnotu $51,9 \pm 22,3$ rokov (medián 54,0). Priemerný vek v skupine A bol $40,7 \pm 17,2$ rokov (medián 40,5) a v skupine M $69,9 \pm 17,4$ rokov (medián 73).

Priemerný vek všetkých mužov predstavoval $51,1 \pm 20,3$ rokov (medián 53,0), v skupine A $41,6 \pm 16,0$ rokov (medián 40,5) a v skupine M $73,8 \pm 5,4$ rokov (medián 73,0). U žien bol priemerný vek celkovo $53,6 \pm 27,0$ rokov (medián 66,0), v skupine A $38,0 \pm 23,2$ rokov (medián 34,0) a v skupine M $66,0 \pm 24,8$ rokov (medián 73,0). Vekové charakteristiky sú zhrnuté v Tab. 5.

Tab. 5 Vekové zloženie výskumného súboru

	muži + ženy		muži		ženy	
	priemerný vek	medián veku	priemerný vek	medián veku	priemerný vek	priemerný vek
celkovo	$51,9 \pm 22,3$	54,0	$51,1 \pm 20,3$	53,0	$53,6 \pm 27,0$	66,0
skupina A	$40,7 \pm 17,2$	40,5	$41,6 \pm 16,0$	40,5	$38,0 \pm 23,2$	34,0
skupina M	$69,9 \pm 17,4$	73,0	$73,8 \pm 5,4$	73,0	$66,0 \pm 24,8$	73,0

Zdroj: Vlastné spracovanie

4.2 Štatistické spracovanie

Dáta v tabuľkách sú prezentované vo forme aritmetického priemeru, smerodajnej odchýlky (SD – *standard deviation*), mediánu, 25% a 75% percentilu, s uvedením minimálnej a maximálnej hodnoty a normality rozdelenia dát.

Stĺpcové grafy vyjadrujú priemerné percentuálne zastúpenie mastných kyselín, resp. určované pomery (AA/EPA, Δ -5, Δ -9). Uviedli sme hodnoty pre každé tkanivo v skupine A a v skupine M, i pre obe skupiny celkovo.

Na určenie štatisticky významných rozdielov sme v prípade normálneho rozdelenia dát porovnávali aritmetické priemery prostredníctvom Studentovho t-testu, v ostatných prípadoch sme použili neparametrický Mann-Whitney test, ktorým sme porovnávali mediány hodnôt. Získané výsledky sme zobrazili v podobe krabicových grafov (*box plot*). Aritmetický priemer je označený symbolom +, medián horizontálnou čiarou vo vnútri krabice. Dolný a horný fúz zobrazujú minimálnu a maximálnu hodnotu. Dolná a horná hrana krabice predstavujú dolný a horný kvartil.

Zistený štatisticky významný rozdiel hodnôt pre dané tkanivo medzi skupinami A a M sme graficky vyjadrili tak, že krabicu skupiny s vyššími nameranými hodnotami sme

zvýraznili vyboldkovaním. Porovnanie daných hodnôt v skupinách A a M následne súhrnne ukazuje aj tabuľka pomocou matematických symbolov $>$, $<$, $=$.

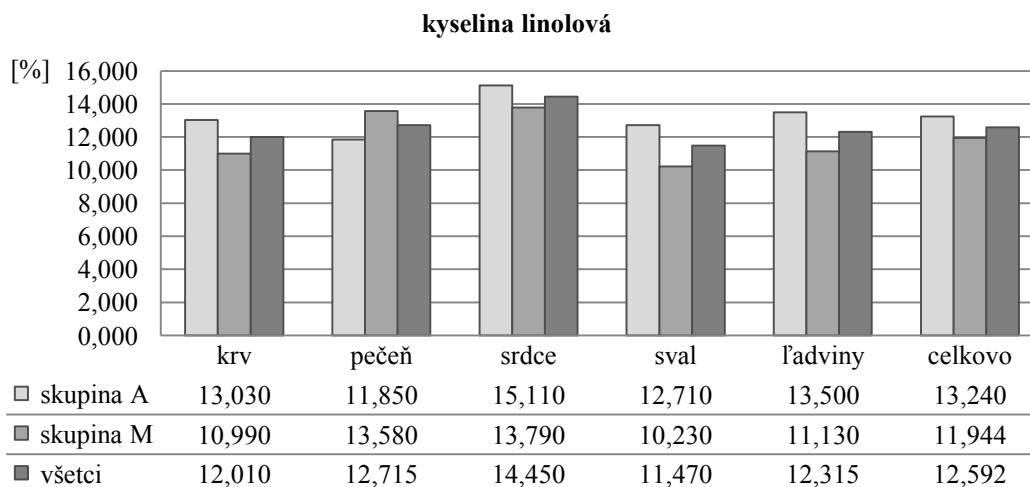
Deskriptívna štatistika pre LA je uvedená v Tab. 6.

Tab. 6 Kyselina linolová – deskriptívna štatistika

kyselina linolová										
	krv A	krv M	pečeň A	pečeň M	srdce A	srdce M	sval A	sval M	ľadviny A	ľadviny M
počet hodnôt	16	10	16	10	16	10	16	10	15	10
min.	9,141	8,464	7,502	8,162	9,635	9,959	8,862	7,049	9,327	6,978
max.	17,365	15,567	17,591	19,153	23,442	16,563	16,869	15,908	17,126	13,724
arit. priemer	13,030	10,990	11,850	13,580	15,110	13,790	12,710	10,230	13,500	11,130
SD	2,631	2,369	2,783	3,336	3,965	1,866	2,282	2,806	1,816	1,890
medián	12,750	10,400	11,810	13,120	14,400	13,720	12,840	9,942	14,040	11,230
25% percentil	10,470	9,000	9,989	11,490	11,450	12,870	10,810	7,816	12,320	10,210
75% percentil	15,240	12,960	13,420	16,350	18,420	15,410	13,920	11,700	14,430	12,440
normalita rozdelenia	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno

Zdroj: Vlastné spracovanie

Na Obr. 10 je zobrazené priemerné percentuálne zastúpenie LA v analyzovaných tkanivách pre uvedené skupiny kadáverov. Medzi percentuálnym zastúpením LA v jednotlivých tkanivách sme neznamenali výrazné rozdiely.



Obr. 10 Kyselina linolová – priemerné percentuálne zastúpenie v jednotlivých tkanivách

Zdroj: Vlastné spracovanie

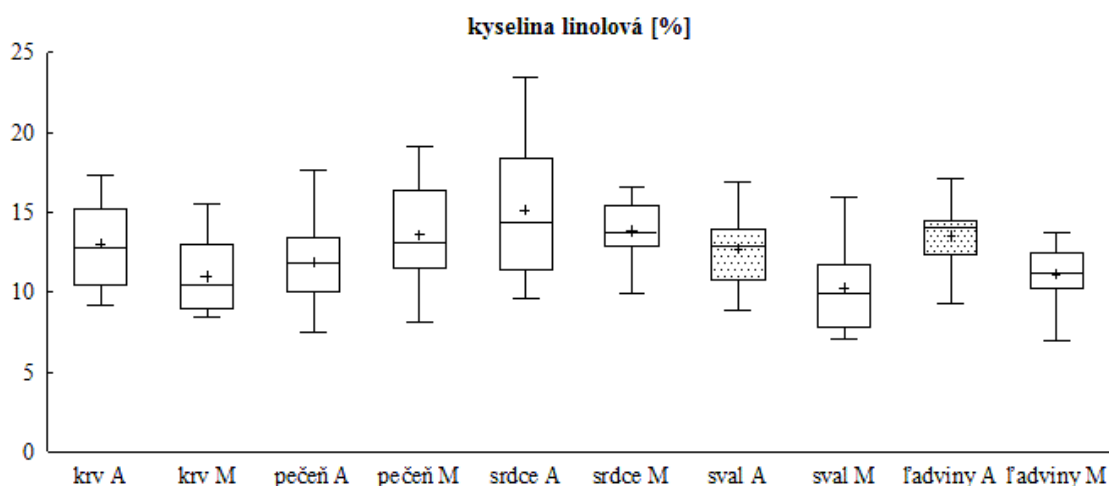
Porovnanie obsahu LA medzi skupinami A a M ukazuje Tab. 7.

Tab. 7 Kyselina linolová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

kyselina linolová		
skupina A		skupina M
krv	=	krv
pečeň	=	pečeň
srdce	=	srdce
sval	>	sval
ľadviny	>	ľadviny

Zdroj: Vlastné spracovanie

Medzi obsahom LA v tkanivách kadáverov zo skupín A a M boli štatisticky významné rozdiely zistené pre sval a ľadviny, pričom vyššie hodnoty boli v oboch prípadoch v skupine A, ako to ilustruje Obr. 11.



Obr. 11 Kyselina linolová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

Zdroj: Vlastné spracovanie

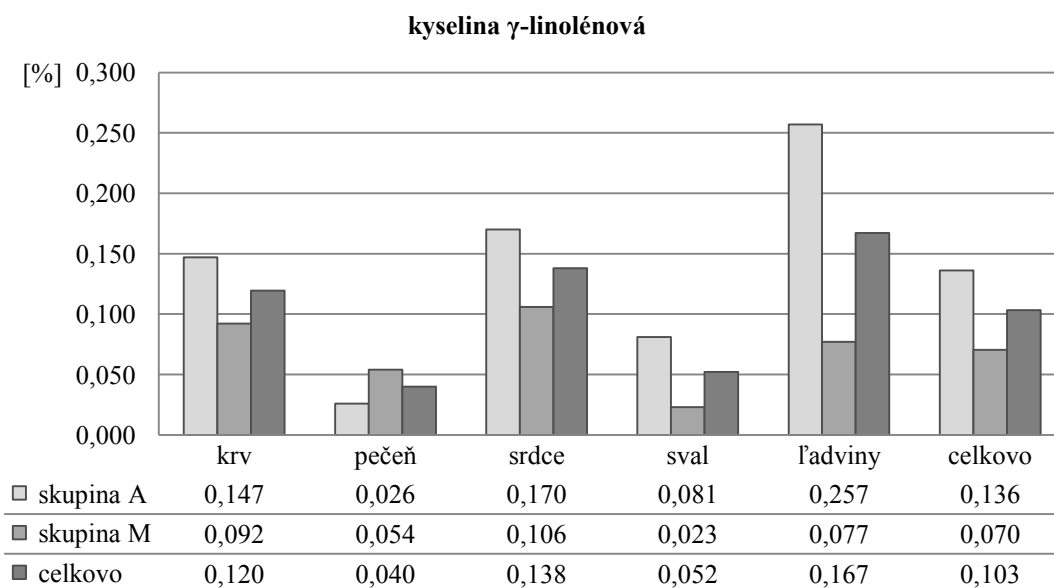
Deskriptívna štatistika pre kyselinu γ -linolénovú je uvedená v Tab. 8.

Tab. 8 Kyselina γ -linolénová – deskriptívna štatistika

kyselina γ -linolénová										
	krv A	krv M	pečeň A	pečeň M	srdce A	srdce M	sval A	sval M	ľadviny A	ľadviny M
počet hodnôt	14	10	13	9	15	10	16	10	15	10
min.	0,000	0,000	0,000	0,024	0,033	0,028	0,000	0,000	0,024	0,016
max.	0,268	0,223	0,084	0,084	0,488	0,243	0,233	0,050	0,836	0,171
arit. priemer	0,147	0,092	0,026	0,054	0,170	0,106	0,081	0,023	0,257	0,077
SD	0,070	0,064	0,025	0,019	0,148	0,081	0,075	0,019	0,264	0,056
medián	0,147	0,092	0,024	0,054	0,136	0,069	0,056	0,016	0,143	0,074
25% percentil	0,098	0,053	0,000	0,039	0,052	0,044	0,020	0,007	0,076	0,020
75% percentil	0,200	0,125	0,038	0,069	0,266	0,192	0,159	0,043	0,448	0,122
normalita rozdelenia	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno

Zdroj: Vlastné spracovanie

Na Obr. 12 je zobrazené priemerné percentuálne zastúpenie GLA v analyzovaných tkanivách pre uvedené skupiny kadáverov. Výrazne vysoké zastúpenie GLA bolo v ľadvinách v skupine A, pomerne nízke zastúpenie bolo zaznamenané v pečeni v skupine A a vo svale v skupine M.



Obr. 12 Kyselina γ -linolénová – priemerné percentuálne zastúpenie v jednotlivých tkanivách

Zdroj: Vlastné spracovanie

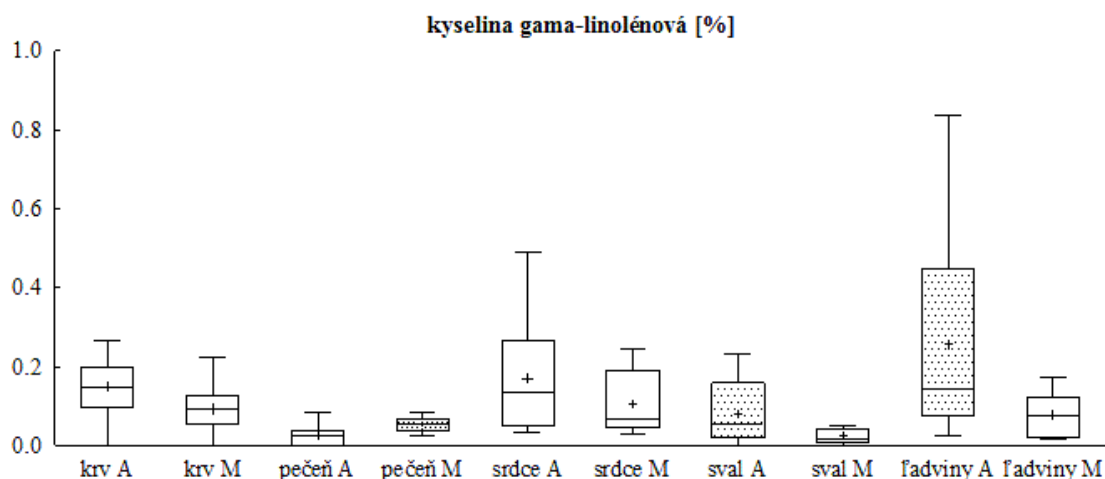
Porovnanie obsahu GLA medzi skupinami A a M ukazuje Tab. 9.

Tab. 9 Kyselina γ -linolénová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

kyselina γ -linolénová		
skupina A		skupina M
krv	=	krv
pečeň	<	pečeň
srdce	=	srdce
sval	>	sval
ľadviny	>	ľadviny

Zdroj: Vlastné spracovanie

Medzi obsahom GLA v tkanivách kadáverov zo skupín A a M boli štatisticky významné rozdiely zistené pre sval a ľadviny, pričom vyššie hodnoty boli v oboch prípadoch v skupine A, ako to ilustruje Obr. 13. V ľadvinách v skupine A sa obsah GLA u jednotlivých kadáverov nachádzal v (extrémne) širokom rozmedzí hodnôt v porovnaní s ostatnými tkanivami. Štatisticky významný rozdiel medzi skupinami bol zistený aj pre obsah GLA v pečeni, v tomto prípade boli vyššie hodnoty v skupine M.



Obr. 13 Kyselina γ -linolénová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

Zdroj: Vlastné spracovanie

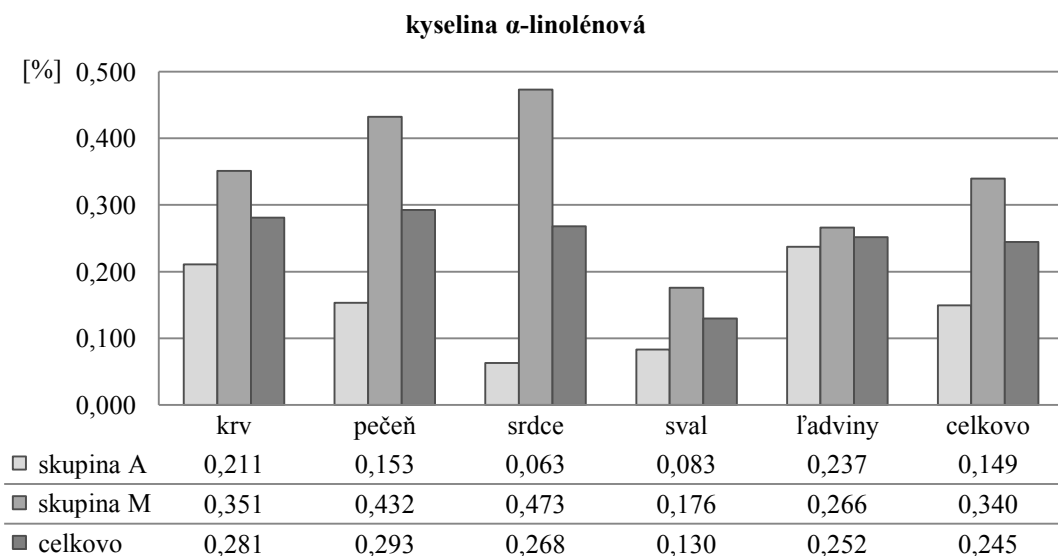
Deskriptívna štatistika pre ALA je uvedená v Tab. 10.

Tab. 10 Kyselina α -linolénová – deskriptívna štatistika

kyselina α -linolénová										
	krv A	krv M	pečeň A	pečeň M	srdce A	srdce M	sval A	sval M	ľadviny A	ľadviny M
počet hodnôt	15	9	16	10	12	10	14	10	16	8
min.	0,053	0,166	0,023	0,101	0,027	0,136	0,045	0,047	0,000	0,016
max.	0,443	0,502	0,317	0,973	0,090	1,020	0,164	0,408	0,799	0,831
arit. priemer	0,211	0,351	0,153	0,432	0,063	0,473	0,083	0,176	0,237	0,266
SD	0,134	0,105	0,082	0,335	0,017	0,302	0,037	0,137	0,233	0,295
medián	0,173	0,342	0,140	0,282	0,063	0,432	0,070	0,117	0,105	0,161
25% percentil	0,089	0,285	0,097	0,162	0,052	0,226	0,060	0,068	0,065	0,046
75% percentil	0,265	0,445	0,194	0,828	0,077	0,659	0,105	0,330	0,373	0,510
normalita rozdelenia	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	nie

Zdroj: Vlastné spracovanie

Na Obr. 14 je zobrazené priemerné percentuálne zastúpenie ALA v analyzovaných tkanivách pre uvedené skupiny kadáverov. Priemerné celkové percentuálne zastúpenie ALA sa medzi jednotlivými tkanivami výrazne nelíšilo, ale nápadný je rozdiel medzi hodnotami v skupine A a v skupine M v srdcovom tkanive, pomerne výrazne je vidieť aj rozdiel v pečeni.



Obr. 14 Kyselina α -linolénová – priemerné percentuálne zastúpenie v jednotlivých tkanivách

Zdroj: Vlastné spracovanie

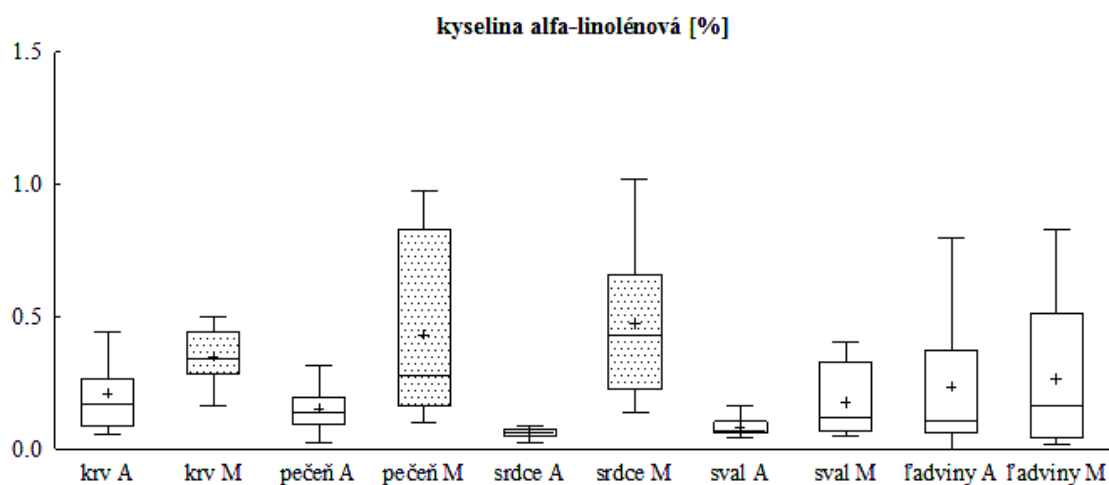
Porovnanie obsahu ALA medzi skupinami A a M ukazuje Tab. 11.

Tab. 11 Kyselina α -linolénová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

kyselina α -linolénová		
skupina A		skupina M
krv	<	krv
pečeň	<	pečeň
srdce	<	srdce
sval	=	sval
ľadviny	=	ľadviny

Zdroj: Vlastné spracovanie

Medzi obsahom ALA v tkanivách kadáverov zo skupín A a M boli štatisticky významné rozdiely zistené okrem srdca a pečene aj pre krv, pričom vyššie hodnoty boli vo všetkých troch prípadoch v skupine M, ako to ilustruje Obr. 15. V ľadvinách sa hodnoty zastúpenia ALA u porovnávaných skupín takmer zhodovali.



