

Univerzita Karlova

1. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce



UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta

**Změny velikosti jednotlivých patologických lipoproteinů
u různých patologických stavů**

MUDr. Magdaléna Dušejovská

Praha, 2017

Doktorské studijní programy v biomedicině
Univerzita Karlova a Akademie věd České republiky

Obor: Biochemie a patobiochemie

Předseda oborové rady: Prof. MUDr. Stanislav Štípek DrSc.

Školící pracoviště: 4. interní klinika VFN Praha

Školitel: Prof. MUDr. Aleš Žák, DrSc., 4. interní klinika 1. LF UK

Konzultant: Prof. MUDr. Ivan Rychlík CSc. FASN, FERA

Disertační práce bude nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněna k nahlížení veřejnosti v tištěné podobě na Oddělení pro vědeckou činnost a zahraniční styky děkanátu 1. lékařské fakulty.

Obsah

1. Úvod.....	7
2. Hypotézy a cíle práce.....	9
3. Materiál a metodika	10
3.1. Soubor pacientů s metabolickým syndromem.....	10
3.2. Soubor pacientů s ESRD	10
3.3. Biochemické parametry plazmy	11
3.4. Ostatní použité metodiky.....	11
3.5. Statistické zpracování	11
4. Výsledky	12
4.1. Metabolický syndrom	12
4.2. Terminální renální selhání	16
5. Diskuse.....	21
5.1. Pacienti s MS	21
5.2. Pacienti s terminálním renálním selháním.....	22
6. Závěr	26
6.1. Pacienti s MS	26
6.2. Pacienti s ESRD.....	26
7. Použitá literatura	27
8. Seznam publikací	31
8.1. Publikace in extenso, které jsou podkladem dizertace	31
8.2. Publikace in extenso bez vztahu k tématu dizertace.....	31

Abstrakt

Metabolický syndrom (MS) a terminální renální selhání (ESRD) jsou dvě klinicko-patologické jednotky se zvýšeným rizikem aterosklerotických kardiovaskulárních komplikací, které mají závažné dopady na kvalitu života pacientů. K určení míry rizika aterosklerózy mohou přispět znalosti o změnách distribuce jednotlivých lipoproteinových tříd.

Předmětem studií zahrnutých v této disertační práci bylo stanovení subfrakcí LDL a HDL u těchto patologických stavů s cílem zjistit, se kterými klinickými a biochemickými odchylkami jsou změny subfrakcí u pacientů asociovány. První, placebem kontrolovaná, studie sledovala vliv podávání vícenenasycených mastných kyselin řady n-3 (PUFA n-3) pacientům s MS, rozděleným na skupinu statinovou, která zahrnovala 36 pacientů, a na skupinu 24 probandů bez terapie statiny. Druhá studie zahrnovala 57 pacientů s ESRD závislých na vysokoobjemové on-line hemodiafiltraci (HV-HDF). Parametry pacientů se porovnávaly při vstupu do studie a po 5 letech trvání HV-HDF. Výsledky těchto skupin byly porovnávány s parametry kontrolní skupiny, ve které bylo zařazeno 50 pacientů bez známek ESRD, párovaných na věk a pohlaví.

V první studii vedla suplementace PUFA n-3 ke snížení hladin triacylglycerolů (TAG) a obsahu cholesterolu v lipoproteinech VLDL a zvýšení HDL-C. U podskupiny osob, které měly vstupně vyšší zastoupení malých denzních LDL (sdLDL-C), došlo po suplementaci PUFA n-3 k poklesu sdLDL-C. Pacienti s ESRD ve druhé studii měli ve srovnání s pacienty kontrolní skupiny významné rozdíly jak v HDL subfrakcích, tak i v zastoupení jednotlivých lipoproteinových částic obsahujících apo-B (vyšší obsah cholesterolu ve VLDL a IDL a nižší obsah ve velkých LDL). Výsledky přežívání u pacientů s ESRD mohou ukazovat na příznivý vliv redistribuce lipoproteinových částic směrem k malým HDL.

Výsledky studií v předložené práci dokazují antiaterogenní působení PUFA n-3 u pacientů s MS, které může souviset se změnou metabolismu lipoproteinů, a dále redistribuci lipoproteinového profilu u přeživších pacientů s ESRD v chronickém hemodialyzačním programu.

Klíčová slova: metabolický syndrom, terminální renální selhání, diskontinuální gelová elektroforéza plazmatických lipoproteinů, lipoproteinové subfrakce, PUFA n-3, vysokoobjemová on-line hemodiafiltrace.

Abstract

Metabolic syndrome (MS) and end-stage renal disease (ESRD) represent two clinical-pathologic states with increased risk of atherosclerotic cardiovascular complications with considerable impact on the quality of life of the patients. The knowledge about the changes in distribution of individual lipoprotein subfractions could contribute to the estimation of risk of atherosclerosis development.

The studies presented in this thesis aimed at analyses of subfractions of LDL and HDL in the abovementioned pathologic states; moreover, we tried to elucidate the associations of changes in lipoprotein subfractions with clinical as well as biochemical alterations. The Study I was a placebo controlled study observing the effect of polyunsaturated fatty acids of n-3 family (PUFA n-3) administration to patients with MS who were divided to statin-treated ones (36 patients), and those without statin therapy (24 probands). The Study II comprised of 57 patients with ESRD on high volume haemodiafiltration (HV-HDF). In this Study, the parameters after 5-year follow-up were compared with baseline characteristics. Also, we included comparisons with the control group of 50 age and sex matched patients without the signs of ESRD.

In Study I, we observed lowering of triacylglycerol (TAG) and cholesterol content in VLDL lipoproteins and increased levels of HDL-C after PUFA n-3 supplementation. In the subgroup of patients with baseline higher concentration of cholesterol in small dense LDL (sdLDL), the supplementation of PUFA n-3 led to decrease of cholesterol content in sdLDL.

The results of Study II showed significant differences in HDL subfraction and apoB containing lipoproteins (higher content of cholesterol in VLDL as well as IDL, lower cholesterol content in large LDL) in patients with ESRD compared to control group. The survival analyses in ESRD patients revealed the beneficial effect of redistribution of lipoprotein profiles toward small HDL particles.

The result in the thesis show that antiatherogenic effect of PUFA n-3 can be connected with the changes in lipoprotein metabolism. Also, the different lipoprotein profile is closely related to survival of patients with ESRD in chronic haemodialysis programme.

Key words: metabolic syndrome, end-stage renal disease, discontinual gel electrophoresis of plasma lipoproteins, lipoprotein subfractions, PUFA n-3, high volume haemodiafiltration.

1. Úvod

K nejvýznamnějším rizikovým faktorům (RF) kardiovaskulárních (CV) komplikací patří kvantitativní změny plazmatických lipidových parametrů, které jsou pozorovány nejen u primárních dyslipidemií a hyperlipoproteinémii, ale i u řady dalších chorobných stavů, jako je metabolický syndrom (MS), diabetes mellitus (DM) 1. i 2. typu, onemocnění ledvin či jater, malnutričních stavů a dalších. Míru kardiovaskulárního rizika ovšem nelze posuzovat pouze na základě izolovaného měření celkových koncentrací HDL-C a LDL-C. Pro lepší predikci RF rozvoje aterosklerózy je potřeba lipoproteinové částice charakterizovat také kvalitativně a určit tak jejich strukturní a funkční vlastnosti. V posledních letech je intenzívně studován vzájemný vztah mezi změnou velikosti lipoproteinových částic a poruchami lipidového metabolismu u různých patologických stavů, se snahou co nejdříve a nej přesněji odhalit riziko vzniku CV komplikací a pokusit se o jeho kompenzaci.