Obr. 15 Kyselina α -linolénová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

Zdroj: Vlastné spracovanie

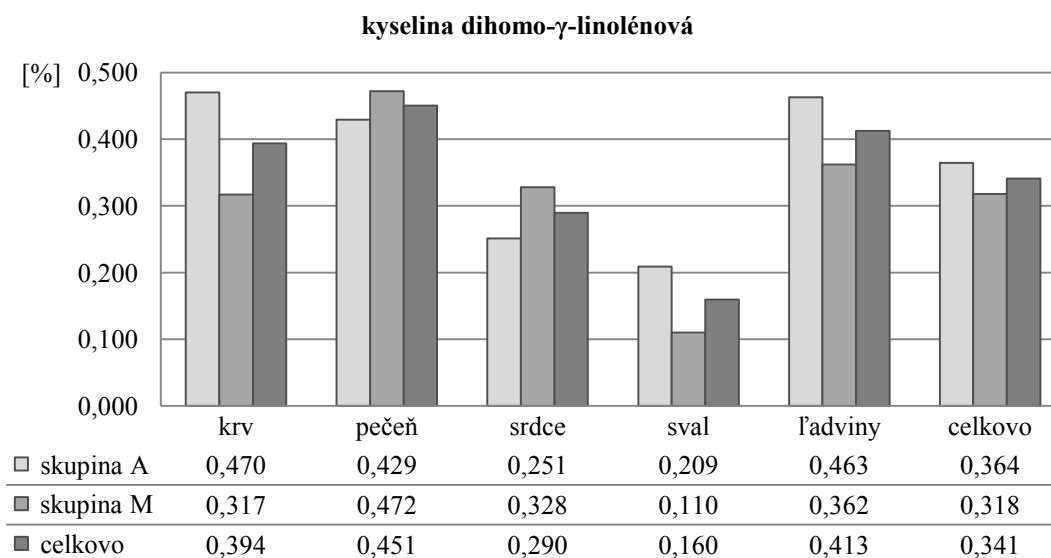
Deskriptívna štatistika pre kyselinu DGLA je uvedená v Tab. 12.

Tab. 12 Kyselina dihomο-γ-linolenová – deskriptívna štatistika

kyselina dihomο-γ-linolenová										
	krv A	krv M	pečeň A	pečeň M	srdce A	srdce M	sval A	sval M	ľadviny A	ľadviny M
počet hodnôt	16	10	16	10	15	10	13	8	16	10
min.	0,267	0,182	0,135	0,241	0,133	0,137	0,128	0,081	0,189	0,080
max.	0,638	0,685	0,866	1,140	0,380	0,878	0,358	0,169	0,638	0,732
arit. priemer	0,470	0,317	0,429	0,472	0,251	0,328	0,209	0,110	0,463	0,362
SD	0,115	0,185	0,238	0,279	0,078	0,232	0,066	0,029	0,140	0,219
medián	0,513	0,230	0,367	0,362	0,245	0,247	0,186	0,102	0,507	0,349
25% percentil	0,359	0,193	0,220	0,271	0,183	0,162	0,174	0,089	0,319	0,173
75% percentil	0,567	0,475	0,690	0,644	0,327	0,462	0,254	0,128	0,585	0,576
normalita rozdelenia	áno	áno	áno	nie	áno	nie	áno	áno	áno	áno

Zdroj: Vlastné spracovanie

Na Obr. 16 je zobrazené priemerné percentuálne zastúpenie DGLA v analyzovaných tkanivách pre uvedené skupiny kadáverov. Až na pomerne nízke percentuálne zastúpenie DGLA vo svale v skupine M sa zistené hodnoty v ostatných tkanivách vzájomne príliš nelíšia.



Obr. 16 Kyselina dihomο-γ-linolenová – priemerné percentuálne zastúpenie

v jednotlivých tkanivách

Zdroj: Vlastné spracovanie

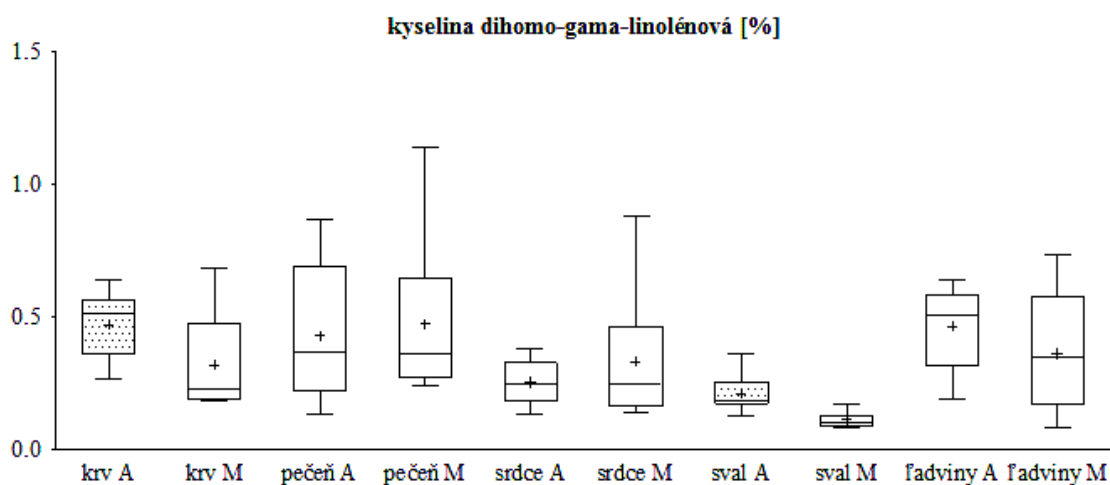
Porovnanie obsahu DGLA medzi skupinami A a M ukazuje Tab. 13.

Tab. 13 Kyselina dihomogamma-linolénová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

kyselina dihomogamma-linolénová		
skupina A		skupina M
krv	>	krv
pečeň	=	pečeň
srdce	=	srdce
sval	>	sval
ľadviny	=	ľadviny

Zdroj: Vlastné spracovanie

Medzi obsahom DGLA v tkanivách kadáverov zo skupín A a M boli štatisticky významné rozdiely zistené pre krv a sval, pričom vyššie hodnoty boli v oboch prípadoch v skupine A, ako to ilustruje Obr. 17. V pečeni a srdci sa hodnoty zastúpenia DGLA u porovnávaných skupín sa len málo odlišovali.



Obr. 17 Kyselina dihomogamma-linolénová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

Zdroj: Vlastné spracovanie

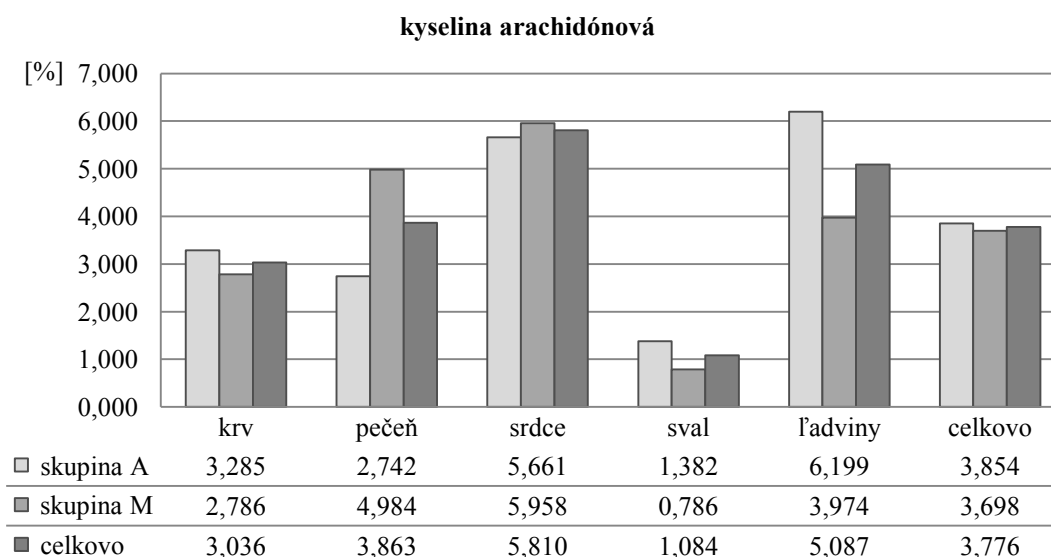
Deskriptívna štatistika pre AA je uvedená v Tab. 14.

Tab. 14 Kyselina arachidónová – deskriptívna štatistika

kyselina arachidónová										
	krv A	krv M	pečeň A	pečeň M	srdce A	srdce M	sval A	sval M	ľadviny A	ľadviny M
počet hodnôt	15	10	16	10	16	10	11	8	14	10
min.	1,886	0,899	0,639	1,685	0,545	2,933	0,477	0,361	3,493	0,313
max.	5,144	5,501	5,124	6,942	10,876	8,267	2,052	1,447	9,445	7,236
arit. priemer	3,285	2,786	2,742	4,984	5,661	5,958	1,382	0,786	6,199	3,974
SD	0,878	1,323	1,293	1,654	2,759	1,634	0,461	0,350	1,568	2,560
medián	3,017	2,763	2,815	5,144	5,700	6,353	1,417	0,758	6,530	4,636
25% percentil	2,561	1,818	1,767	3,893	3,667	4,786	0,992	0,513	4,991	1,686
75% percentil	3,950	3,662	3,720	6,357	7,260	7,399	1,771	0,993	7,160	6,110
normalita rozdelenia	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno

Zdroj: Vlastné spracovanie

Na Obr. 18 je zobrazené priemerné percentuálne zastúpenie AA v analyzovaných tkanivách pre uvedené skupiny kadáverov. V porovnaní s ostatnými tkanivami u oboch skupín i celkovo bolo značne nízke percentuálne zastúpenie zaznamenané vo svalе v skupine A aj v skupine M.



Obr. 18 Kyselina arachidónová – priemerné percentuálne zastúpenie v jednotlivých tkanivách

Zdroj: Vlastné spracovanie

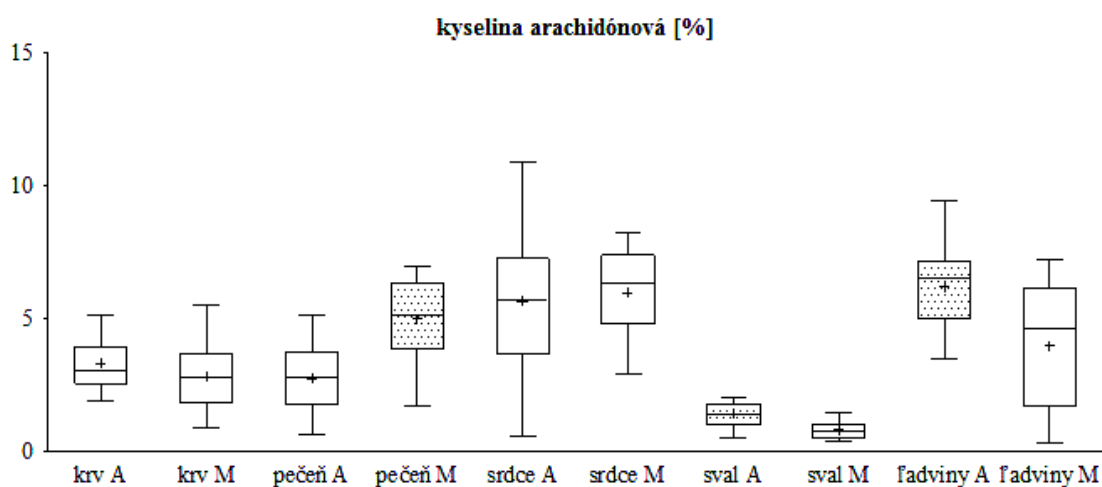
Porovnanie obsahu AA medzi skupinami A a M ukazuje Tab. 15.

Tab. 15 Kyselina arachidónová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

kyselina arachidónová		
skupina A		skupina M
krv	=	krv
pečeň	<	pečeň
srdce	=	srdce
sval	>	sval
ľadviny	>	ľadviny

Zdroj: Vlastné spracovanie

Medzi obsahom AA v tkanivách kadáverov zo skupín A a M boli štatisticky významné rozdiely zistené pre pečeň, sval a ľadviny. Vyššie hodnoty boli v pečeni zaznamenané v skupine M a v prípade svalu a ľadvín boli zaznamenané v skupine A, ako to ilustruje Obr. 19. V krvi a srdci sa hodnoty zastúpenia AA u porovnávaných skupín takmer zhodovali.



Obr. 19 Kyselina arachidónová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

Zdroj: Vlastné spracovanie

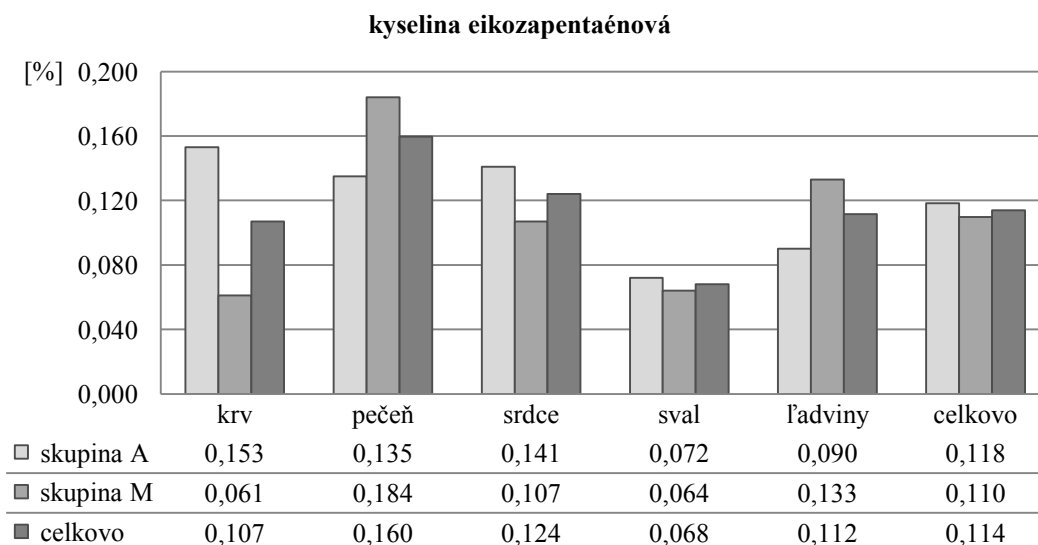
Deskriptívna štatistika pre EPA je uvedená v Tab. 16.

Tab. 16 Kyselina eikozapentaénová – deskriptívna štatistika

kyselina eikozapentaénová										
	krv A	krv M	pečeň A	pečeň M	srdce A	srdce M	sval A	sval M	ľadviny A	ľadviny M
počet hodnôt	14	10	16	10	15	10	15	9	16	10
min.	0,073	0,000	0,000	0,038	0,051	0,000	0,038	0,021	0,000	0,000
max.	0,318	0,178	0,334	0,431	0,249	0,322	0,132	0,122	0,167	0,473
arit. priemer	0,153	0,061	0,135	0,184	0,141	0,107	0,072	0,064	0,090	0,133
SD	0,082	0,071	0,096	0,117	0,052	0,093	0,026	0,037	0,041	0,156
medián	0,118	0,032	0,118	0,195	0,155	0,089	0,065	0,053	0,089	0,062
25% percentil	0,095	0,000	0,063	0,082	0,099	0,041	0,051	0,032	0,063	0,022
75% percentil	0,211	0,134	0,181	0,248	0,172	0,157	0,092	0,097	0,121	0,222
normalita rozdelenia	áno	áno	áno	áno	áno	nie	áno	áno	áno	nie

Zdroj: Vlastné spracovanie

Na Obr. 20 je zobrazené priemerné percentuálne zastúpenie EPA v analyzovaných tkanivách pre uvedené skupiny kadáverov. Pomerne nízke zastúpenie EPA sme zaznamenali v krvi v skupine M. V oboch skupinách, a tým aj celkovo, bolo zastúpenie EPA nízke aj vo svaloch. Najvyššie zastúpenie EPA sa objavilo v pečeni v skupine M. Zistené hodnoty v ostatných tkanivách boli na približne vyrovnanej úrovni.



Obr. 20 Kyselina eikozapentaénová – priemerné percentuálne zastúpenie v jednotlivých tkanivách

Zdroj: Vlastné spracovanie

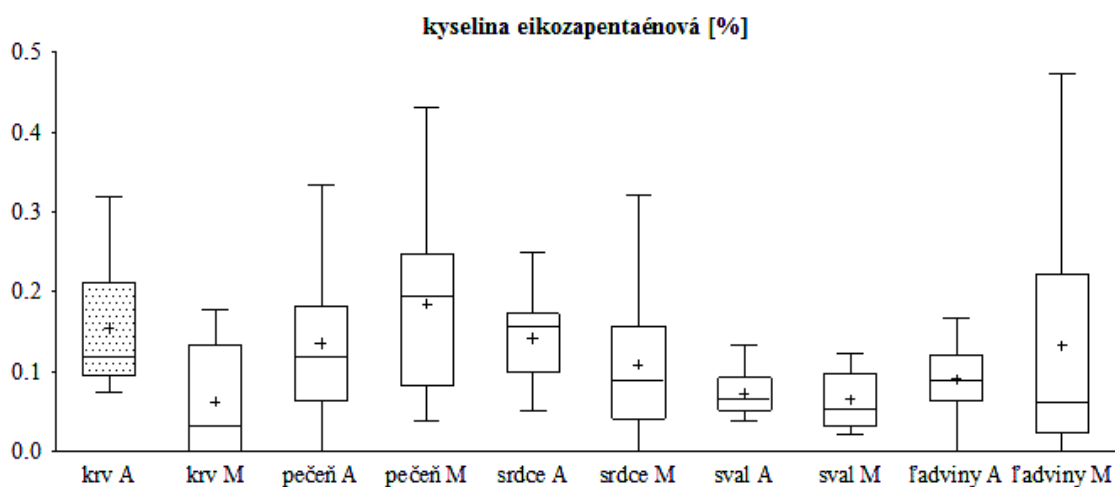
Porovnanie obsahu EPA medzi skupinami A a M ukazuje Tab. 17.

Tab. 17 Kyselina eikozapentaénová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

kyselina eikozapentaénová		
skupina A		skupina M
krv	>	krv
pečeň	=	pečeň
srdce	=	srdce
sval	=	sval
ľadviny	=	ľadviny

Zdroj: Vlastné spracovanie

Medzi obsahom EPA v tkanivách kadáverov zo skupín A a M bol štatisticky významný rozdiel zistený len pre krv, pričom vyššie zastúpenie EPA sme zaznamenali v skupine A, ako to ilustruje Obr. 21. V prípade svalu sa hodnoty zastúpenia EPA u porovnávaných skupín takmer zhodovali.



Obr. 21 Kyselina eikozapentaénová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

Zdroj: Vlastné spracovanie

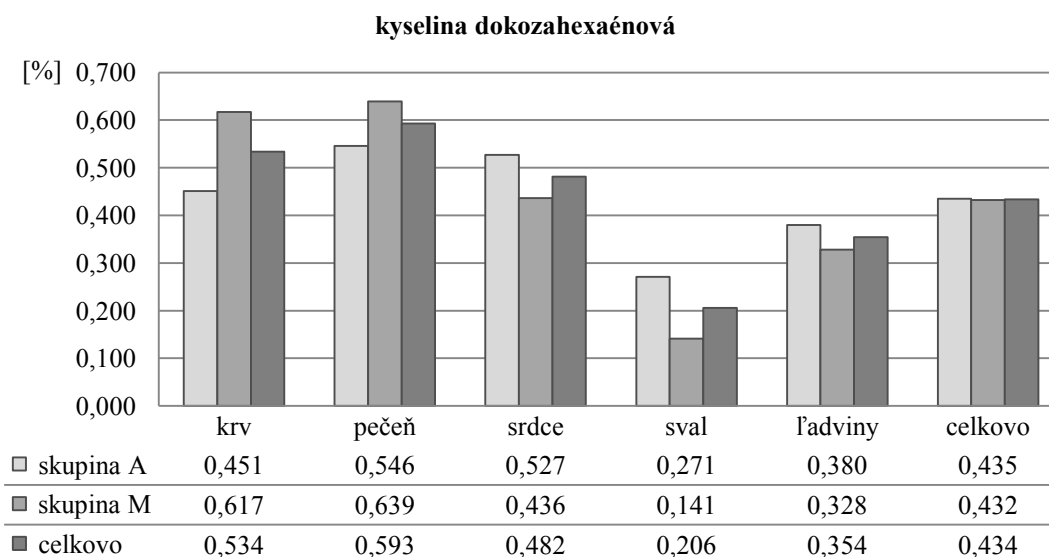
Deskriptívna štatistika pre DHA je uvedená v Tab. 18.