Lipoproteinové částice LDL představují heterogenní skupinu lipoproteinů, které mají na základě poměru apoB/lipidy odlišnou hustotu a velikost. Podle velikosti rozlišujeme několik subpopulací LDL z nichž největší aterogenní potenciál mají sdLDL. Malé denzní LDL velice snadno podléhají oxidaci a tím se podílejí na rozvoji aterosklerotického poškození endotelu. Zvýšené zastoupení sdLDL bylo pozorováno u pacientů s MS nebo chronickým ledvinovým selháním, Také HDL částice nejsou homogenní populací lipoproteinů. Jednotlivé subfrakce se liší svým složením (obsahem proteinů a lipidů), velikostí a především funkčními vlastnostmi.

Nelze tvrdit, že všechny HDL částice mají antiaterogenní a antioxidační účinky, jak bylo uváděno v minulosti. Literární údaje nejsou zcela konzistentní v názoru, které ze subfrakcí mají aterogenní potenciál. Převažuje názor, že protektivně působí malé denzní HDL, což jsme zaznamenali také v naší práci (Dušejovská 2017), kde jsme u kontrolní skupiny pacientů pozorovali pozitivní korelaci mezi počtem RF aterosklerózy a velikostí HDL částic. Je známo,

že malé denzní HDL jsou účinnějšími akceptory cholesterolu než na lipidy bohaté velké HDL. Změnou proteinové a lipidové složky dochází k modifikaci HDL částic z funkčních na dysfunkční. Je tedy zřejmé, že funkčnost HDL částic je silně závislá na jejich struktuře. Ke vzniku dysfunkčních HLD může docházet vlivem oxidačního stresu navozeného např. DM, MS nebo chronickým onemocněním ledvin (CKD).

Určení kvalitativních parametrů lipoproteinových částic LDL a HDL se do budoucna jeví jako nezbytné pro stanovení míry rizika CV komplikací. Tato práce se proto zabývá kvalitativní analýzou subpopulací jak LDL, především stanovením sdLDL (určení fenotypu B velikosti lipoproteinů o nízké hustotě), jejichž zvýšený podíl je typický pro nemocné se zvýšeným kardiovaskulárním rizikem, s prodělaným infarktem myokardu, DM či selháním ledvin, tak HDL, jejichž charakteristické rozložení je typické pro některé patologické jednotky. Možnost upřesnění skladby těchto lipoproteinů by mohla pomoci při odhadu rizika CV komplikací nemocných s poruchami lipidového a lipoproteinového metabolismu.

Pro studium kvalitativního složení LDL a HDL jsem si vybrala pacienty s MS a ESRD, jednak proto, že mají zvýšené riziko CV komplikací (vlivem poruchy lipoproteinového metabolismu), jednak proto, že se u některých pacientů s MS (i přes režimová opatření) může rozvinout DM 2. typu, který je v našich podmínkách nečastější příčinou selhání ledvin (Rychlík, Nehézová 2009).

2. Hypotézy a cíle práce

Cílem práce bylo:

1. U pacientů s MS a ESRD charakterizovat lipoproteinové částice nejen kvantitativně, ale i kvalitativně a určit tak jejich
2. Sledovat vzájemný vztah mezi změnou velikosti lipoproteinových částic a poruchami lipidového metabolismu u:
 - a) metabolického syndromu po suplementaci PUFA n-3,
 - b) pacientů ESRD, kteří na hemodíalýzi přežili 5 let.
3. Využít popis subfrakcí LDL a HDL při predikci rizika CV komplikací u nemocných s poruchami lipidového a lipoproteinového metabolismu a pokusit se o jeho kompenzaci.

3. Materiál a metodika

3.1. Soubor pacientů s metabolickým syndromem

Do této studie bylo celkem zahrnuto 60 pacientů, kteří splňovali kritéria metabolického syndromu dle Mezinárodní diabetické federace (International Diabetes Federation, IDF, 2005); (Alberti et al. 2006) a jejichž hodnoty plazmatické koncentrace TAG nalačno přesahovaly 1,7 mmol/l. Podle zavedené statinové terapie byli pacienti rozděleni na dvě skupiny označené jako S (36 pacientů léčených statiny, 24 mužů a 12 žen) a N (24 pacientů bez statinové terapie, 15 mužů a 9 žen). Design studie byl plánován jako „add-on“ dvojité zaslepená studie, kde každý subjekt sloužil zároveň jako svoje kontrola. Každý pacient absolvoval šest týdnů trvající kontrolní období, během něhož bylo „per os“ podáváno placebo, a bezprostředně následující šestitýdenní terapeutické období, kde byla podávána aktivní látka. Placebo obsahovalo kyselinu olejovou 75 %, kyselinu palmitovou 10% a kyselinu linolovou 9 % (hmotnostní procenta). V terapeutickém období pacienti dostávali třikrát denně 1000 mg preparátu Maxicor®, který obsahoval (hmotnostní procenta) 63 % EPA, 23 % DHA a 8 % kyseliny stearidonové (18:4n-3). Jak placebo, tak PUFA n-3 bylo zakoupeno od stejného producenta - SVUS Pharma a.s. Pacienti ve skupině S pokračovali v dosavadní léčbě statinem. Po ukončení obou období bylo provedeno podrobné klinické, antropometrické a laboratorní vyšetření.

3.2. Soubor pacientů s ESRD

Soubor sledovaných pacientů sestával z 57 osob s ESRD (35 mužů/22 žen, věk $62,9 \pm 12,7$ roků) HV-HDF a 50 kontrolních osob bez známek CKD párovaných podle věku a pohlaví

Všichni pacienti postupovali dialýzu (medián 2 roky (interkvartilové rozpětí: 1 měsíc-16 let)) jako součást chronického HD programu v Dialyzačním centru Vinohrady, Fresenius Medical Care. Pro účely pětiletého sledování bylo vhodných celkem 14 pacientů. Jedince s již zavedenou hypolipidemickou léčbou jsme ze studie nevyloučili. Podle posledních doporučení (KDIGO 2013) je terapie statiny pro dialyzované pacienty vhodná (tento případ nastal v našem souboru přibližně u poloviny případů).

Kontrolní skupina podobného věku a poměru muži/ženy (32 mužů/18 žen, věk $61,6 \pm 7,8$ roků) sestávala z 50 pacientů lipidové ambulance na IV. interní klinice 1. LF UK a VFN v Praze. Žádný z jedinců v kontrolní skupině nevykazoval známky renální insuficience

Někteří pacienti byli léčeni hypocholesterolemickými léky (9 statiny, 1 fenofibrátem), 20 mělo hypertenzi, u 17 jedinců byl diagnostikován DM 2. typu (8 léčeno metforminem), a 3 pacienti měli CVD.

3.3. Biochemické parametry plazmy

Běžné laboratorní parametry byly vyšetřeny rutinními metodami v Centrálních laboratořích Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky VFN v Praze. Jako parametr oxidačního stresu byla měřena koncentrace konjugovaných dienu (CD) v precipitovaných částicích LDL spektrofotometrickou metodou (Ahotupa et al., 1996). Koncentrace homocysteinu (Hcy) a glykovaného hemoglobinu (HbA1C) byla stanovena vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (Araki a Sako, 1987). Aktivity antioxidantních enzymů glutathion peroxidasy (GPx1), glutathion reduktázy (GR) a paraoxonázy-1 (PON1) byly změřeny v erytrocytech (Kodydková et al. 2009).