Tab. 18 Kyselina dokozahehexaénová – deskriptívna štatistika

kyselina dokozahehexaénová										
	krv A	krv M	pečeň A	pečeň M	srdce A	srdce M	sval A	sval M	ľadviny A	ľadviny M
počet hodnôt	15	10	16	10	16	10	15	8	13	9
min.	0,138	0,296	0,133	0,371	0,211	0,312	0,063	0,046	0,161	0,077
max.	0,894	1,224	1,242	0,916	0,978	0,590	0,743	0,280	0,698	0,458
arit. priemer	0,451	0,617	0,546	0,639	0,527	0,436	0,271	0,141	0,380	0,328
SD	0,221	0,279	0,343	0,185	0,224	0,096	0,212	0,072	0,158	0,141
medián	0,350	0,567	0,495	0,653	0,519	0,439	0,182	0,132	0,372	0,385
25% percentil	0,261	0,397	0,191	0,450	0,307	0,352	0,144	0,088	0,255	0,207
75% percentil	0,632	0,818	0,895	0,810	0,704	0,515	0,483	0,183	0,446	0,433
normalita rozdelenia	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno

Zdroj: Vlastné spracovanie

Na Obr. 22 je zobrazené priemerné percentuálne zastúpenie DHA v analyzovaných tkanivách pre uvedené skupiny kadáverov. Najnižšie hodnoty boli znova zaznamenané u oboch skupín vo svalovom tkanive, zastúpenie DHA v ostatných analyzovaných tkanivách bolo takmer vyrovnané.



Obr. 22 Kyselina dokozahehexaénová – priemerné percentuálne zastúpenie v jednotlivých tkanivách

Zdroj: Vlastné spracovanie

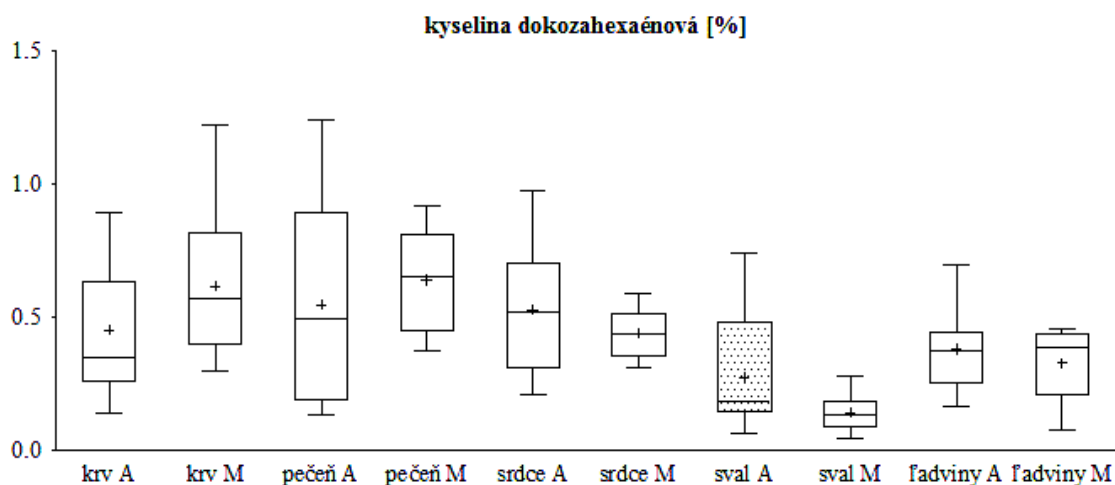
Porovnanie obsahu DHA medzi skupinami A a M ukazuje Tab. 19.

Tab. 19 Kyselina dokozahexaénová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

kyselina dokozahexaénová		
skupina A		skupina M
krv	=	krv
pečeň	=	pečeň
srdce	=	srdce
sval	>	sval
ľadviny	=	ľadviny

Zdroj: Vlastné spracovanie

Medzi obsahom DHA v tkanivách kadáverov zo skupín A a M bol štatisticky významný rozdiel zistený len pre sval, pričom vyšší obsah DHA sme zaznamenali v skupine A, ako to ilustruje Obr. 23. V ľadvinách sa hodnoty zastúpenia DHA u porovnávaných skupín takmer zhodovali.



Obr. 23 Kyselina dokozahexaénová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

Zdroj: Vlastné spracovanie

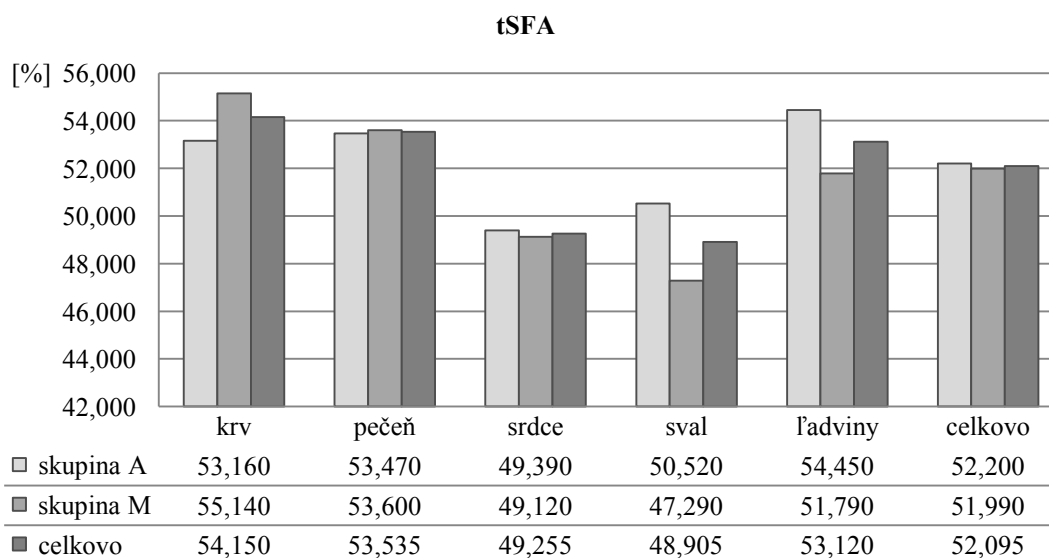
Deskriptívna štatistika pre tSFA je uvedená v Tab. 20.

Tab. 20 Suma nasýtených mastných kyselín – deskriptívna štatistika

tSFA [%]										
	krv A	krv M	pečeň A	pečeň M	srdce A	srdce M	sval A	sval M	ľadviny A	ľadviny M
počet hodnôt	13	9	16	10	15	10	15	8	11	5
min.	47,603	42,923	45,744	47,872	43,757	36,280	43,315	36,945	48,757	49,343
max.	58,289	63,797	60,464	57,648	55,462	58,815	58,885	57,098	57,331	54,115
arit. priemer	53,160	55,140	53,470	53,600	49,390	49,120	50,520	47,290	54,450	51,790
SD	2,956	6,537	4,338	3,669	3,590	7,715	4,084	6,904	2,479	1,884
medián	53,570	54,190	53,480	54,240	49,300	48,690	49,650	47,820	54,470	51,360
25% percentil	51,630	51,060	49,830	49,930	46,420	43,190	48,890	41,480	53,570	50,150
75% percentil	55,160	60,990	57,030	57,010	52,970	56,930	53,730	52,990	56,820	53,650
normalita rozdelenia	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno

Zdroj: Vlastné spracovanie

Na Obr. 24 sú zobrazené priemerné percentuálne hodnoty tSFA v analyzovaných tkanivách pre uvedené skupiny kadáverov. Najnižšie hodnoty sme zaznamenali v srdci a svale u oboch skupín.



Obr. 24 Suma nasýtených mastných kyselín – priemerné percentuálne hodnoty v jednotlivých tkanivách

Zdroj: Vlastné spracovanie

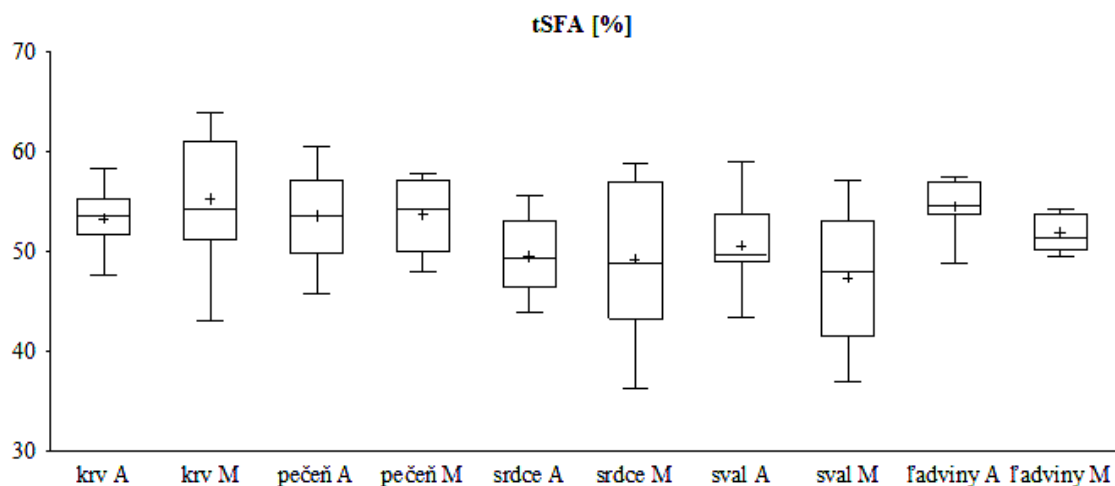
Porovnanie hodnôt tSFA medzi skupinami A a M ukazuje Tab. 21.

Tab. 21 Suma nasýtených mastných kyselín – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

tSFA		
skupina A	=	skupina M
krv	=	krv
pečeň	=	pečeň
srdce	=	srdce
sval	=	sval
ľadviny	=	ľadviny

Zdroj: Vlastné spracovanie

Medzi hodnotami tSFA v tkanivách kadáverov zo skupín A a M neboli zistené žiadne štatisticky významné rozdiely, ako to ilustruje Obr. 25 a naznačili to aj stĺpcové grafy (Obr. 24). V pečeni a srdci sa hodnoty tSFA u porovnávaných skupín takmer zhodovali.



Obr. 25 Suma nasýtených mastných kyselín – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

Zdroj: Vlastné spracovanie

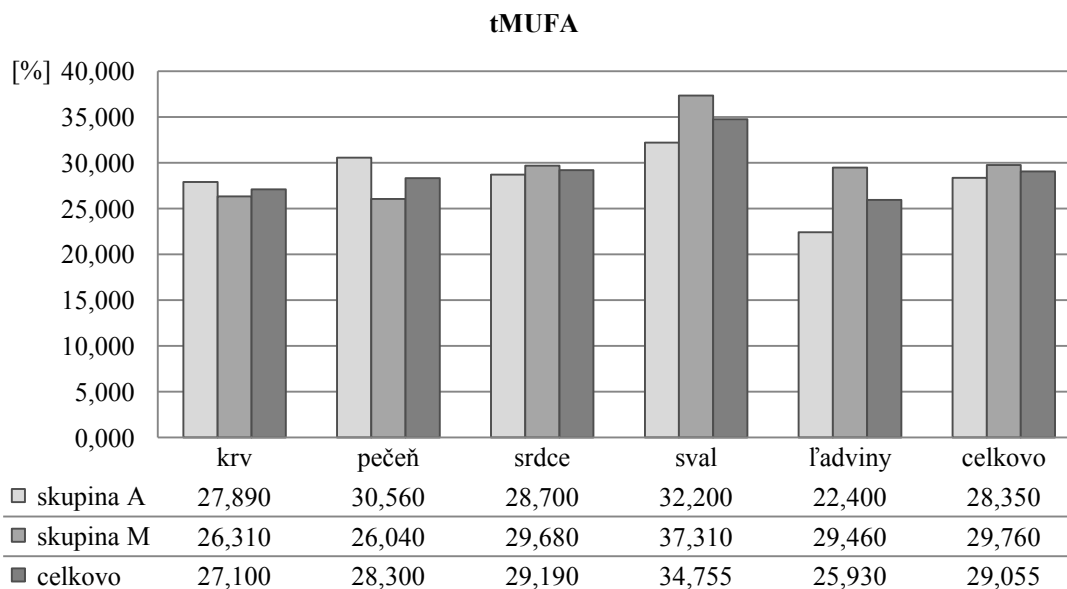
Deskriptívna štatistika pre tMUFA je uvedená v Tab. 22.

Tab. 22 Suma mononenasytených mastných kyselín – deskriptívna štatistika

tMUFA [%]										
	krv A	krv M	pečeň A	pečeň M	srdce A	srdce M	sval A	sval M	ľadviny A	ľadviny M
počet hodnôt	15	8	16	10	16	10	16	10	13	10
min.	20,804	21,262	22,928	20,567	18,118	18,997	18,093	16,572	18,978	18,524
max.	34,613	32,145	40,472	35,363	41,916	45,801	41,732	52,250	25,581	39,151
arit. Priemer	27,890	26,310	30,560	26,040	28,700	29,680	32,200	37,310	22,430	29,460
SD	3,257	3,936	4,348	4,425	7,529	8,844	7,411	12,740	2,047	6,357
medián	28,200	24,650	30,950	26,520	28,400	26,970	35,420	37,080	22,510	30,150
25% percentil	25,870	23,710	26,960	22,010	21,320	21,870	25,980	29,380	20,700	24,850
75% percentil	30,160	30,380	32,530	27,980	34,370	37,550	37,290	50,150	24,030	35,000
normalita rozdelenia	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno

Zdroj: Vlastné spracovanie

Na Obr. 26 sú zobrazené priemerné percentuálne hodnoty tSFA v analyzovaných tkanivách pre uvedené skupiny kadáverov. Zistené priemerné hodnoty vo všetkých tkanivách sa líšili takmer nepatrne.



Obr. 26 Suma mononenasytených mastných kyselín – priemerné percentuálne hodnoty v jednotlivých tkanivách

Zdroj: Vlastné spracovanie

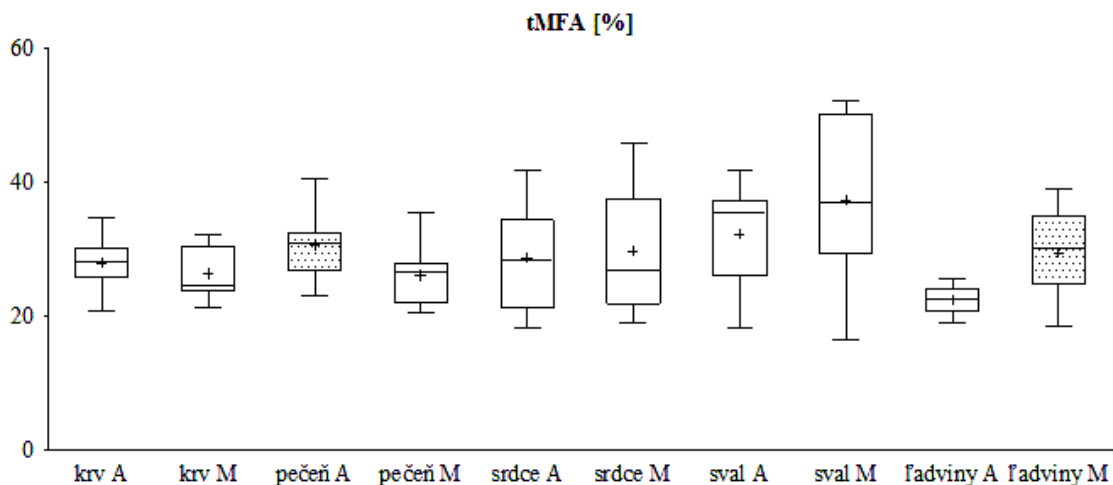
Porovnanie hodnôt tMUFA medzi skupinami A a M ukazuje Tab. 23.

Tab. 23 Suma mononenasýtených mastných kyselín – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

tMUFA		
skupina A		skupina M
krv	=	krv
pečeň	>	pečeň
srdce	=	srdce
sval	=	sval
ľadviny	<	ľadviny

Zdroj: Vlastné spracovanie

Medzi hodnotami tMUFA v tkanivách kadáverov zo skupín A a M boli štatisticky významné rozdiely zistené pre pečeň a ľadviny. V pečeni boli vyššie hodnoty zaznamenané v skupine A, ale v prípade ľadvín boli zaznamenané v skupine M, ako to ilustruje Obr. 27. Hodnoty sumy ω -3 PUFA v porovnávaných skupinách sa len málo odlišovali v prípade srdca a krvi.



Obr. 27 Suma mononenasýtených mastných kyselín – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

Zdroj: Vlastné spracovanie

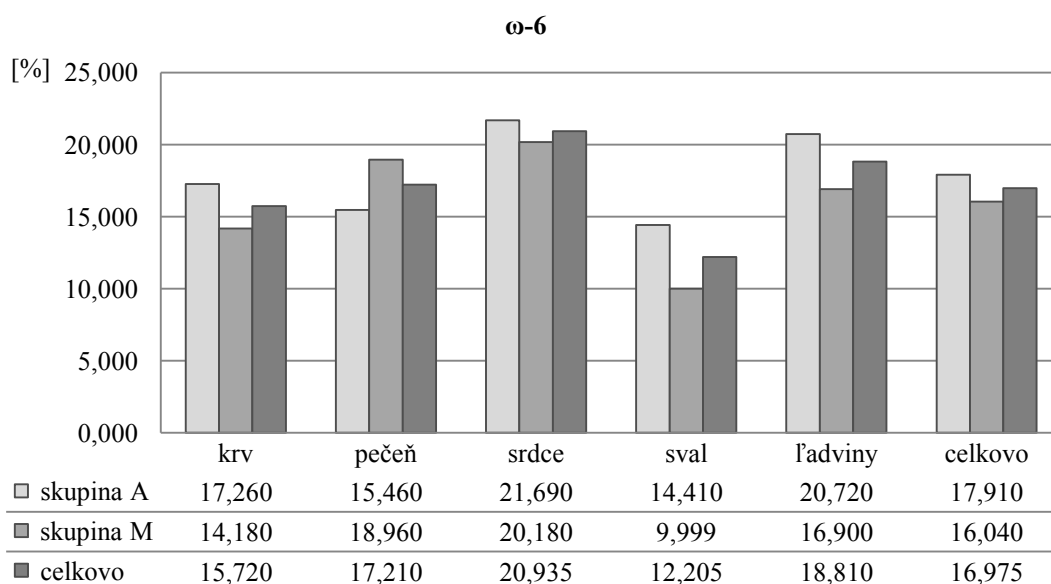
Deskriptívna štatistika pre sumu ω -6 PUFA je uvedená v Tab. 24.

Tab. 24 Suma ω -6 polynenasýtených mastných kyselín – deskriptívna štatistika

ω -6 [%]										
	krv A	krv M	pečeň A	pečeň M	srdce A	srdce M	sval A	sval M	Ľadviny A	Ľadviny M
počet hodnôt	13	10	13	9	14	10	11	8	13	8
min.	12,104	10,960	8,334	13,912	11,515	15,300	10,527	7,714	16,571	14,929
max.	21,079	17,484	21,418	26,439	33,312	23,565	18,930	12,127	25,077	18,969
arit. priemer	17,260	14,180	15,460	18,960	21,690	20,180	14,410	9,993	20,720	16,900
SD	3,249	2,478	4,134	4,478	6,370	3,002	2,286	1,724	2,351	1,172
medián	17,920	14,390	15,430	18,400	21,370	20,950	14,630	9,962	21,670	17,160
25% percentil	14,480	11,770	12,540	14,370	15,840	17,040	12,650	8,227	18,930	16,110
75% percentil	20,490	16,400	19,060	22,820	25,900	23,070	15,570	11,840	22,020	17,290
normalita rozdelenia	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno

Zdroj: Vlastné spracovanie

Na Obr. 28 sú zobrazené priemerné percentuálne hodnoty sumy ω -6 PUFA v analyzovaných tkanivách pre uvedené skupiny kadáverov. Najnižšie hodnoty boli zaznamenané znova vo svale oboch skupín, hodnoty zistené v ostatných tkanivách sa medzi sebou príliš nelíšili.



Obr. 28 Suma ω -6 polynenasýtených mastných kyselín – priemerné percentuálne hodnoty v jednotlivých tkanivách

Zdroj: Vlastné spracovanie

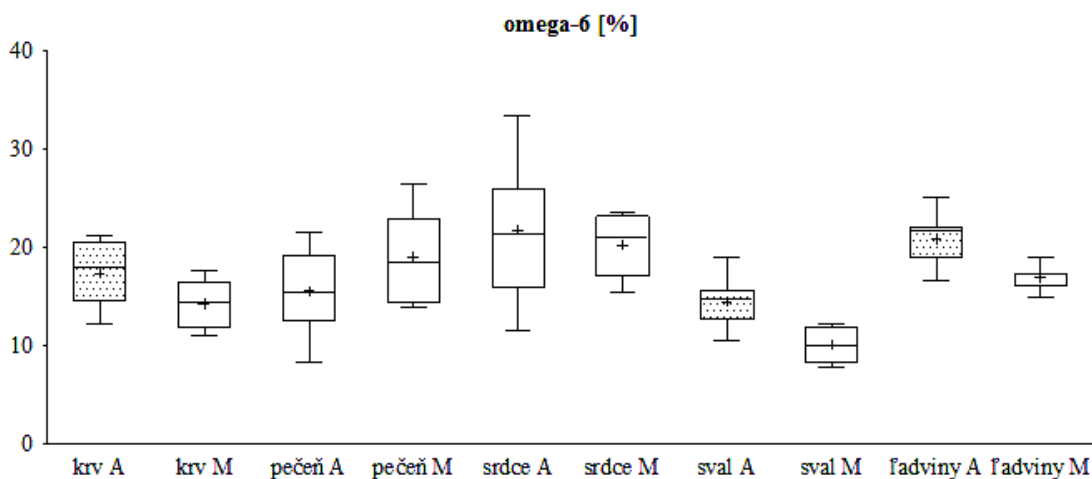
Porovnanie hodnôt sumy ω -6 PUFA medzi skupinami A a M ukazuje Tab. 25.