3.4. Ostatní použité metodiky

Složení mastných kyselin (FA) v lipidových třídách plazmy bylo vyšetřeno rozdělovací plynovou chromatografií po předchozí separaci jednotlivých lipidových tříd – fosfolipidů (PL), TAG a esterů cholesterolu (CE) preparativní tenkovrstvou chromatografií (Tvrzická 2002) Jednotlivé lipoproteinové třídy byly separovány preparativní ultracentrifugací (UC; Optima™ L-100XP, Beckman Coulter) za postupně se zvyšující hustoty prostředí, a to v pořadí VLDL, LDL a HDL. Zastoupení subfrakcí LDL a HDL v séru bylo analyzováno pomocí vysokoúčinné diskontinuální gelové elektroforézy Lipoprint® LDL/HDL System (Quantimetrix, USA) s použitím diagnostických setů Lipoprint LDL/HDL Kit.

3.5. Statistické zpracování

Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr \pm SD pro parametrické veličiny a jako medián (25-75 percentil) pro neparametrické veličiny. Rozdíly mezi jednotlivými skupinami a kontrolními soubory byly zkoumány pomocí jedno-faktorové ANOVA s Neuman-Keulsovým post-hoc testem. Pro neparametrickou analýzu byla použita Kruskal-Wallisova ANOVA. Vztahy mezi proměnnými byly analyzovány pomocí Pearsonova (Spearmanova) korelačního koeficientu.

4. Výsledky

4.1. Metabolický syndrom

V tabulkách 1a a 1b jsou uvedeny výsledky vyšetření provedeného u týchž pacientů po šesti týdnech podávání placebo a po šesti týdnech podávání 3,0 g PUFA n-3, a to jednak pro skupinu S (léčba statinem) a skupinu N (bez léčby statinem), jednak pro celý soubor. Podle očekávání vyvolalo podávání PUFA n-3 významný pokles koncentrace TAG v plazmě a ve VLDL. Tyto změny byly provázeny mírným vzestupem plazmatické koncentrace HDL-C a poklesem absolutní koncentrace cholesterolu v sdLDL-C. Plazmatická koncentrace LDL-C se mírně zvýšila.

Dále byl po podávání PUFA n-3 zjištěn pokles plazmatické koncentrace Lp(a); celkový homocystein (tHcy) mírně poklesl (pouze ve skupině N). Podrobnější analýza souboru ukázala, že k výraznému snížení Lp(a) došlo u všech 14 pacientů s bazálními hodnotami nad 0,25 g/l, a to v průměru z $0,56 \pm 0,22$ g/l na $0,47 \pm 0,19$ g/l ($p < 0,05$). Rovněž tHcy významně poklesl v podskupině 31 pacientů, jejichž původní koncentrace přesahovala hodnotu 14 mmol/l (z $19,3 \pm 5,9$ na $17,9 \pm 5,7$; mmol/l, $p < 0,01$).

V obou skupinách byl zaznamenán významný pokles intenzity albuminurie. Koncentrace CD v LDL se mírně snížila; významně poklesla aktivita GR a stoupla aktivita PON1. Podávání PUFA n-3 nevyvolalo žádné signifikantní změny ukazatelů sacharidového metabolismu (glykémie, inzulinémie, HbA1C) ani markerů inzulinové rezistence (HOMA-IR, HOMA-B, QUICKI, data neuvedena).

Tabulka 1a. Vliv podávání 3,0 g PUFA n-3 na vybrané antropometrické a biochemické parametry