Tab. 25 Suma ω -6 polynenasýtených mastných kyselín – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

ω -6		
skupina A		skupina M
krv	>	krv
pečeň	=	pečeň
srdce	=	srdce
sval	>	sval
ľadviny	>	ľadviny

Zdroj: Vlastné spracovanie

Medzi hodnotami sumy ω -6 PUFA v tkanivách kadáverov zo skupín A a M boli štatisticky významné rozdiely zistené pre krv, sval a ľadviny, pričom vyššie hodnoty boli v všetkých troch prípadoch zaznamenané v skupine A, ako to ilustruje Obr. 29. Hodnoty sumy ω -6 PUFA v porovnávaných skupinách sa v prípade srdca takmer zhodovali.



Obr. 29 Suma ω -6 polynenasýtených mastných kyselín – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

Zdroj: Vlastné spracovanie

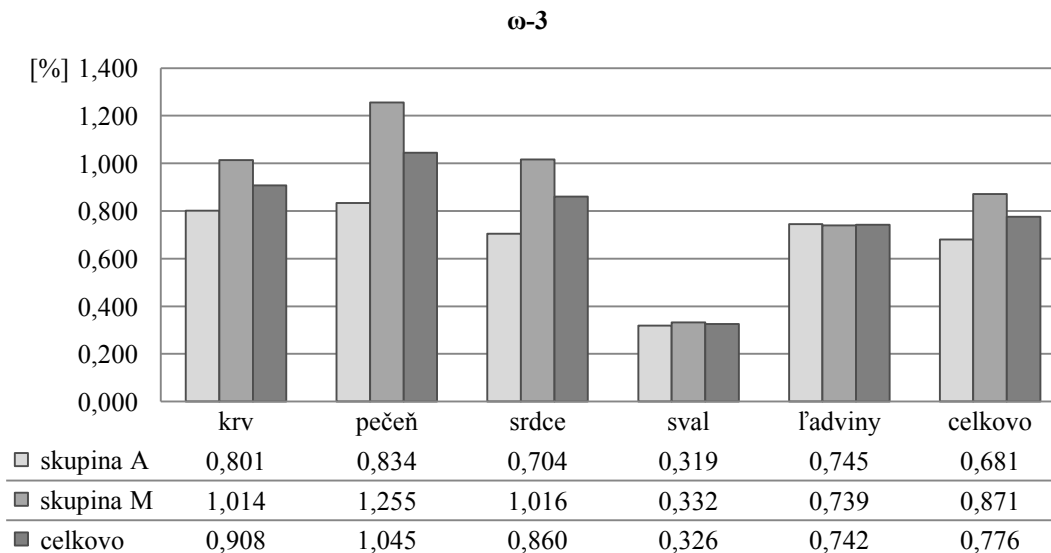
Deskriptívna štatistika pre ω -3 polynenasýtené mastné kyseliny je uvedená v Tab. 26.

Tab. 26 Suma ω -3 polynenasýtených mastných kyselín – deskriptívna štatistika

ω -3 [%]										
	krv A	krv M	pečeň A	pečeň M	srdce A	srdce M	sval A	sval M	ľadviny A	ľadviny M
počet hodnôt	12	9	16	10	11	10	10	8	13	8
min.	0,512	0,461	0,254	0,750	0,358	0,751	0,291	0,141	0,412	0,128
max.	1,440	1,583	1,885	1,570	1,201	1,379	0,386	0,558	1,612	1,453
arit. priemer	0,801	1,014	0,834	1,255	0,704	1,016	0,319	0,332	0,745	0,739
SD	0,287	0,333	0,458	0,250	0,285	0,211	0,031	0,161	0,342	0,502
medián	0,756	0,956	0,752	1,345	0,741	0,965	0,310	0,315	0,660	0,649
25% percentil	0,538	0,817	0,481	1,071	0,395	0,857	0,295	0,186	0,465	0,263
75% percentil	0,972	1,279	1,191	1,453	0,854	1,244	0,333	0,506	0,927	1,286
normalita rozdelenia	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	nie	áno

Zdroj: Vlastné spracovanie

Na Obr. 30 sú zobrazené priemerné percentuálne hodnoty sumy ω -3 PUFA v analyzovaných tkanivách pre uvedené skupiny kadáverov. Ako vo viacerých predchádzajúcich prípadoch, najnižšie hodnoty boli u oboch skupín zaznamenané vo svalu.



Obr. 30 Suma ω -3 polynenasýtených mastných kyselín – priemerné percentuálne hodnoty v jednotlivých tkanivách

Zdroj: Vlastné spracovanie

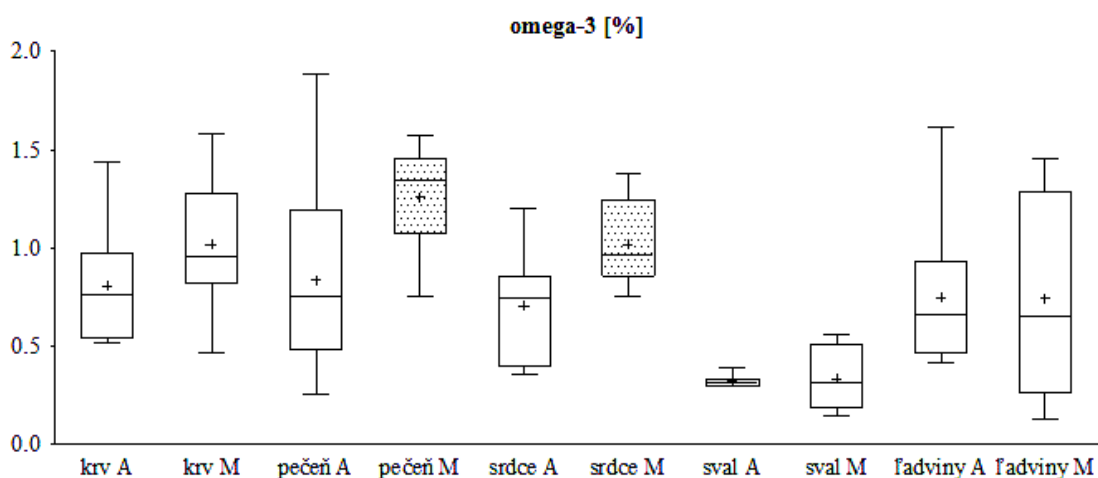
Porovnanie hodnôt sumy ω -3 PUFA medzi skupinami A a M ukazuje Tab. 27.

Tab. 27 Suma ω -3 polynenasýtených mastných kyselín – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

ω -3		
skupina A	=	skupina M
krv	=	krv
pečeň	<	pečeň
srdce	<	srdce
sval	=	sval
ľadviny	=	ľadviny

Zdroj: Vlastné spracovanie

Medzi hodnotami sumy ω -3 PUFA v tkanivách kadáverov zo skupín A a M boli štatisticky významné rozdiely zistené pre pečeň a srdce, pričom vyššie hodnoty boli v oboch prípadoch v skupine M, ako to ilustruje Obr. 31. Hodnoty sumy ω -3 PUFA v porovnávaných skupinách sa takmer zhodovali v prípade svalu a ľadvín.



Obr. 31 Suma ω -3 polynenasýtených mastných kyselín – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

Zdroj: Vlastné spracovanie

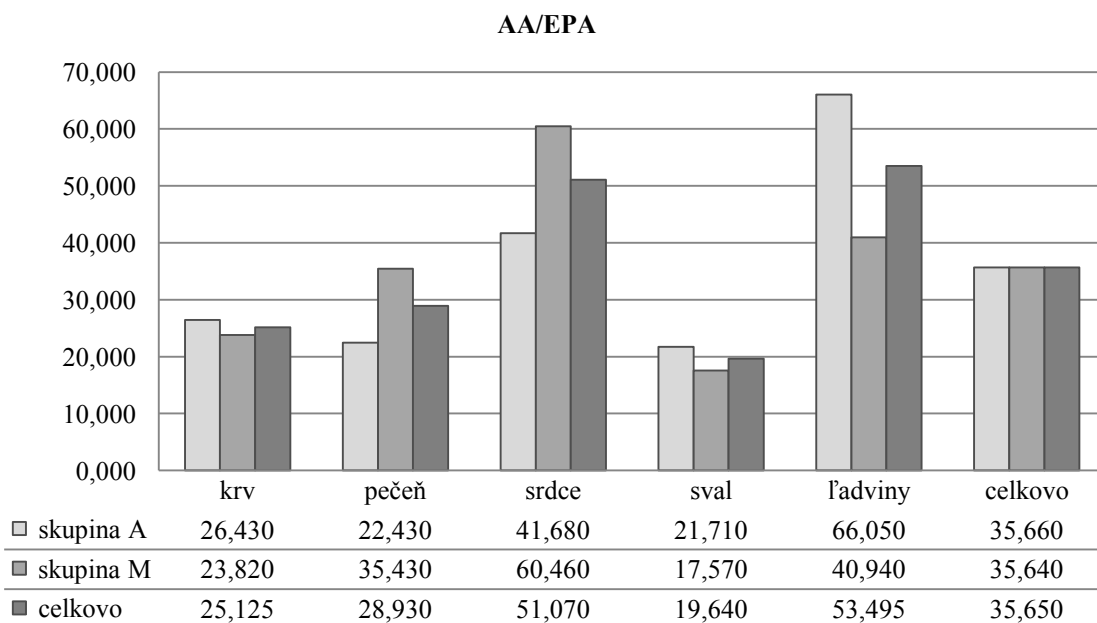
Deskriptívna štatistika pre pomer AA/EPA je uvedená v Tab. 28.

Tab. 28 Pomer kyseliny arachidónovej a kyseliny eikozapentaénovej – deskriptívna štatistika

AA/EPA										
	krv A	krv M	pečeň A	pečeň M	srdce A	srdce M	sval A	sval M	ľadviny A	ľadviny M
počet hodnôt	13	5	15	9	15	8	11	8	12	9
min.	8,055	8,957	9,445	6,387	9,581	9,098	9,137	4,210	22,790	4,902
max.	44,223	58,689	47,770	95,075	83,642	106,643	46,149	42,284	101,518	91,827
arit. priemer	26,430	23,820	22,340	35,430	41,680	60,460	21,710	17,570	66,050	40,940
SD	10,990	20,790	10,270	28,470	20,640	35,130	11,620	13,190	21,550	32,130
medián	26,020	13,620	21,010	31,910	41,810	59,720	19,320	14,810	64,360	31,300
25% percentil	18,190	9,749	13,380	12,540	24,530	30,930	10,700	6,964	52,640	13,890
75% percentil	33,700	42,990	27,750	54,440	55,020	97,790	29,750	27,990	101,500	74,360
normalita rozdelenia	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno

Zdroj: Vlastné spracovanie

Na Obr. 32 sú zobrazené priemerné hodnoty pomeru AA/EPA v analyzovaných tkanivách pre uvedené skupiny kadáverov.



Obr. 32 Priemerné hodnoty pomeru kyseliny arachidónovej a kyseliny eikozapentaénovej v jednotlivých tkanivách

Zdroj: Vlastné spracovanie

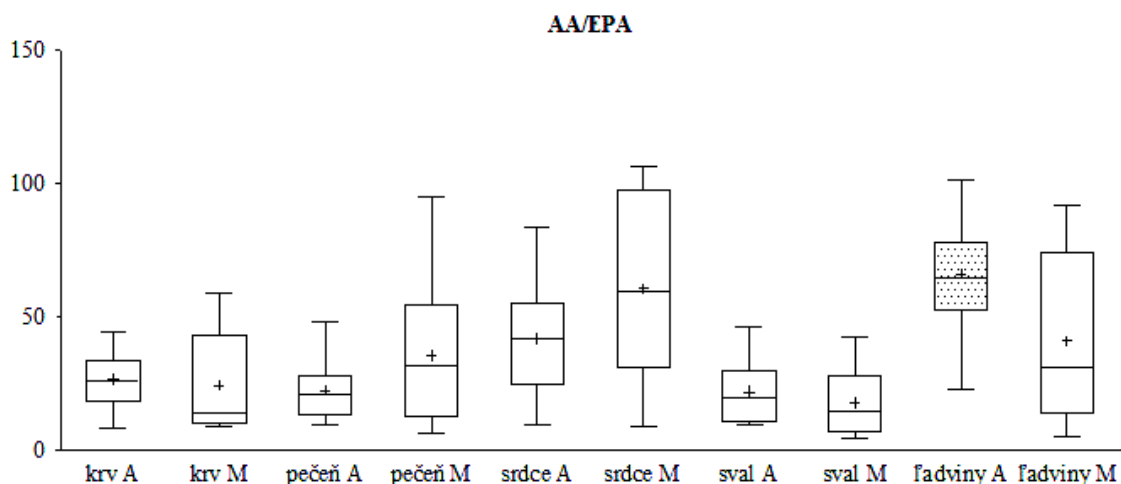
Porovnanie hodnôt pomeru AA/EPA medzi skupinami A a M ukazuje Tab. 29.

Tab. 29 Pomer kyseliny arachidónovej a kyseliny eikozapentaénovej – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

AA/EPA		
skupina A	=	skupina M
krv	=	krv
pečeň	=	pečeň
srdce	=	srdce
sval	=	sval
ľadviny	>	ľadviny

Zdroj: Vlastné spracovanie

Medzi hodnotami pomeru AA/EPA v tkanivách kadáverov zo skupín A a M bol štatisticky významný rozdiel zistený iba pre ľadviny, pričom vyššie hodnoty boli zaznamenané v skupine A, ako to ilustruje Obr. 33. Hodnoty pomeru AA/EPA v porovnávaných skupinách sa len nepatrne líšili v prípade svalu a krvi.



Obr. 33 Pomer kyseliny arachidónovej a kyseliny eikozapentaénovej – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

Zdroj: Vlastné spracovanie

Štatistické významné rozdiely pri porovnaní množstva jednotlivých mastných kyselín (resp. ich súm alebo pomeru) v konkrétnom tkanive medzi skupinami súhrne zobrazuje Tab. 30. V prípade, že bol zistený významný štatistický rozdiel, v tabuľke je uvedená skupina, v ktorej boli zaznamenané vyššie hodnoty.

Tab. 30 Súhrn štatisticky významných rozdielov

štatisticky významný rozdiel	krv	pečeň	srdce	sval	Ľadviny
LA	nie je	nie je	nie je	A	A
GLA	nie je	M	nie je	A	A
ALA	M	M	M	nie je	nie je
DGLA	A	nie je	nie je	A	nie je
AA	nie je	M	nie je	A	A
EPA	A	nie je	nie je	nie je	nie je
DHA	nie je	nie je	nie je	A	nie je
tSFA	nie je	nie je	nie je	nie je	nie je
tMUFA	nie je	A	nie je	nie je	M
ω-6	A	nie je	nie je	A	A
ω-3	nie je	M	M	nie je	nie je
AA/EPA	nie je	nie je	nie je	nie je	A

Zdroj: Vlastné spracovanie

V prípade tSFA nebol štatisticky významný rozdiel medzi skupinami kadáverov zistený v žiadnom z analyzovaných tkanív.

Jedenkrát bol štatisticky významný rozdiel zaznamenaný v prípade EPA (krv v skupine A), DHA (sval v skupine A) a pomeru AA/EPA (Ľadviny v skupine A).

Dvakrát bol štatisticky významný rozdiel zaznamenaný v prípade LA (sval a Ľadviny v skupine A); DGLA (krv a sval v skupine A); tMUFA (pečeň v skupine A, Ľadviny v skupine M) a sumy ω-3 (pečeň a srdce v skupine M).

Trikrát bol štatisticky významný rozdiel zaznamenaný v prípade GLA (pečeň v skupine M, sval a Ľadviny v skupine A); ALA (krv, pečeň a srdce v skupine M); AA (pečeň v skupine M, sval a Ľadviny v skupine A) a sumy ω-6 (krv, sval a Ľadviny v skupine A).²⁹

V krvi boli štatisticky významné rozdiely zistené štyrikrát – v prípade DGLA, EPA a sumy ω6 v skupine A; v prípade ALA v skupine M.

V pečeni boli štatisticky významné rozdiely zistené päťkrát – v prípade GLA, ALA, AA a ω-3 v skupine M; v prípade tMUFA v skupine A.

V srdci boli štatisticky významné rozdiely zistené dvakrát – v prípade ALA a ω-3 v skupine M.

Vo svale boli štatisticky významné rozdiely zistené šesťkrát – v prípade LA, GLA, DGLA, AA, DHA a ω-6, všetky v skupine A.

²⁹ V zátvorkách uvádzame tkanivá s vyššími zistenými hodnotami.

V ľadvinách boli štatisticky významné rozdiely zistené rovnako šesťkrát – v prípade LA, GLA, AA, ω -6 a pomeru AA/EPA v skupine A; v prípade tMUFA v skupine M.

Ďalšia súhrnná tabuľka Tab. 31 zobrazuje najnižšie/najvyššie priemerné hodnoty zaznamenané v rámci súm mastných kyselín a vzájomného pomeru AA/EPA v jednotlivých tkanivách u oboch skupín A, M a u celkového súboru kadáverov.

Tkanivo s najnižšou hodnotou je v tabuľke označené zelenou farbou a tkanivo s najvyššou hodnotou oranžovou farbou. V prípade sumy ω -6 a sumy ω -3 PUFA sa tkanivá s najnižšou i najvyššou hodnotou uvedených súm u skupiny A a skupiny M zhodujú (suma ω -6 s najnižšou/najvyššou hodnotou vo sval/srdci a suma ω -3 vo sval/pečeni), a zároveň sú dané tkanivá zhodné s celkovým súborom.

Najmenej konzistentné výsledky poskytuje tMUFA. U skupiny A má najnižšie hodnoty v obličkách, u skupiny M v pečeni, pričom celkovo bola najnižšia hodnota zaznamenaná v srdci. Analogická situácia platí pre najvyššie hodnoty tMUFA, ktoré sa u skupiny A aj u skupiny M objavili vo sval, ale celkovo boli najvyššie hodnoty tMUFA namerané v pečeni. V ostatných prípadoch (s výnimkou totožnosti najnižšej hodnoty pomeru AA/EPA vo sval u všetkých troch skupín) sa u celého súboru kadáverov najnižšia/najvyššia hodnota vyskytovala v jednom z tkanív, v ktorých bola táto hodnota predtým zaznamenaná buď v skupine A alebo v skupine M.

Tab. 31 Súhrnné zobrazenie najnižších/najvyšších priemerných hodnôt súm mastných kyselín a pomeru AA/EPA

tSFA	skupina A	krv	pečeň	srdce	sval	obličky
	skupina M	krv	pečeň	srdce	sval	obličky
	spolu	krv	pečeň	srdce	sval	obličky
tMUFA	skupina A	krv	pečeň	srdce	sval	obličky
	skupina M	krv	pečeň	srdce	sval	obličky
	spolu	krv	pečeň	srdce	sval	obličky
ω-6	skupina A	krv	pečeň	srdce	sval	obličky
	skupina M	krv	pečeň	srdce	sval	obličky
	spolu	krv	pečeň	srdce	sval	obličky
ω-3	skupina A	krv	pečeň	srdce	sval	obličky
	skupina M	krv	pečeň	srdce	sval	obličky
	spolu	krv	pečeň	srdce	sval	obličky
AA/EPA	skupina A	krv	pečeň	srdce	sval	obličky
	skupina M	krv	pečeň	srdce	sval	obličky
	spolu	krv	pečeň	srdce	sval	obličky

zelená farba – najnižšia priemerná hodnota, oranžová farba – najvyššia priemerná hodnota

Zdroj: Vlastné spracovanie

5 Diskusia

Zámerom práce bolo stanoviť zastúpenie jednotlivých mastných kyselín (prípadne skupín mastných kyselín) v rôznych tkanivách ľudského organizmu. Na tento účel sme použili biologický materiál zozbieraný v spolupráci s *Ústavom soudního lékařství Lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Hradci Králové*. Výskumný súbore tvorilo 26 kadáverov, ktorých sme rozdelili do dvoch skupín.

Do skupiny A sme zaradili 16 kadáverov, medián veku bol 40,5 rokov. Skupinu tvorilo 12 mužov a 4 ženy, pričom u všetkých išlo o náhle úmrtia z dôvodu vonkajších príčin, akými sú napríklad dopravné nehody a rôzne náhodné príčiny – pády, poranenia, vystavenie neživotným mechanickým silám. Týchto kadáverov sme na základe dostupných anamnestických údajov považovali za „zdravých, nepatologických“ – tzn. že v čase úmrtia netrpeli žiadnym závažným alebo dlhodobým ochorením, ktoré by mohlo mať významný vplyv na energetické zásoby organizmu, resp. skladbu prítomných mastných kyselín.

Do skupiny M sme zaradili 10 kadáverov, medián veku bol 73,0 rokov. Skupinu tvorilo 5 mužov a 5 žien – dlhodobo nemocných, polymorbidných pacientov, ktorých sme považovali za výrazne „patologických“ a v dobe úmrtia sme u nich predpokladali aktuálne prebiehajúci zápalový proces.

Od každého kadáveru sme mali k dispozícii 5 druhov vzoriek, a to krv (zrážanlivú), pečeň, srdce, sval a ľadviny, teda celkovo 130 vzoriek.

Samotná príprava vzoriek k analýze pomocou GC je časovo mimoriadne náročná a pracná. Vyžaduje tiež značnú laboratórnu zručnosť a presnosť, predovšetkým pri extrakcii lipidov z homogenizovaných tkanív. V prípade viacerých vzoriek, najmä svalov (tuhých tkanív s vysokým obsahom proteínov), mohli napriek snahe o maximálnu precíznosť vzniknúť rôzne nepresnosti a interferencie už pri procese nie vždy dokonalej homogenizácie či neúplnej extrakcie. To sa potom prejavilo nedetegovateľnými, nemerateľnými alebo výrazne odlišnými hodnotami v chromatografických záznamoch niektorých identifikovaných mastných kyselín. Nekoherentné (výrazne odlišné) hodnoty sme pri prvotnom štatistickom spracovaní z ďalšieho hodnotenia vylúčili ako odľahlé.

Domnievame sa, že väčšinu odľahlých (extrémnych) hodnôt sme vylúčili práve z dôvodu uvedených laboratórnych vplyvov, resp. z dôvodu ovplyvnenia celej vzorky

už vo fáze predanalytického skladovania, či samotného odberu. Pri porovnávaní a najmä pri absolútnej kvantifikácii množstva mastných kyselín v určitom orgáne je nutné zabezpečiť jeho „reprezentatívnosť“, jednotný spôsob a anatomickeo-histologickú lokalitu odberu a vytvoriť identické podmienky predanalytického skladovania všetkých vzoriek.

Čo sa týka porovnania množstva zásob mastných kyselín³⁰ v tkanivách medzi „zdravou“ skupinou A a „patologickou“ skupinou M, dospeli sme k nasledujúcim zisteniam:

- V **krvi** boli štatisticky významné rozdiely zistené štyrikrát – v prípade DGLA, EPA a sumy ω -6 boli vyššie hodnoty zaznamenané v skupine A; v prípade ALA v skupine M.
- V **pečeni** boli štatisticky významné rozdiely zistené päťkrát – v prípade GLA, ALA, AA a sumy ω -3 boli vyššie hodnoty zaznamenané v skupine M; v prípade tMUFA v skupine A.
- V **srdci** boli štatisticky významné rozdiely zistené dvakrát – v prípade ALA a sumy ω -3 boli vyššie hodnoty zaznamenané v skupine M.
- Vo **svale** boli štatisticky významné rozdiely zistené šesťkrát – v prípade LA, GLA, DGLA, AA, DHA a ω -6, všetky v skupine A.
- V **ľadvinách** boli štatisticky významné rozdiely zistené rovnako šesťkrát – v prípade LA, GLA, AA, ω -6 a pomeru AA/EPA boli vyššie hodnoty zaznamenané v skupine A; v prípade tMUFA v skupine M.

Ak vychádzame zo všeobecných poznatkov, že väčšina mediátorov vytvorených z EPA (ω -3) má protizápalové účinky, a naopak eikozanoidy vytvorené z AA (ω -6) zápal podnecujú [13], dalo by sa predpokladať, že pri prebiehajúcim zápalovom procese budú zásoby ω -6 PUFA pomerne nízke, pretože sa vyčerpali na tvorbu prozápalových mediátorov. To by korešpondovalo s naším zistením, že pri každom zaznamenaní štatisticky významného rozdielu medzi skupinami v prípade sumy ω -6 PUFA (krv, sval, ľadviny), sme vyšší obsah zaznamenali v skupine A, kde u kadáverov zápal dlhodobo neprebíhal, tzn. netvorí sa prozápalové mediátory, ktoré by zásoby ω -6 PUFA vyčerpali. Vo svale sme štatisticky významný vyšší obsah

³⁰ Uvádžame na tomto mieste iba závery porovnaní, ktoré sa týkajú hodnôt ω -3 a ω -6 PUFA, ich súm, pomeru AA/EPA, tMUFA a tSFA.

zaznamenali aj pre všetky jednotlivé ω -6 PUFA (LA, GLA, DGLA, AA); v prípade ľadvín pre LA, GLA, AA a v prípade krvi pre DGLA.

Vyššie hodnoty sumy ω -3 PUFA sa naopak pri zistení štatisticky významného rozdielu medzi skupinami objavili v skupine M, a to v srdci a pečeni. V tejto skupine bol v oboch tkanivách zaznamenaný štatisticky významný vyšší obsah i v prípade esenciálnej ALA, východiskovej látky enzymatickej premeny ω -3 PUFA. Pre ALA sme štatisticky významný vyšší obsah v skupine M zaznamenali aj v prípade krvi.

Ak sa pozrieme na štatisticky významné rozdiely v obsahu mastných kyselín zaznamenané medzi porovnávanými skupinami z pohľadu ich zásob („skladovania“) v metabolicky vysoko aktívnom tkanive (pečeň) a menej aktívnom (sval), uvidíme, že sval obsahoval vyššiu sumu ω -6 PUFA (a daných kyselín aj jednotlivo) v skupine A, zatiaľ čo metabolicky vysoko aktívna pečeň obsahovala vyššiu sumu ω -3 PUFA (a ALA), ale v skupine M.

Z uvedených zistení nemožno odvodiť žiadne kategorické závery, čo nakoniec ani nebolo našim zámerom. Tiež je potrebné zdôrazniť, že výskum v oblasti príjmu PUFA vzhľadom na ich deponovanie, mieru metabolickej aktivity a stav zásob v ľudskom organizme je iba v počiatkoch, a teda nie je mnoho dostupných zdrojov, s ktorými by bolo možné naše zistenia konfrontovať. Navyše sa aj v tom malom množstve doteraz existujúcej literatúry objavujú nejednoznačné, či až protichodné tvrdenia ohľadom vplyvu konkrétnych PUFA na určité patologické, prevažne zápalové, procesy.

Medzi limity našej práce je potrebné zahrnúť tiež veľkosť súboru kadáverov a jeho nesúrodosť. Okrem variability klinického stavu kadáverov a dĺžky prebiehajúceho zápalového procesu v skupine M sa nepochybne veľká interindividuálna variabilita vyskytovala aj v príjme PUFA a celkových diétnych návykoch, ktoré nám neboli známe ani u jednej skupiny. V tomto ohľade sa však možnosť presnejšieho sledovania vplyvu prijímaného množstva (ω -3) PUFA na zápal ukazuje napríklad u dlhodobo hospitalizovaných pacientov, ktorí sú umelo vyživovaní, prípadne sa im podávajú lipidové emulzie s predpokladaným terapeutickým účinkom. V týchto intenciách by sa mohlo rozvíjať aj prípadné ďalšie skúmanie v rámci *Výzkumné laboratoře III. interní gerontometabolické kliniky* u pacientov vo Fakultnej nemocnici Hradec Králové.

Naše zistenia sa zakladajú na štatistickom testovaní, ktorého výsledky zodpovedajú nameraným číselným hodnotám. Tieto číselné údaje vyjadrujú zastúpenie mastných kyselín v jednotlivých analyzovaných vzorkách, ale je diskutabilné, nakoľko

toto zastúpenie korešponduje so skutočným zastúpením (a „stavom zásob“) v určitom orgáne – predovšetkým s ohľadom na predanalytickú fázu, ako už bolo vyššie uvedené. Záverom možno skonštatovať, že touto, i keď zdĺhavou metódou, sme boli schopní stanoviť spektrum mastných kyselín v získaných vzorkách, v každom prípade však táto problematika prináša stále viac otázok ako odpovedí.

Náš pokus o stanovenie môže znova upozorniť na dôležitosť konzumácie odporúčaného množstva jednotlivých PUFA v potrave a dopĺňania ich zásob, hlavne u dlhodobo nemocných a/alebo umelo vyživovaných pacientov. Takisto môže poukázať na potrebu ďalšieho skúmania možného terapeutického alebo aj profylaktického využitia lipidových emulzií, vzhľadom na protektívny účinok ω -3 PUFA či následnú priaznivejšiu prognózu. Obmedzujúcou je ale skutočnosť, že u žijúceho pacienta sú jedinými možnosťami odberu tkaniva len invazívne zákroky (biopsia vzoriek s mikroskopickými rozmermi) a odber krvi, takže použitie metódy sa prakticky ohraničuje iba na čisto výskumné účely.

6 Záver

Stanoveným cieľom predkladanej práce bolo zistiť zastúpenie polyénových mastných kyselín vo vybraných tkanivách ľudského organizmu.

Metódou plynovej chromatografie s plameňovo-ionizačnou detekciou sme analyzovali spektrum mastných kyselín v krvi, pečeni, svaloch, srdci a ľadvinách u dvoch skupín kadáverov. Prvú skupinu sme považovali za „nepatologickú“ v zmysle náhleho úmrtia z vonkajšej príčiny u inak zdravého jedinca. Druhú „patologickú“ skupinu tvorili dlhodobí nemocní, starší polymorbidní pacienti. Tieto skupiny sme sa po štatistickom spracovaní nameraných údajov pokúsili vzájomne porovnať, a to s ohľadom na prítomnosť a vplyv zápalového procesu v organizme.

Prihliadnuc k metodologickým úskaliam, veľkosti výskumného súboru a variabilite jeho subjektov by bolo z nami zistených štatisticky významných rozdielov medzi skupinami neadekvátne vyvodzovať jednoznačné závery. Obmedzili sme sa preto len na popisný spôsob zhodnotenia získaných výsledkov a naznačili sme možné zdôvodnenie pôsobenia zápalu na stav zásob polynenasýtených mastných kyselín v konkrétnom tkanive (orgáne) danej skupiny.

Okrem všeobecne platného odporúčania zvýšiť z preventívneho hľadiska príjem ω -3 PUFA v potrave, je možné taktiež ich terapeutické využitie. Hovorí sa o tzv. nutričnej farmakológii, kedy cieľná výživa pri určitom ochorení môže podporiť boj organizmu s daným ochorením (*disease specific nutrition*). Tieto látky sa využívajú ako priame terapeutiká, ale najmä ako podporná terapia či ako nosiče liekov.

Z hľadiska ω -3 PUFA a ich zásob v organizme nie je táto problematika zatiaľ hlboko preskúmaná, čo sa odrazilo aj na množstve dostupnej literatúry. Ukazuje sa však, že pri chirurgických zákrokoch predoperačná perorálna alebo pooperačná par-/enterálna diéta s obsahom ω -3 PUFA zlepšuje pooperačnú zápalovú a imunitnú odpoveď a znižuje infekciu. Diéta so zvýšeným príjmom ω -3 PUFA rovnako pozitívne pôsobí na nádorovú kachexiu a kvalitu života. V kombinácii so štandardnou chemoterapeutickou alebo ožarovacou terapiou je diéta s obsahom ω -3 PUFA netoxický spôsob, ako zvýšiť účinky terapie. Samotné použitie ω -3 PUFA môže byť užitočným prístupom v prípade, keď je toxická štandardná terapia vylúčená.

K širšiemu využitiu ω -3 PUFA ako terapeutických zložiek je však potrebné priniesť ďalšie vedecké dôkazy ako v experimentálnej, tak v klinickej oblasti.

Zoznam obrázkov

Obr. 1	Štruktúry esenciálnych mastných kyselín.....	12
Obr. 2	Enzymatická premena polynenasýtených mastných kyselín.....	15
Obr. 3	Historické zmeny v príjme lipidov v potrave.....	16
Obr. 4	Syntéza eikozanoidov z kyseliny arachidónovej.....	21
Obr. 5	Syntéza eikozanoidov z kyseliny eikozapentaénovej.....	22
Obr. 6	Tvorba lipidových mediátorov z AA, EPA a DHA.....	24
Obr. 7	Protektín PD1.....	27
Obr. 8	Dôsledky zvýšeného príjmu ω -3 kyselín.....	29
Obr. 9	Záznam štandardu mastných kyselín.....	42
Obr. 10	Kyselina linolová – priemerné percentuálne zastúpenie v jednotlivých tkanivách.....	48
Obr. 11	Kyselina linolová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M.....	49
Obr. 12	Kyselina γ -linolénová – priemerné percentuálne zastúpenie v jednotlivých tkanivách.....	50
Obr. 13	Kyselina γ -linolénová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M.....	51
Obr. 14	Kyselina α -linolénová – priemerné percentuálne zastúpenie v jednotlivých tkanivách.....	52
Obr. 15	Kyselina α -linolénová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M.....	53
Obr. 16	Kyselina dihomo- γ -linolénová – priemerné percentuálne zastúpenie v jednotlivých tkanivách.....	54
Obr. 17	Kyselina dihomo- γ -linolénová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M.....	55
Obr. 18	Kyselina arachidónová – priemerné percentuálne zastúpenie v jednotlivých tkanivách.....	56
Obr. 19	Kyselina arachidónová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M.....	57
Obr. 20	Kyselina eikozapentaénová – priemerné percentuálne zastúpenie v jednotlivých tkanivách.....	58
Obr. 21	Kyselina eikozapentaénová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M.....	59

Obr. 22	Kyselina dokozahexaénová – priemerné percentuálne zastúpenie v jednotlivých tkanivách	60
Obr. 23	Kyselina dokozahexaénová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M.....	61
Obr. 24	Suma nasýtených mastných kyselín – priemerné percentuálne hodnoty v jednotlivých tkanivách	62
Obr. 25	Suma nasýtených mastných kyselín – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M.....	63
Obr. 26	Suma mononenasýtených mastných kyselín – priemerné percentuálne hodnoty v jednotlivých tkanivách	64
Obr. 27	Suma mononenasýtených mastných kyselín – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M.....	65
Obr. 28	Suma ω -6 polynenasýtených mastných kyselín – priemerné percentuálne hodnoty v jednotlivých tkanivách	66
Obr. 29	Suma ω -6 polynenasýtených mastných kyselín – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M.....	67
Obr. 30	Suma ω -3 polynenasýtených mastných kyselín – priemerné percentuálne hodnoty v jednotlivých tkanivách	68
Obr. 31	Suma ω -3 polynenasýtených mastných kyselín – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M.....	69
Obr. 32	Priemerné hodnoty pomeru kyseliny arachidónovej a kyseliny eikozapentaénovej v jednotlivých tkanivách.....	70
Obr. 33	Pomer kyseliny arachidónovej a kyseliny eikozapentaénovej – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M.....	71

Zoznam tabuliek

Tab. 1	Prehľad vybraných mastných kyselín.....	11
Tab. 2	Syntéza leukotriénov v jednotlivých druhoch buniek	23
Tab. 3	Charakteristika skupiny A	45
Tab. 4	Charakteristika skupiny M.....	46
Tab. 5	Vekové zloženie výskumného súboru	47
Tab. 6	Kyselina linolová – deskriptívna štatistika	48
Tab. 7	Kyselina linolová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M.....	49
Tab. 8	Kyselina γ -linolénová – deskriptívna štatistika	50
Tab. 9	Kyselina γ -linolénová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M.....	51
Tab. 10	Kyselina α -linolénová – deskriptívna štatistika.....	52
Tab. 11	Kyselina α -linolénová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M.....	53
Tab. 12	Kyselina dihomogamma-linolénová – deskriptívna štatistika	54
Tab. 13	Kyselina dihomogamma-linolénová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M.....	55
Tab. 14	Kyselina arachidónová – deskriptívna štatistika	56
Tab. 15	Kyselina arachidónová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M.....	57
Tab. 16	Kyselina eikozapentaénová – deskriptívna štatistika	58
Tab. 17	Kyselina eikozapentaénová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M.....	59
Tab. 18	Kyselina dokozaheptaénová – deskriptívna štatistika	60
Tab. 19	Kyselina dokozaheptaénová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M.....	61
Tab. 20	Suma nasýtených mastných kyselín – deskriptívna štatistika	62
Tab. 21	Suma nasýtených mastných kyselín – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M.....	63
Tab. 22	Suma mononenasýtených mastných kyselín – deskriptívna štatistika	64
Tab. 23	Suma mononenasýtených mastných kyselín – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M.....	65
Tab. 24	Suma ω -6 polynenasýtených mastných kyselín – deskriptívna štatistika	66

Tab. 25	Suma ω -6 polynenasýtených mastných kyselín – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M.....	67
Tab. 26	Suma ω -3 polynenasýtených mastných kyselín – deskriptívna štatistika	68
Tab. 27	Suma ω -3 polynenasýtených mastných kyselín – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M.....	69
Tab. 28	Pomer kyseliny arachidónovej a kyseliny eikozapentaénovej – deskriptívna štatistika	70
Tab. 29	Pomer kyseliny arachidónovej a kyseliny eikozapentaénovej – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M.....	71
Tab. 30	Súhrn štatisticky významných rozdielov	72
Tab. 31	Súhrnné zobrazenie najnižších/najvyšších priemerných hodnôt súm mastných kyselín a pomeru AA/EPA	73

Zoznam použitej literatúry

- [1] Murray, R. K.; Bender, D. A.; Botham, K. M.; Kennelly, P. J.; Rodwell, V. W.; Weil, P. A. *Harperova ilustrovaná biochemie*; Galén: Praha, CZ, **2012**.
- [2] Ledvina, M.; Stoklasová, A.; Cerman, J. *Biochemie pro studující medicíny. I. díl*; Karolinum: Praha, CZ, **2006**.
- [3] Koolman, J.; Röhm, K.-H. *Barevný atlas biochemie*; Grada Publishing, a.s.: Praha, CZ, **2012**.
- [4] Matouš, B. et al. *Základy lékařské chemie a biochemie*; Galén: Praha, CZ, **2010**.
- [5] Das, U. N. Essential Fatty Acids: Biochemistry, Physiology and Pathology. *J. Biotechnol.* **2006**, *1*, 420-439.
- [6] Guesnet, P.; Alessandri J.-M. Docosahexaenoic Acid (DHA) and the Developing Central Nervous System (CNS) – Implications for Dietary Recommendations. *Biochimie* **2011**, *93*, 7-12.
- [7] Joffre, C.; Nadjar, A.; Lebbadi, M.; Calon, F.; Laye, S. n-3 LCPUFA Improves Cognition: The Young, the Old and the Sick. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* **2014**, *91*, 1-20.
- [8] Cazzola, R.; Rondanelli, M.; Faliva, M.; Cestaro, B. Effects of DHA-Phospholipids, Melatonin and Tryptophan Supplementation on Erythrocyte Membrane Physico-Chemical Properties in Elderly Patients Suffering from Mild Cognitive Impairment. *Exp. Gerontol.* **2012**, *47*, 974-978.
- [9] Yamaguchi, H.; Maat-Schieman, M.L.; van Duinen, S.G.; Prins, F.A.; Neeskens, P.; Natté, R.; Roos, R. A. C. Amyloid β Protein ($A\beta$) Starts to Deposit as Plasma Membrane-Bound Form in Diffuse Plaques of Brains from Hereditary Cerebral Hemorrhage with Amyloidosis-Dutch Type, Alzheimer Disease and Nondemented Aged Subjects. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **2000**, *59*, 723-732.
- [10] Schubert, M.; Gautam, D.; Surjo, D.; Ueki, K.; Baudler, S.; Schubert, D.; Kondo, T.; Alber, J.; Galldiks, N.; Kustermann, E.; Arndt, S.; Jacobs, A. H.; Krone, W.; Kahn, C. R.; Bruning, J. C. Role for Neuronal Insulin Resistance in Neurodegenerative Diseases. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2004**, *101*, 3100-3105.
- [11] Correia, S. C.; Santos, R. X.; Perry, G.; Zhu, X.; Moreira, P. I.; Smith, M. A. Insulin-Resistant Brain State: The Culprit in Sporadic Alzheimer's Disease? *Ageing Res. Rev.* **2011**, *10*, 264-273.
- [12] Rondanelli, M.; Opizzi, A.; Faliva, M.; Mozzoni, M.; Antonello, N.; Cazzola, R.; Savar, R.; Cerutti, R.; Grossi, E.; Cestaro, B. Effects of a Diet Integration with an Oily Emulsion of DHA-Phospholipids Containing Melatonin and Tryptophan in Elderly Patients Suffering from Mild Cognitive Impairment. *Nutr. Neurosci.* **2012**, *15*, 46-54.