podávaná látka	placebo	PUFA n-3	placebo	PUFA n-3
skupina	S	S	N	N
tělesná hmotnost (kg)	87,2 ± 11,6	87,1 ± 11,4	84,3 ± 16,1	84,7 ± 16,2
obvod pasu (cm)	101 ± 9	101 ± 10	96 ± 13	96 ± 12
VLDL-C UC (mmol/l)	0,61 ± 0,39	0,43 ± 0,26	0,87 ± 0,51	0,63 ± 0,27*
LDL-C UC (mmol/l) ⁴	2,60 ± 0,67	2,96 ± 0,74*	3,53 ± 0,79	3,70 ± 0,90
VLDL-TAG UC (mmol/l)	1,48 ± 0,89	1,14 ± 0,76	2,04 ± 1,30	1,42 ± 0,77**
LDL-TAG UC (mmol/l)	0,42 ± 0,17	0,38 ± 0,10	0,48 ± 0,13	0,43 ± 0,10
tHcy (μmol/l)	14,7 ± 4,6	15,7 ± 4,4	17,3 ± 7,0	15,9 ± 6,5
CD v LDL (μmol/l)	62,8 ± 26,0	59,7 ± 22,9	60,1 ± 16,7	55,0 ± 13,1
GPx (U/g Hb)	61,6 ± 18,1	59,1 ± 14,4	63,7 ± 13,0	61,3 ± 15,0
GR (U/g Hb)	8,09 ± 1,26	7,37 ± 1,41**	8,01 ± 2,07	6,87 ± 1,74***
CAT (kU/g Hb)	184 ± 33	195 ± 38	204 ± 42	205 ± 36
PON1 (kU/l)	159 ± 39	178 ± 39**	168 ± 64	170 ± 42
Hb1Ac (% Hb)	4,11 ± 0,51	4,16 ± 0,70	3,65 ± 0,67	3,58 ± 0,70
inzulín (mU/l) ⁵	12,8 ± 6,4	12,7 ± 7,2	10,9 ± 7,5	11,6 ± 5,8
glukóza (mmol/l)	5,32 ± 0,54	5,43 ± 0,65	5,12 ± 0,99	5,30 ± 1,09
Lp(a) (g/l)	0,22 ± 0,25	0,20 ± 0,22	0,16 ± 0,23	0,15 ± 0,18
NEFA (mmol/l)	0,59 ± 0,18	0,50 ± 0,28	0,54 ± 0,31	0,47 ± 0,31
TC (mmol/l)	5,57 ± 1,52	5,67 ± 1,16	5,54 ± 0,91	5,55 ± 1,29
TAG (mmol/l) ⁵	3,64 ± 5,02	2,51 ± 2,49***	2,59 ± 1,32	1,97 ± 0,75***
HDL-C (mmol/l)	1,17 ± 0,24	1,26 ± 0,24**	1,18 ± 0,26	1,20 ± 0,29
apo A1 (g/l)	1,21 ± 0,23	1,27 ± 0,24	1,19 ± 0,26	1,19 ± 0,32
apo B (g/l)	1,11 ± 0,28	1,15 ± 0,24	1,15 ± 0,24	1,16 ± 0,30

HDL-C/apo A1	0,97 ± 0,13	1,01 ± 0,14	0,99 ± 0,12	1,03 ± 0,15
mikroalbuminurie (mg/l) ⁵	14,6 ± 27,2	10,2 ± 24,6	10,4 ± 12,7	7,3 ± 9,5
albumin/kreatinin (v moči)	1,46 ± 2,65	1,20 ± 2,22	0,62 ± 0,40	0,78 ± 0,86

¹ odpovídá subfrakcím MID A,B,C v analýzách Lipoprint®, ² subfrakce LDLI-7 v analýzách Lipoprint®, ³ - subfrakce LDL 3-7 v analýzách Lipoprint®, ⁴ denzitní gradient odpovídá IDL+LDL ($d = 1,006-1,063$), ⁵ - Wilcoxonův párový test; Zkratky: VLDL- lipoproteiny o velmi nízké hustotě, IDL - lipoproteiny o střední hustotě, LDL - lipoproteiny o nízké hustotě, HDL - lipoproteiny o vysoké hustotě), UC –ultracentrifugace, GPx - glutathion peroxidáza, GR - glutathion reduktáza, CAT - kataláza, PON1 - paraoxonáza-1, Hb1Ac - glykovaný hemoglobin, NEFA – neesterifikované mastné kyseliny, TC - celkový cholesterol, TAG - triacylglyceroly, symboly pro statistickou významnost: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