-
- [13] Schmitz, G.; Ecker, J. The Opposing Effect of n-3 and n-6 Fatty Acids. *Prog. Lipid Res.* **2008**, *47*, 147-155.
- [14] Barceló-Coblijn, G.; Murphy, E. J. Alpha-Linolenic Acid and Its Conversion to Longer Chain n-3 Fatty Acids: Benefits for Human Health and a Role in Maintaining Tissue n-3 Fatty Acids Levels. *Prog. Lipid Res.* **2009**, *48*, 355-374.
- [15] Simopoulos, A. P. The Importance of the ω -6/ ω -3 Fatty Acid Ratio in Cardiovascular Disease and Other Chronic Diseases. *Exp. Biol. Med. (Maywood)* **2008**, *233*, 674-688.
- [16] Hofmanová, J. *Genotoxicita a karcinogeneze*; Masarykova univerzita: Brno, CZ, **2013**.
- [17] Blatná, J. et al. *Výživa na začátku 21. století, aneb, O výživě aktuálně a se zárukou*; Společnost pro výživu: Nadace NutriVIT: Praha, CZ, **2005**.
- [18] Svačina, Š.; Müllerová, D.; Bretšnajdrová, A. *Dietologie pro lékaře, farmaceuty, zdravotní sestry a nutriční terapeuty*; Triton: Praha, CZ, **2013**.
- [19] Mourek, J. et al. *Mastné kyseliny omega-3 – zdraví a vývoj*; Triton: Praha, CZ, **2009**.
- [20] Dyerberg, J.; Eskesen, D. C.; Andersen, P. W.; Astrup, A.; Buemann, B.; Christensen, J. H.; Clausen, P.; Rasmussen, B. F.; Schmidt, E. B.; Tholstrup, T.; Toft, E.; Toubro, S.; Stender, S. Effects of Trans- and n-3 Unsaturated Fatty Acids on Cardiovascular Risk Markers in Healthy Males. An 8 Weeks Dietary Intervention Study. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2004**, *58*, 1062-1070.
- [21] Dlouhý, P.; Pokorný, J.; Dostálová, J. Příjem trans-nenasycených izomerů mastných kyselin v ČR. *Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa: časopis pro postgraduální vzdělávání* **2004**, *7*, 136-138.
- [22] Komprda, T. *Výživou ke zdraví*; Velké Bílovice: TeMi CZ, CZ, **2009**.
- [23] Calder, P. C. Polyunsaturated Fatty Acids and Inflammatory Processes: New Twists in an Old Tale. *Biochimie* **2009**, *91*, 791-795.
- [24] Bone, R. C.; Balk, R. A.; Cerra, F. B.; Dellinger, R. P.; Fein, A. M.; Knaus, W. A.; Schein, R. M. H.; Sibbald, W. J. Definitions of Sepsis and Organ Failure and Guidelines for the Use of Innovative Therapies in Sepsis. *Chest* **1992**, *101*, 1644-1655.
- [25] Calder, P. C. The 2008 ESPEN Sir David Cuthbertson Lecture: Fatty Acids and Inflammation – From the Membrane to the Nucleus and from the Laboratory Bench to the Clinic. *Clin. Nutr.* **2010**, *29*, 5-12.
- [26] Bannenberg, G.; Serhan, C. N. Specialized Pro-Resolving Lipid Mediators in the Inflammatory Response: An Update. *Biochim. Biophys. Acta* **2010**, *1801*, 1260-1273.
- [27] Uddin, M.; Levy, B. D. Resolvins: Natural Agonists for Resolution of Pulmonary Inflammation. *Prog. Lipid Res.* **2011**, *50*, 75-88.
- [28] Serhan, C. N. Resolution Phase of Inflammation: Novel Endogenous Anti-Inflammatory and Proresolving Lipid Mediators and Pathways. *Annu. Rev. Immunol.* **2007**, *25*, 101-137.
- [29] Levy, B. D.; De Sanctis, G. T.; Devchand, P. R.; Kim, E.; Ackerman, K.; Schmidt, B. A.; Szczeklik, W.; Drazen, J. M.; Serhan, C. N. Multi-Pronged Inhi-
-

-
- bition of Airway Hyper-Responsiveness and Inflammation by Lipoxin A(4). *Nat. Med.* **2002**, *8*, 1018-1023.
- [30] Serhan, C. N. Lipoxins and Aspirin-Triggered 15-epi-Lipoxins are the First Lipid Mediators of Endogenous Anti-Inflammation and Resolution. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* **2005**, *73*, 141-162.
- [31] Levy, B. D.; Lukacs, N. W.; Berlin, A. A.; Schmidt, B.; Guilford, W. J.; Serhan, C. N.; Parkinson, J. F. Lipoxin A(4) Stable Analogs Reduce Allergic Airway Responses via Mechanisms Distinct From CysLT1 Receptor Antagonism. *FASEB J.* **2007**, *21*, 3877-3884.
- [32] Bonnans, C.; Levy, B. D. Lipid Mediators as Agonists for the Resolution of Acute Lung Inflammation and Injury. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* **2007**, *36*, 201-205.
- [33] Serhan, C. N.; Clish, C. B.; Brannon, J.; Colgan, S. P.; Chiang, N.; Gronert, K. Novel Functional Sets of Lipid-Derived Mediators with Antiinflammatory Actions Generated from Omega-3 Fatty Acids via Cyclooxygenase 2–Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs and Transcellular Processing. *J. Exp. Med.* **2000**, *192*, 1197-1204.
- [34] Serhan, C. N.; Hong, S.; Gronert, K.; Colgan, S. P.; Devchand, P. R.; Mirick, G.; Moussignac, R.-L. Resolvins: A Family of Bioactive Products of Omega-3 Fatty Acid Transformation Circuits Initiated by Aspirin Treatment That Counter Pro-inflammation Signals. *J. Exp. Med.* **2002**, *196*, 1025-1037.
- [35] Arita, M.; Bianchini, F.; Aliberti, J.; Sher, A.; Chiang, N.; Hong, S.; Yang, R.; Petasis, N. A.; Serhan, C. N. Stereochemical Assignment, Antiinflammatory Properties, and Receptor for the Omega-3 Lipid Mediator Resolvin E1. *J. Exp. Med.* **2005**, *201*, 713-722.
- [36] Serhan, C. N.; Gotlinger, K.; Hong, S.; Arita, M. Resolvins, Docosatrienes, and Neuroprotectins, novel Omega-3-Derived Mediators, and Their Aspirin-Triggered Endogenous Epimers: An Overview of Their Protective Roles in Catabasis. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* **2004**, *73*, 155-172.
- [37] Hong, S.; Gronert, K.; Devchand, P. R.; Moussignac, R.-L.; Serhan, C. N. Novel Docosatrienes and 17S-resolvins Generated From Docosahexaenoic Acid in Murine Brain, Human Blood and Glial Cells: Autocoids in Anti-Inflammation. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 14677-14687.
- [38] Mukherjee, P. K.; Marcheselli, V. L.; Serhan, C. N.; Bazan, N. G. Neuroprotectin D1: A Docosahexaenoic Acid-Derived Docosatriene Protects Human Retinal Pigment Epithelial Cells From Oxidative Stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2004**, *101*, 8491-8496.
- [39] Marcheselli, V. L.; Hong, S.; Lukiw, W. J.; Tian, X. H.; Gronert, K.; Musto, A.; Hardy, M.; Gimenez, J. M.; Chiang, N.; Serhan, C. N.; Bazan, N. G. Novel Docosanoids Inhibit Brain Ischemia-Reperfusion-Mediated Leukocyte Infiltration and Pro-inflammatory Gene Expression. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 43807-43817.
-

-
- [40] Ariel, A.; Li, P.L.; Wang, W.; Tang, W.-X.; Fredman, G.; Hong, S.; Gotlinger, K. H.; Serhan, C. N. The Docosatriene Protectin D1 Is Produced by TH2 Skewing and Promotes Human T-Cell Apoptosis via Lipid Raft Clustering. *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 43079-43086.
- [41] Serhan, C. N.; Dalli, J.; Colas, R. A.; Winkler, J. W.; Chiang, N. Protectins and Maresines: New Pro-Resolving Families of Mediators in Acute Inflammation and Resolution Bioactive Metabolome. *Biochim. Biophys. Acta* **2015**, *1851*, 397-413.
- [42] Hong, S.; Tjonahen, E.; Morgan, E. L.; Lu, Y.; Serhan, C. N.; Rowley, A. F. Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) Brain Cells Biosynthesize Novel Docosahexaenoic Acid-Derived Resolvins and Protectins – Mediator Lipidomic Analysis. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* **2005**, *78*, 107-116.
- [43] Bazan, N. G.; Calandria, J. M.; Serhan, N. C. Rescue and Repair During Photoreceptor Cell Renewal Mediated by Docosahexaenoic Acid-Derived Neuroprotectin D1. *J. Lipid Res.* **2010**, *51*, 2018-2031.
- [44] Stark, D. T.; Bazan, N. G. Neuroprotectin D1 Induces Neuronal Survival and Downregulation of Amyloidogenic Processing in Alzheimer's Disease Cellular Models. *Mol. Neurobiol.* **2011**, *43*, 131-138.
- [45] Salem Jr., N.; Litman, B.; Kim, H.-Y.; Gawrisch, K. Mechanisms of Action of Docosahexaenoic Acid in the Nervous System. *Lipids* **2001**, *36*, 945-959.
- [46] Ariel, A.; Fredman, G.; Apoptotic Neutrophils and T-Cells Sequester Chemokines During Immune Response Resolution Through Modulation of CCR5 Expression. *Nat. Immunol.* **2006**, *7*, 1209-1216.
- [47] Serhan, C. N.; Savill, J. Resolution of Inflammation: The Beginning Programs the End. *Nat. Immunol.* **2005**, *6*, 1191-1197.
- [48] Hassan, I. R.; Gronert, K. Acute Changes in Dietary ω -3 and ω -6 Polyunsaturated Fatty Acids Have a Pronounced Impact on Survival following Ischemic Renal Injury and Formation of Renoprotective Docosahexaenoic Acid-Derived Protectin D1. *J. Immunol.* **2009**, *182*, 3223-3232.
- [49] Cortina, M. S.; He, J.; Li, N.; Bazan, N. G.; Bazan, H. E. P. Neuroprotectin D1 Synthesis and Corneal Nerve Regeneration after Experimental Surgery and Treatment with PEDF plus DHA. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2010**, *51*, 804-810.
- [50] Yanes, O.; Clark, J.; Wong, D. M.; Patti, G. J.; Sánchez-Ruiz, A.; Benton, H. P.; Trauger, S. A.; Despons, C.; Ding, S.; Siuzdak, G. Metabolic Oxidation Regulates Embryonic Stem Cell Differentiation. *Nat. Chem. Biol.* **2010**, *6*, 411-417.
- [51] Park, H. J.; Lee, Y. W.; Hennig, B.; Toborek, M. Linoleic Acid-Induced VCAM-1 Expression In Human Microvascular Endothelial Cells Is Mediated by the NF- κ B-Dependent Pathway. *Nutr. Cancer* **2001**, *41*, 126-134.
- [52] Dichtl, W.; Ares, M. P. S.; Niemann Jönsson, A. N.; Jovinge, S.; Pachinger, O.; Giachelli, C. M.; Hamsten, A.; Eriksson, P.; Nilsson, J. Linoleic Acid-Stimulated
-

-
- Vascular Adhesion Molecule-1 Expression in Endothelial Cells Depends on Nuclear Factor- κ B Activation. *Metabolism* **2002**, *51*, 327-33.
- [53] Toborek, M.; Blanc, E. M.; Kaiser, S.; Mattson, M. P.; Hennig, B. Linoleic Acid Potentiates TNF-Mediated Oxidative Stress, Disruption of Calcium Homeostasis, and Apoptosis of Cultured Vascular Endothelial Cells. *J. Lipid Res.* **1997**, *38*, 2155-2167.
- [54] Hennig, B.; Meerarani, P.; Ramadass, P.; Watkins, B. A.; Toborek, M. Fatty Acid-Induced Activation of Vascular Endothelial Cells. *Metabolism* **2000**, *49*, 1006-1013.
- [55] Toborek, M.; Lee, Y. W.; Garrido, R. S.; Hennig, B. Unsaturated Fatty Acids Selectively Induce an Inflammatory Environment in Human Endothelial Cells. *Am. J. Clin. Nutr.* **2002**, *75*, 119-125.
- [56] Camandola, S.; Leonarduzzi, G.; Musso, T.; Varesio, L.; Carini, R.; Scavazza, A.; Chiarpotto, E.; Baeuerle, P. A.; Poli, G. et al. Nuclear Factor κ B is Activated by Arachidonic Acid But Not by Eicosapentenoic Acid. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1996**, *229*, 643-647.
- [57] Priante, G.; Bordin, L.; Musacchio, E.; Clari, G.; Baggio, B. Fatty Acids and Cytokine mRNA Expression in Human Osteoblastic Cells: A Specific Effect of Arachidonic Acid. *Clin. Sci.* **2002**, *102*, 403-409.
- [58] Bagga, D.; Wang, L.; Farias-Eisner, R.; Glaspy, J. A.; Reddy, S. T. Differential Effects of Prostaglandin Derived From ω -6 and ω -3 Polyunsaturated Fatty Acids on COX-2 Expression and IL-6 Secretion. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2003**, *100*, 1751-1756.
- [59] Bordin, L.; Priante, G.; Musacchio, E.; Giunco, S.; Tibaldi, E.; Clari, G.; Baggio, B. Arachidonic Acid-Induced IL-6 Expression is Mediated by PKC- α Activation in Osteoblastic Cells. *Biochemistry* **2003**, *42*, 4485-4491.
- [60] Tilley, S. L.; Coffman, T. M.; Koller, B. H. Mixed Messages: Modulation of Inflammation and Immune Responses by Prostaglandins and Thromboxanes. *J. Clin. Invest.* **2001**, *108*, 15-23.
- [61] Calder, P. C. The Relationship Between the Fatty Acid Composition of Immune Cells and Their Function. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* **2008**, *79*, 101-108.
- [62] Yaqoob, P.; Calder, P. C. Fatty Acids and Immune Function: New Insights Into Mechanisms. *Br. J. Nutr.* **2007**, *98*, S41-45.
- [63] von Schacky, C.; Kiefl, R.; Jendraschak, E.; Kaminski, W. E. n-3 Fatty Acids and Cysteinyl-Leukotriene Formation In Humans in Vitro, ex Vivo and in Vivo. *J. Lab. Clin. Med.* **1993**, *121*, 302-309.
- [64] Meydani, S. N.; Lichtenstein, A. H.; Cornwall, S.; Meydani, M.; Goldin, B. R.; Rasmussen, H.; Dinarello, C. A.; Schaefer, E. J. Immunologic Effects of National Cholesterol Education Panel Step-2 Diets With and Without Fish-Derived n-3 Fatty Acid Enrichment. *J. Clin. Invest.* **1993**, *92*, 105-113.
- [65] Trebble T. M.; Wootton, S. A.; Miles, E. A.; Mullee, M.; Arden, N. K.; Ballinger, A. B.; Stroud, M. A.; Burdge, G. C.; Calder, P. C. Prostaglandin E2
-

-
- Production and T-Cell Function After Fish-Oil Supplementation: Response to Antioxidant Co-Supplementation. *Am. J. Clin. Nutr.* **2003**, *78*, 376-382.
- [66] Caughey, G. E.; Mantzioris, E.; Gibson, R. A.; Cleland, L. G.; James, M. J. The Effect on Human Tumor Necrosis Factor α and Interleukin 1β Production of Diets Enriched in n-3 Fatty Acids From Vegetable Oil or Fish Oil. *Am. J. Clin. Nutr.* **1996**, *63*, 116-122.
- [67] Carrasco-Pancorbo, A.; Navas-Iglesias, N.; Cuadros-Rodríguez, L. From Lipid Analysis Towards Lipidomics, a New Challenge for the Analytical Chemistry of the 21st Century. Part I: Modern Lipid Analysis. *Trends Anal. Chem.* **2009**, *28*, 263-278.
- [68] Christie, W. W. *Gas Chromatography And Lipids: A Practical Guide*; The Oily Press: Bridgwater, UK, **1989**.
- [69] Christie, W. W. *Lipid Analysis. Isolation, Separation, Identification and Structural Analysis of Lipids*; The Oily Press: Bridgwater, UK, **2003**.
- [70] Lin, J. H.; Liu, L. Y.; Yang, M. H.; Lee, M. H. Ethyl Acetate/Ethyl Alcohol Mixtures As an Alternative to Folch Reagent for Extracting Animal Lipids. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 4984-6.
- [71] Matyash, V.; Liebisch, G.; Kurzchalia, T. V.; Shevchenko, A.; Schwudke, D. Lipid Extraction by Methyl-tert-butylether for High-Throughput Lipidomics. *J. Lipid Res.* **2008**, *49*, 1137-1146.
- [72] Shantha, N. C.; Napolitano, G. E. Gas Chromatography of Fatty Acids. *J. Chromatogr. A* **1992**, *624*, 37-51.
- [73] Ruiz-Rodríguez, A.; Reglero, G.; Ibañez, E. Recent Trends in the Advanced Analysis of Bioactive Fatty Acids. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2010**, *51*, 305-326.
- [74] Eder, K. Gas Chromatographic Analysis of Fatty Acid Methyl Esters. *J. Chromatogr. B* **1995**, *671*, 113-131.
- [75] Liu, K.-S. Preparation of Fatty Acid Methyl Esters for Gas-Chromatographic Analysis of Lipids in Biological Materials. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1994**, *71*, 1179-1187.
- [76] Klouda, P. *Moderní analytické metody*; Pavko: Ostrava, CZ, **2016**.
- [77] Seppänen-Laakso, T.; Laakso, I.; Hiltunen, R. Analysis of Fatty Acids by Gas Chromatography, and Its Relevance to Research on Health and Nutrition. *Anal. Chim. Acta* **2002**, *465*, 39-62.
- [78] Bannon, C. D.; Craske, J. D.; Felder, D. L.; Garland, I. J.; Norman, L. M. Analysis of Fatty Acid Methyl Esters with High Accuracy and Reliability: VI. Rapid Analysis by Split Injection Capillary Gas-Liquid Chromatography. *J. Chromatogr. A* **1987**, *407*, 231-241.
- [79] Eder, K.; Reichlmayr-Lais, A. M.; Kirchgessner, M. Gas Chromatographic Analysis of Fatty Acid Methyl Esters: Avoiding Discrimination by Programmed Temperature Vaporizing Injection. *J. Chromatogr. A* **1991**, *588*, 265-272.
-

-
- [80] Churáček, J. *Analytická separace látek*, Státní nakladatelství technické literatury: Praha, CZ, **1990**.
- [81] Ohta, A.; Mayo, M. C.; Kramer, N.; Lands, W. E. M. Rapid Analysis of Fatty Acids in Plasma Lipids. *Lipids*, **1990**, *25*, 742-747.
- [82] Ruiz-Gutierrez, V.; Montero, E.; Villar, J. Determination of Fatty Acid and Triacylglycerol Composition of Human Adipose Tissue. *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.* **1992**, *581*, 171-178.
- [83] Welz, W.; Sattler, W.; Leis, H.-J.; Malle, E. Rapid Analysis of Non-Esterified Fatty Acids as Methyl Esters from Different Biological Specimens by Gas Chromatography after One-Step Esterification. *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.* **1990**, *526*, 319-329.
- [84] McNair, H. M.; Miller, J. M. *Basic Gas Chromatography*, John Wiley & Sons: Hoboken, USA, **2009**.

Zoznam príloh

Príloha A: Ostatné tabuľky a grafy

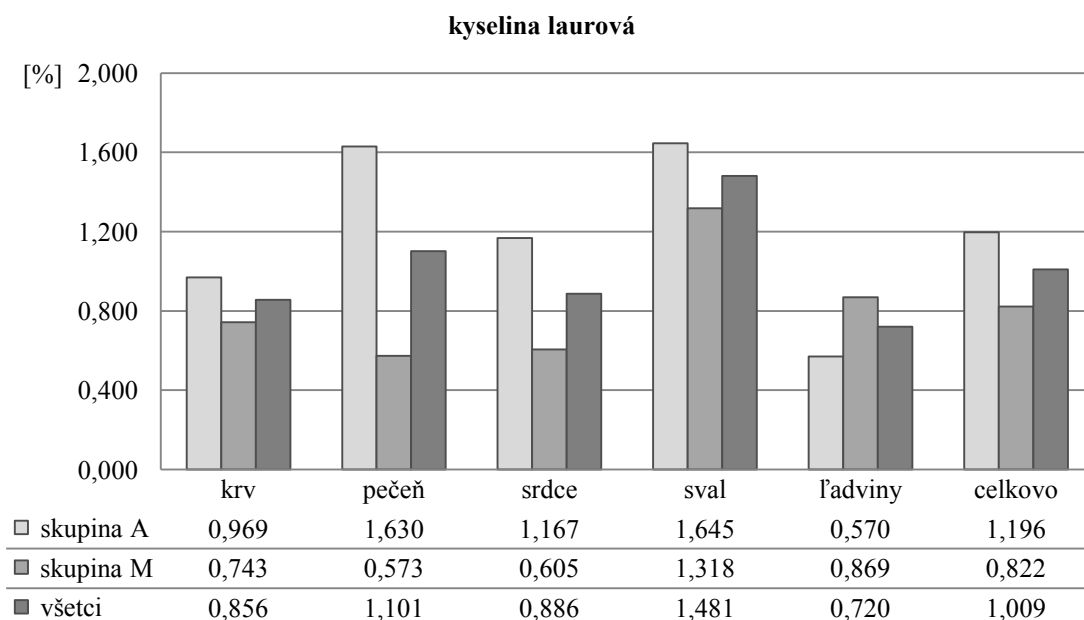
Príloha B: Stanovenie mastných kyselín v ľudských tkanivách

Ostatné tabuľky a grafy

Tab. 1 Kyselina laurová – deskriptívna štatistika

kyselina laurová										
	krv A	krv M	pečeň A	pečeň M	srdce A	srdce M	sval A	sval M	ľadviny A	ľadviny M
počet hodnôt	14	10	16	10	15	10	16	10	12	10
min.	0,374	0,429	0,344	0,213	0,139	0,208	0,680	0,219	0,259	0,197
max.	1,950	1,543	4,688	1,245	1,875	1,133	2,601	3,249	0,940	2,784
arit. priemer	0,969	0,743	1,630	0,573	1,167	0,605	1,645	1,318	0,570	0,869
SD	0,462	0,363	1,297	0,346	0,458	0,312	0,573	1,034	0,259	0,843
medián	0,887	0,618	1,086	0,545	1,318	0,495	1,744	0,954	0,540	0,504
25% percentil	0,617	0,455	0,566	0,270	0,888	0,365	1,178	0,588	0,315	0,321
75% percentil	1,217	1,032	2,349	0,820	1,479	0,899	2,134	2,464	0,831	1,402
normalita rozdelenia	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	nie	nie

Zdroj: Vlastné spracovanie



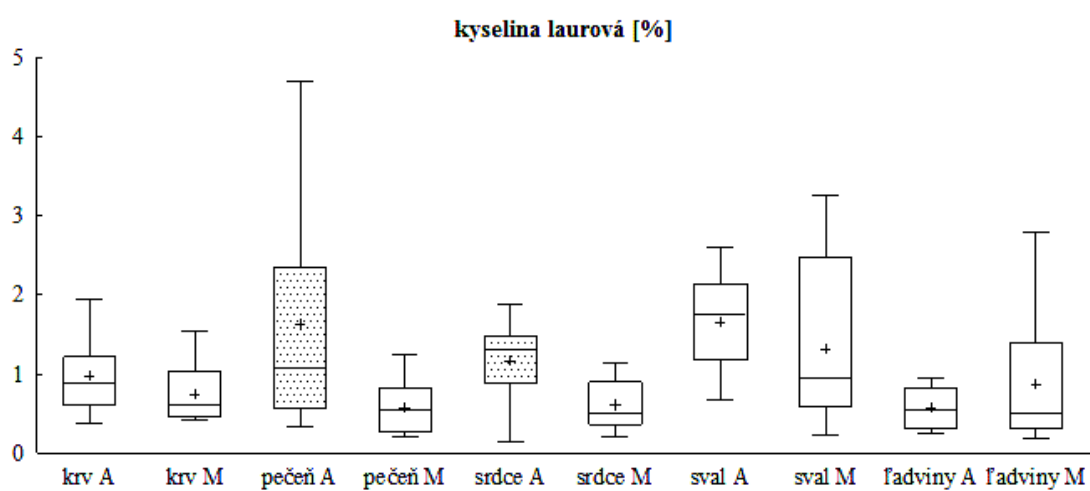
Obr. 1 Kyselina laurová – priemerné percentuálne zastúpenie v jednotlivých tkanivách

Zdroj: Vlastné spracovanie

Tab. 2 Kyselina laurová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

kyselina laurová		
skupina A		skupina M
krv	=	krv
pečeň	>	pečeň
srdce	>	srdce
sval	=	sval
ľadviny	=	ľadviny

Zdroj: Vlastné spracovanie



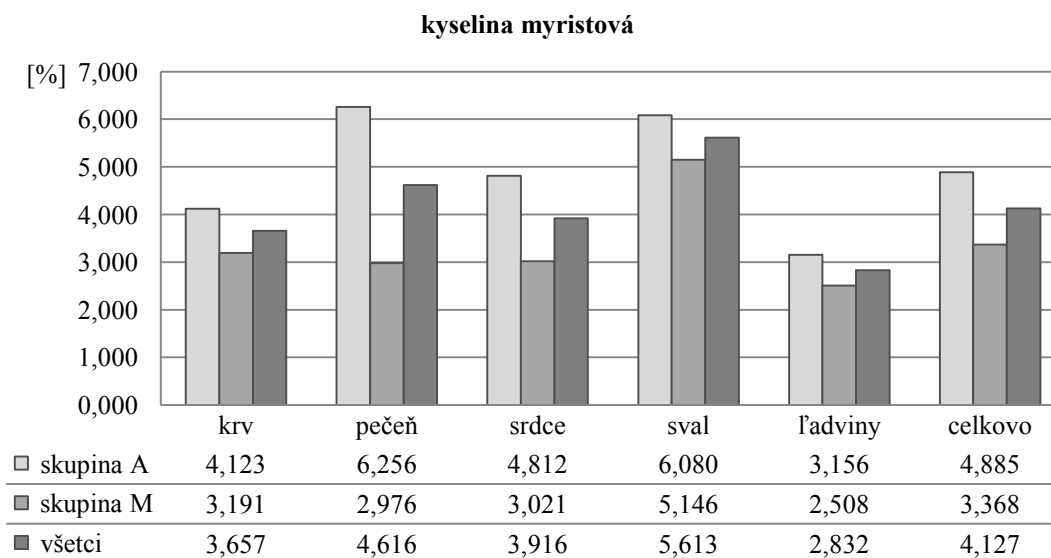
Obr. 2 Kyselina laurová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

Zdroj: Vlastné spracovanie

Tab. 3 Kyselina myristová – deskriptívna štatistika

kyselina myristová										
	krv A	krv M	pečeň A	pečeň M	srdce A	srdce M	sval A	sval M	ľadviny A	ľadviny M
počet hodnôt	14	9	16	10	16	10	16	10	14	6
min.	2,186	2,069	2,468	1,333	1,469	1,127	4,093	1,664	1,124	2,303
max.	6,227	3,856	11,586	4,602	8,629	4,320	9,100	8,501	5,590	2,660
arit. priemer	4,123	3,191	6,256	2,976	4,812	3,021	6,080	5,146	3,156	2,508
SD	1,331	0,556	2,549	1,164	1,996	0,945	1,508	2,025	1,110	0,142
medián	3,851	3,327	6,317	2,921	4,619	3,066	5,881	5,576	3,189	2,522
25% percentil	3,170	2,837	4,261	1,944	3,273	2,539	4,915	3,730	2,501	2,376
75% percentil	5,711	3,606	8,031	4,097	6,004	3,552	7,119	6,169	3,869	2,647
normalita rozdelenia	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno

Zdroj: Vlastné spracovanie



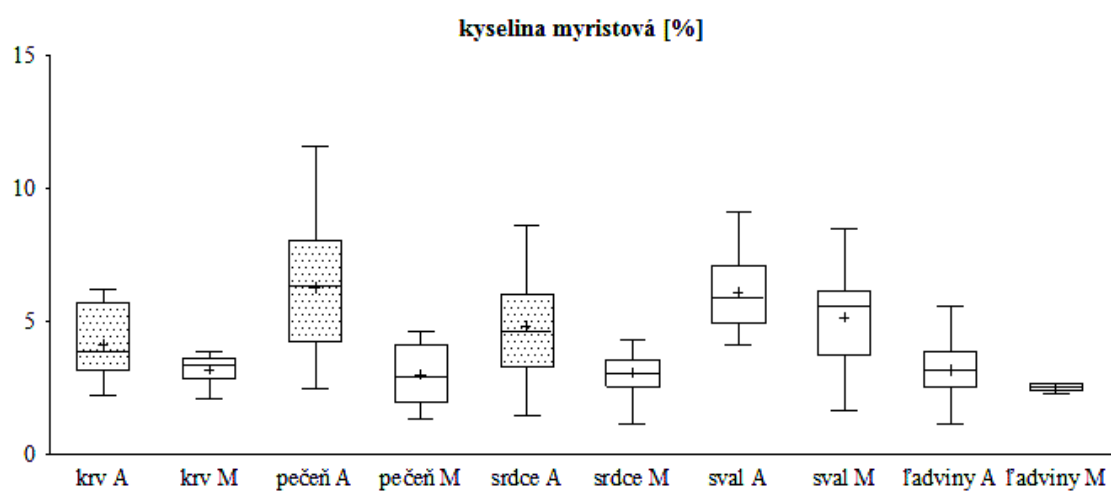
Obr. 3 Kyselina myristová – priemerné percentuálne zastúpenie v jednotlivých tkanivách

Zdroj: Vlastné spracovanie

Tab. 4 Kyselina myristová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

kyselina myristová		
skupina A		skupina M
krv	>	krv
pečeň	>	pečeň
srdce	>	srdce
sval	=	sval
ľadviny	=	ľadviny

Zdroj: Vlastné spracovanie



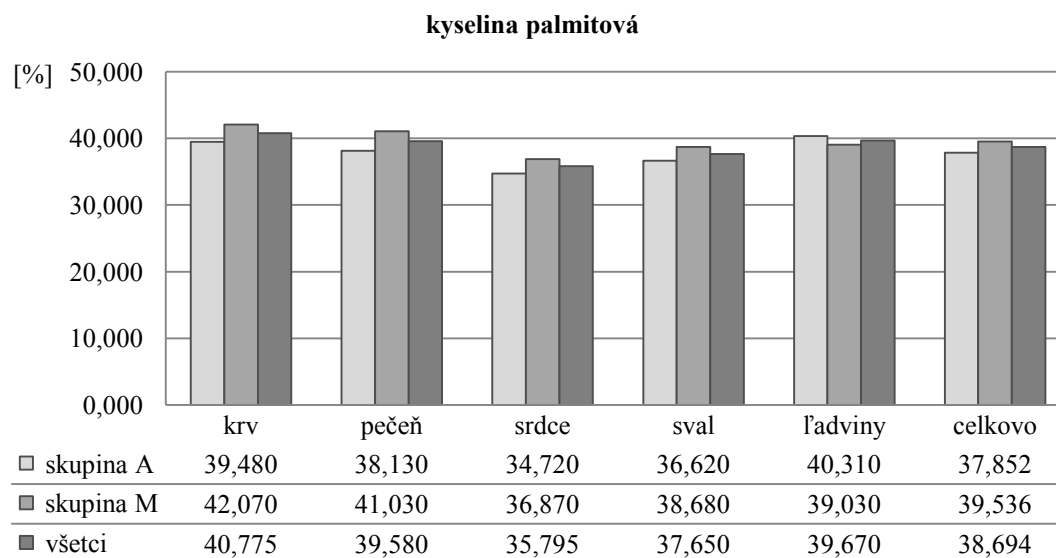
Obr. 4 Kyselina myristová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

Zdroj: Vlastné spracovanie

Tab. 5 Kyselina palmitová – deskriptívna štatistika

kyselina palmitová										
	krv A	krv M	pečeň A	pečeň M	srdce A	srdce M	sval A	sval M	ľadviny A	ľadviny M
počet hodnôt	15	10	16	10	16	10	15	10	15	8
min.	34,074	32,804	33,312	35,697	30,046	27,324	32,023	29,397	32,950	36,220
max.	44,121	48,170	45,129	44,860	42,032	46,755	43,005	48,648	44,905	40,572
arit. priemer	39,480	42,070	38,130	41,030	34,720	36,870	36,620	38,680	40,310	39,030
SD	3,061	4,644	3,612	3,360	3,398	6,536	2,831	7,433	3,303	1,475
medián	39,760	41,730	37,690	41,01	34,470	35,420	35,770	38,850	41,200	39,710
25% percentil	37,330	39,520	35,220	37,88	31,530	31,650	34,960	31,530	37,190	37,790
75% percentil	41,520	46,740	40,390	44,47	36,830	42,770	38,280	47,320	42,760	39,900
normalita rozdelenia	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno

Zdroj: Vlastné spracovanie



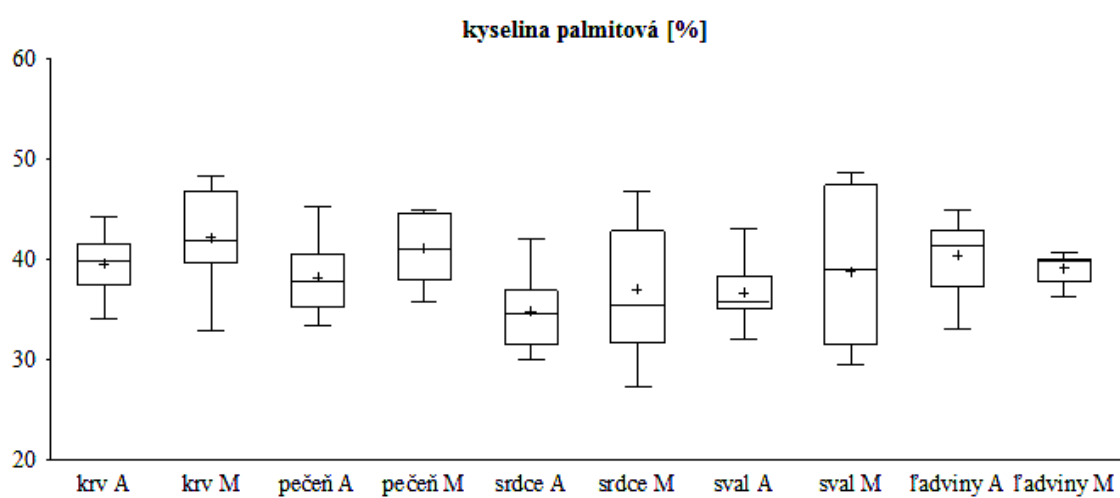
Obr. 5 Kyselina palmitová – priemerné percentuálne zastúpenie v jednotlivých tkanivách

Zdroj: Vlastné spracovanie

Tab. 6 Kyselina palmitová – deskriptívna štatistika

kyselina palmitová		
skupina A	=	skupina M
krv	=	krv
pečeň	=	pečeň
srdce	=	srdce
sval	=	sval
ľadviny	=	ľadviny

Zdroj: Vlastné spracovanie



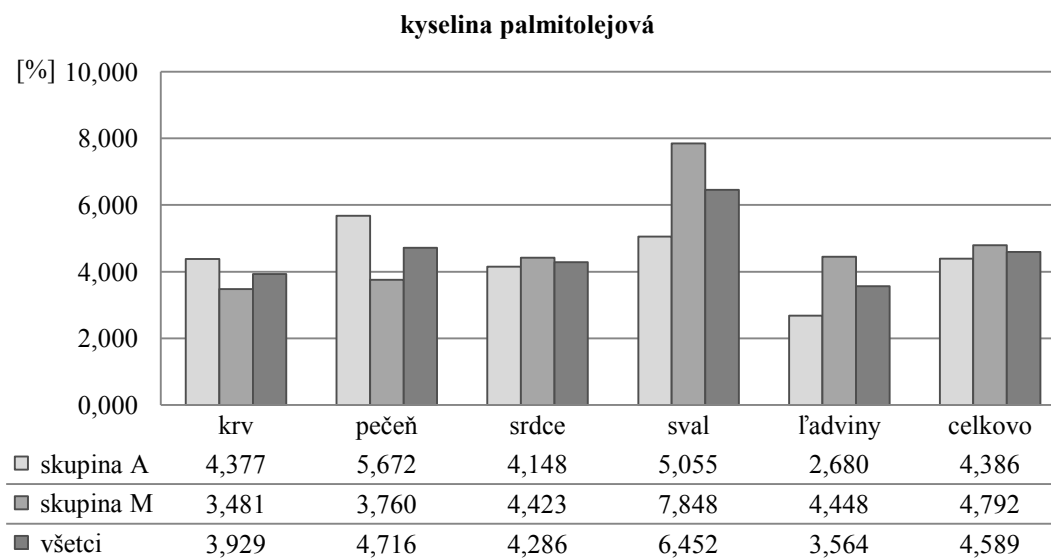
Obr. 6 Kyselina palmitová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

Zdroj: Vlastné spracovanie

Tab. 7 Kyselina palmitolejová – deskriptívna štatistika

kyselina palmitolejová										
	krv A	krv M	pečeň A	pečeň M	srdce A	srdce M	sval A	sval M	ľadviny A	ľadviny M
počet hodnôt	16	8	16	10	16	10	16	10	15	10
min.	2,369	2,795	2,409	1,766	1,718	1,715	1,991	2,208	0,228	2,535
max.	7,166	4,449	8,910	6,105	8,742	9,244	7,697	13,462	4,253	6,625
arit. priemer	4,377	3,481	5,672	3,760	4,148	4,423	5,055	7,848	2,680	4,448
SD	1,297	0,513	1,950	1,301	2,129	2,598	1,778	3,811	0,941	1,337
medián	4,622	3,504	5,892	3,554	3,785	4,197	5,747	7,572	2,703	4,766
25% percentil	3,074	3,014	3,662	3,024	2,440	2,021	3,020	5,113	2,160	3,147
75% percentil	5,005	3,690	7,344	4,518	5,141	6,266	6,324	11,410	3,480	5,439
normalita rozdelenia	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	nie	áno

Zdroj: Vlastné spracovanie



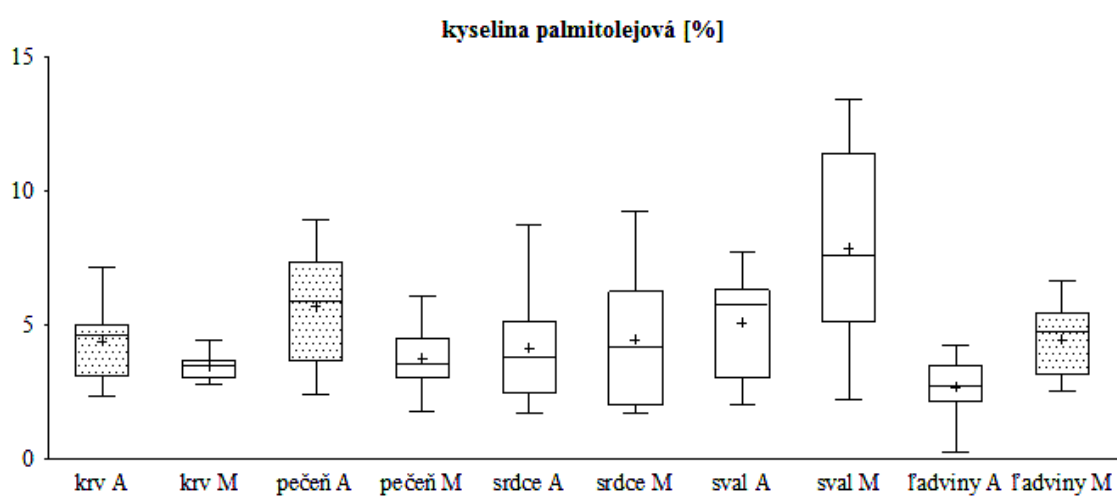
Obr. 7 Kyselina palmitolejová – priemerné percentuálne zastúpenie v jednotlivých tkanivách

Zdroj: Vlastné spracovanie

Tab. 8 Kyselina palmitolejová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

kyselina palmitolejová		
skupina A		skupina M
krv	>	krv
pečeň	>	pečeň
srdce	=	srdce
sval	=	sval
ľadviny	<	ľadviny

Zdroj: Vlastné spracovanie



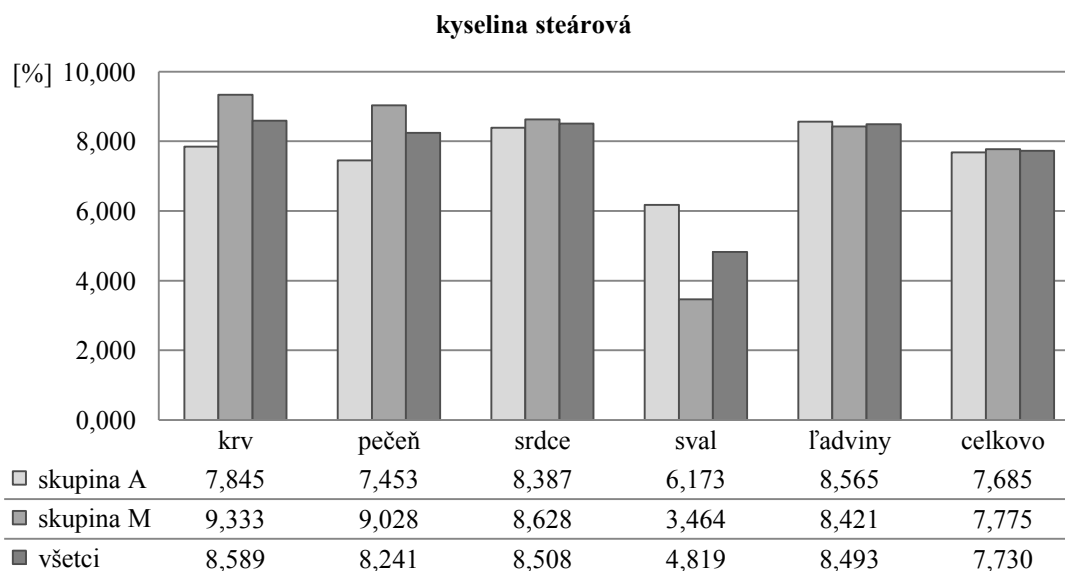
Obr. 8 Kyselina palmitolejová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

Zdroj: Vlastné spracovanie

Tab. 9 Kyselina steárová – deskriptívna štatistika

kyselina steárová										
	krv A	krv M	pečeň A	pečeň M	srdce A	srdce M	sval A	sval M	ľadviny A	ľadviny M
počet hodnôt	16	10	16	10	16	10	16	8	16	10
min.	4,119	6,149	3,905	6,597	3,888	5,360	3,367	2,021	2,277	2,893
max.	12,770	12,031	12,055	11,832	14,294	11,607	9,597	4,343	11,842	12,197
arit. priemer	7,845	9,333	7,453	9,028	8,387	8,628	6,173	3,464	8,565	8,421
SD	2,255	1,992	2,475	2,138	2,527	2,224	1,784	0,924	2,595	3,072
medián	7,705	9,602	7,277	8,408	8,823	8,795	6,172	3,728	9,196	9,348
25% percentil	6,274	7,754	5,270	6,883	6,203	6,748	4,914	2,419	7,166	6,249
75% percentil	9,527	10,940	9,490	11,160	9,442	10,770	7,373	4,214	10,480	10,730
normalita rozdelenia	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno

Zdroj: Vlastné spracovanie



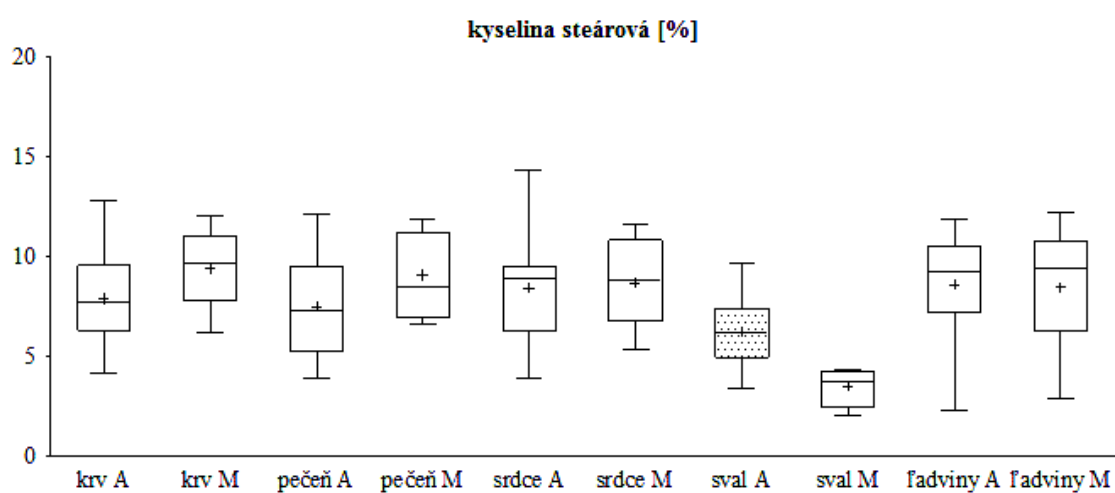
Obr. 9 Kyselina steárová – priemerné percentuálne zastúpenie v jednotlivých tkanivách

Zdroj: Vlastné spracovanie

Tab. 10 Kyselina steárová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

kyselina steárová		
skupina A		skupina M
krv	=	krv
pečeň	=	pečeň
srdce	=	srdce
sval	>	sval
ľadviny	=	ľadviny

Zdroj: Vlastné spracovanie



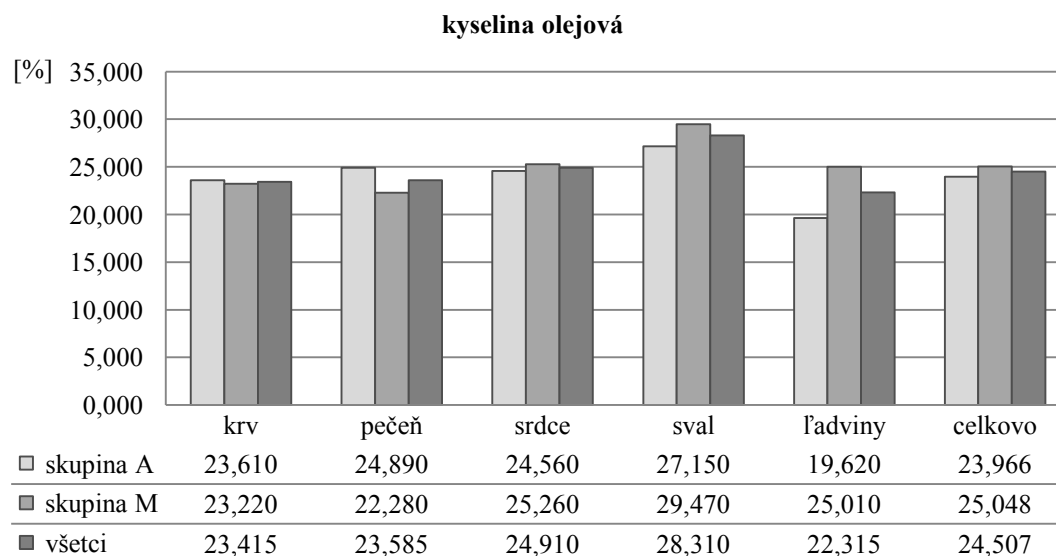
Obr. 10 Kyselina steárová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

Zdroj: Vlastné spracovanie

Tab. 11 Kyselina olejová – deskriptívna štatistika

kyselina olejová										
	krv A	krv M	pečeň A	pečeň M	srdce A	srdce M	sval A	sval M	ľadviny A	ľadviny M
počet hodnôt	15	9	16	10	16	10	16	10	13	10
min.	18,090	18,467	18,782	17,463	15,904	17,282	15,558	14,142	16,610	14,770
max.	27,446	28,556	32,480	29,258	35,594	38,949	35,976	39,915	23,422	33,525
arit. priemer	23,610	23,220	24,890	22,280	24,560	25,260	27,150	29,470	19,620	25,010
SD	2,416	3,648	3,489	3,352	5,935	6,649	6,349	9,054	1,972	5,520
medián	24,030	22,480	24,540	22,930	23,830	22,850	29,590	29,670	20,160	25,190
25% percentil	22,110	20,160	23,160	19,480	18,840	19,870	22,460	24,200	18,140	22,270
75% percentil	25,850	26,750	26,890	23,860	30,080	29,870	32,260	37,580	20,890	28,870
normalita rozdelenia	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno

Zdroj: Vlastné spracovanie



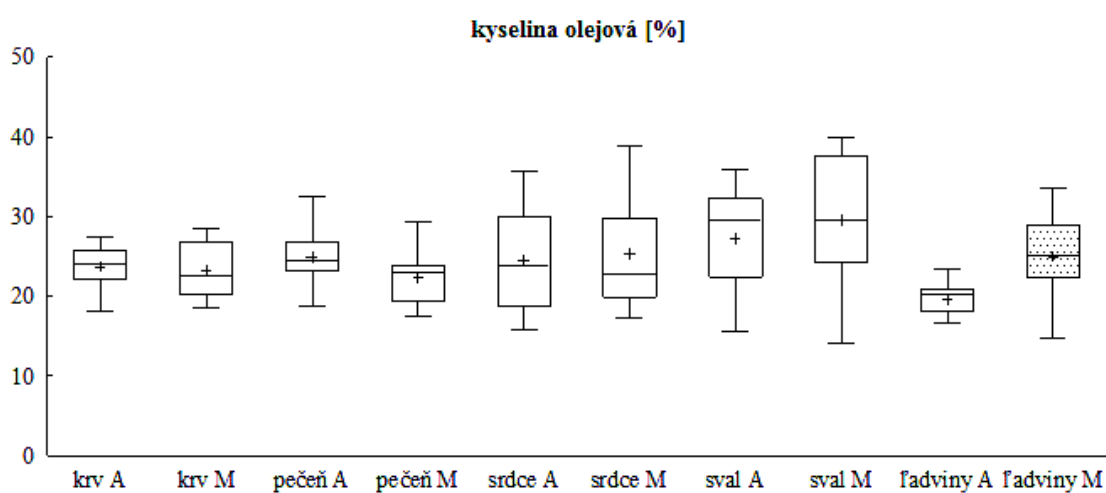
Obr. 11 Kyselina olejová – priemerné percentuálne zastúpenie v jednotlivých tkanivách

Zdroj: Vlastné spracovanie

Tab. 12 Kyselina olejová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

kyselina olejová		
skupina A		skupina M
krv	=	krv
pečeň	=	pečeň
srdce	=	srdce
sval	=	sval
ľadviny	<	ľadviny

Zdroj: Vlastné spracovanie



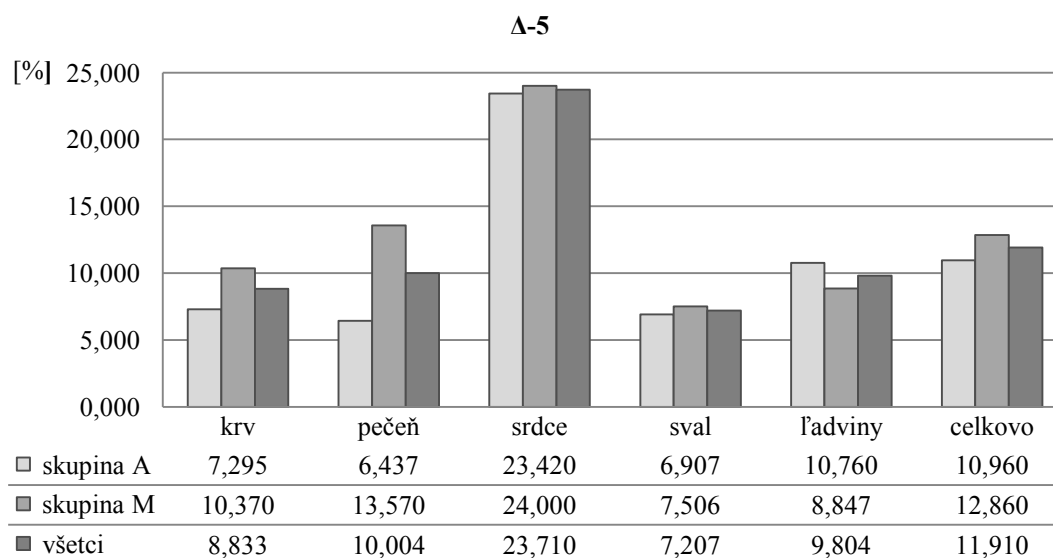
Obr. 12 Kyselina olejová – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

Zdroj: Vlastné spracovanie

Tab. 13 Pomer kyseliny arachidónovej a kyseliny dihomo- γ -linolénovej – deskriptívna štatistika

Δ -5										
	krv A	krv M	pečeň A	pečeň M	srdce A	srdce M	sval A	sval M	ľadviny A	ľadviny M
počet hodnôt	15	10	15	10	14	10	11	8	11	9
min.	4,475	4,257	3,744	3,419	14,369	7,010	3,724	3,838	5,957	2,778
max.	9,755	24,365	9,498	24,491	31,404	48,061	9,037	13,207	13,447	14,450
arit. priemer	7,295	10,370	6,437	13,570	23,420	24,000	6,907	7,506	10,760	8,847
SD	1,733	6,331	1,718	7,573	4,766	12,790	1,685	3,826	2,266	3,784
medián	7,199	8,385	6,385	14,080	22,600	20,890	6,639	5,612	10,880	9,245
25% percentil	6,074	5,368	5,093	6,763	20,850	14,920	5,953	4,238	9,202	5,881
75% percentil	8,984	13,680	7,957	19,970	27,390	32,960	8,497	11,900	12,450	12,110
normalita rozdelenia	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno

Zdroj: Vlastné spracovanie

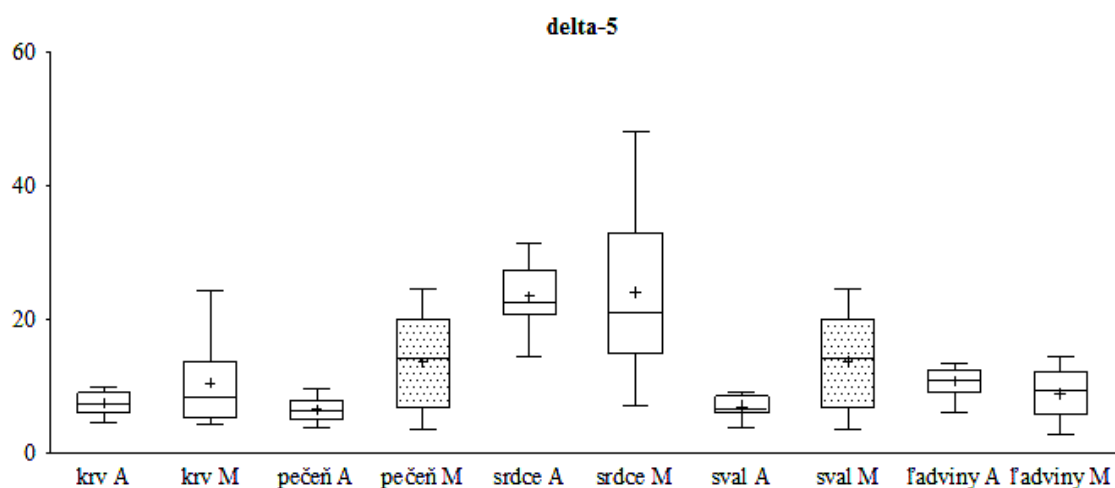
Obr. 13 Priemerné hodnoty pomeru kyseliny arachidónovej a kyseliny dihomo- γ -linolénovej v jednotlivých tkanivách

Zdroj: Vlastné spracovanie

Tab. 14 Pomer kyseliny arachidónovej a kyseliny dihomo- γ -linolénovej – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

Δ -5		
skupina A		skupina M
krv	=	krv
pečeň	<	pečeň
srdce	=	srdce
sval	<	sval
ľadviny	=	ľadviny

Zdroj: Vlastné spracovanie



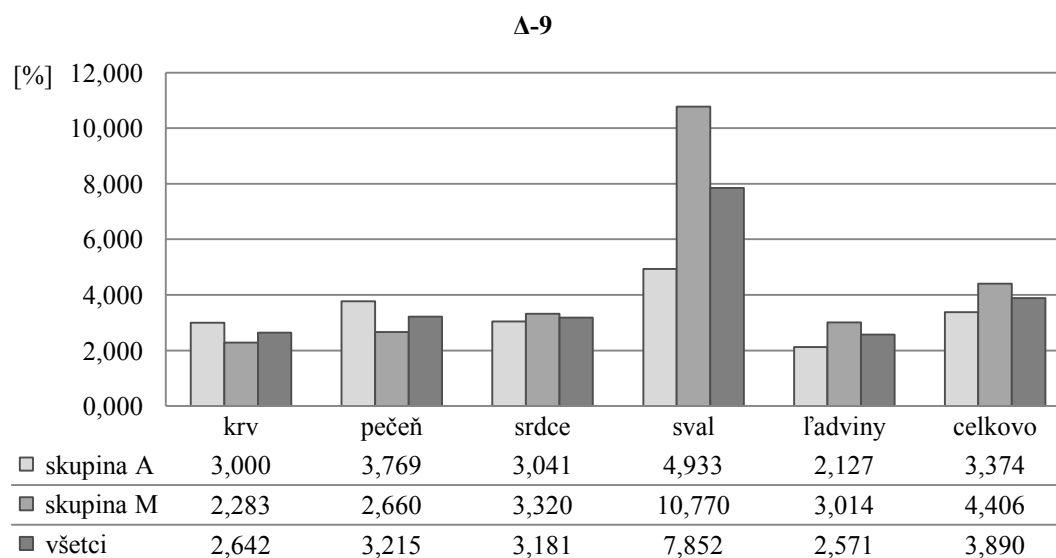
Obr. 14 Pomer kyseliny arachidónovej a kyseliny dihomo- γ -linolénovej – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

Zdroj: Vlastné spracovanie

Tab. 15 Pomer kyseliny olejovej a kyseliny steárovej – deskriptívna štatistika

Δ-9										
	krv A	krv M	pečeň A	pečeň M	srdce A	srdce M	sval A	sval M	ľadviny A	ľadviny M
počet hodnôt	14	8	16	10	15	10	16	8	13	9
min.	1,417	1,535	1,702	1,476	1,277	1,492	1,621	6,254	1,417	1,463
max.	4,332	2,807	6,372	4,435	5,781	7,266	9,561	19,754	2,902	6,357
arit. priemer	3,000	2,283	3,769	2,660	3,041	3,320	4,933	10,770	2,127	3,014
SD	0,780	0,477	1,522	0,962	1,371	1,817	2,136	5,242	0,477	1,553
medián	2,999	2,254	3,347	2,605	2,587	2,602	4,997	8,397	2,116	2,679
25% percentil	2,403	1,921	2,436	1,737	2,061	1,849	3,197	6,999	1,709	1,839
75% percentil	3,480	2,773	5,395	3,417	4,107	4,574	6,296	16,250	2,520	3,932
normalita rozdelenia	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno	áno

Zdroj: Vlastné spracovanie



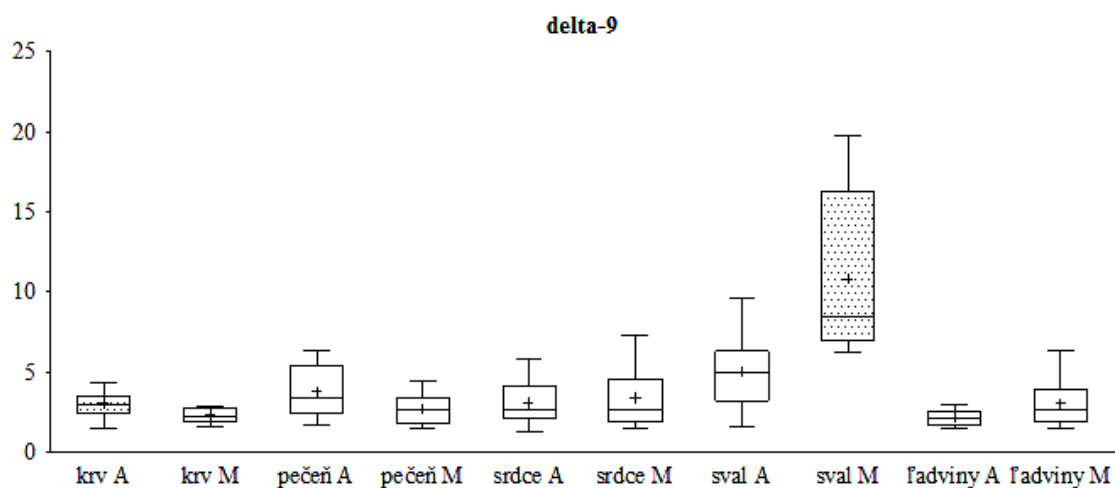
Obr. 15 Priemerné hodnoty pomeru kyseliny olejovej a kyseliny steárovej v jednotlivých tkanivách

Zdroj: Vlastné spracovanie

Tab. 16 Pomer kyseliny olejovej a kyseliny steárovej – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

Δ -9		
skupina A		skupina M
krv	>	krv
pečeň	=	pečeň
srdce	=	srdce
sval	<	sval
ľadviny	=	ľadviny

Zdroj: Vlastné spracovanie



Obr. 16 Pomer kyseliny olejovej a kyseliny steárovej – štatisticky významné rozdiely medzi skupinami A a M

Zdroj: Vlastné spracovanie

Tab. 17 Prehľad štatisticky významných rozdielov

štatisticky významný rozdiel	krv	pečeň	srdce	sval	Ľadviny
C12:0	nie je	A	A	nie je	nie je
C14:0	A	A	A	nie je	nie je
PA	nie je	nie je	nie je	nie je	nie je
POA	A	A	nie je	nie je	M
SA	nie je	nie je	nie je	A	nie je
OA	nie je	nie je	nie je	nie je	M
Δ-9	A	nie je	nie je	M	nie je
Δ-5	nie je	M	nie je	M	nie je

Zdroj: Vlastné spracovanie

C12:0 – kyselina laurová, **C14:0** – kyselina myristová, **PA** – kyselina palmitová, **POA** – kyselina palmitolejová, **SA** – kyselina steárová, **OA** – kyselina olejová, **Δ-9** – pomer kyseliny olejovej a kyseliny steárovej, **Δ-5** – pomer kyseliny arachidónovej a kyseliny dihomog- γ -linolénovej