Tabulka 1b. Vliv podávání 3.0 g PUFA n-3 na vybrané antropometrické a biochemické parametry – sloučené skupiny

podávaná látka	placebo	PUFA n-3
skupina	S+N	S+N
tělesná hmotnost (kg)	86,1 ± 13,5	86,1 ± 13,5
obvod pasu (cm)	99 ± 11	99 ± 11
IDL Lipoprint (mmol/l) ¹	1,42 ± 0,42	1,52 ± 0,42
xLDL Lipoprint (mmol/l) ²	1,79 ± 0,56	1,86 ± 0,54
sdLDL Lipoprint (mmol/l) ³	0,36 ± 0,33	0,30 ± 0,28*
xLDL + IDL Lipoprint (mmol/l)	3,21 ± 0,88	3,38 ± 0,86
VLDL-C UC (mmol/l)	0,74 ± 0,47	0,53 ± 0,28***
LDL-C UC (mmol/l) ⁴	3,06 ± 0,86	3,33 ± 0,89***
VLDL-TAG UC (mmol/l)	1,76 ± 1,13	1,28 ± 0,77***
LDL-TAG UC (mmol/l)	0,45 ± 0,15	0,40 ± 0,11
tHcy (μmol/l)	15,7 ± 5,8	15,8 ± 5,3
CD v LDL (μmol/l)	61,7 ± 22,4	57,8 ± 19,5
GPx (U/g Hb)	62,3 ± 16,2	60,0 ± 14,6

GR (U/g Hb)	8.06 ± 1.62	7.17 ± 1.56***
CAT (kU/g Hb)	192 ± 38	199 ± 37
PON1 (kU/l)	163 ± 50	175 ± 40*
Hb1Ac (% Hb)	3.88 ± 0.63	3.87 ± 0.75
inzulín (mU/l) ⁵	12.0 ± 6.9	12.3 ± 6.6
glukóza (mmol/l)	5.24 ± 0.75	5.38 ± 0.85
Lp(a) (g/l)	0.20 ± 0.24	0.18 ± 0.30
NEFA (mmol/l)	0.57 ± 0.24	0.49 ± 0.29
TC (mmol/l)	5.56 ± 1.30	5.62 ± 1.21
TAG (mmol/l) ⁵	3.22 ± 3.97	2.29 ± 1.99***
HDL-C (mmol/l)	1.18 ± 0.25	1.23 ± 0.26**
apo A1 (g/l)	1.21 ± 0.24	1.23 ± 0.28
apo B (g/l)	1.13 ± 0.27	1.16 ± 0.26
HDL-C/apo A1	0.99 ± 0.12	1.01 ± 0.15**
mikroalbuminurie (mg/l) ⁵	13.0 ± 22.5	9.0 ± 19.7*
albumin/kreatinin (v moči)	1.12 ± 2.09	1.02 ± 1.76

¹ odpovídá subfrakcím MID A,B,C v analýzách Lipoprint®, ²- subfrakce LDL1-7 v analýzách Lipoprint®, ³ subfrakce LDL 3-7 v analýzách Lipoprint®, ⁴ denzitní gradient odpovídá IDL+LDL ($d = 1,006-1,063$), ⁵ - Wilcoxonův párový test; Zkratky: VLDL- lipoproteiny o velmi nízké hustotě, IDL - lipoproteiny o střední hustotě, LDL - lipoproteiny o nízké hustotě, HDL - lipoproteiny o vysoké hustotě), UC –ultracentrifugace, GPx - glutathion peroxidáza, GR - glutathion reduktáza, CAT - kataláza, PON1 - paraoxonáza-1, Hb1Ac - glykovaný hemoglobin, NEFA – neesterifikované mastné kyseliny, TC - celkový cholesterol, TAG - triacylglyceroly, symboly pro statistickou významnost: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

Při srovnání změn téměř všech sledovaných analytů po podávání PUFA n-3 nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi skupinou S a skupinou N. Pouze koncentrace tHcy se po podávání PUFA n-3 ve skupině N významně snížila oproti změně ve skupině S ($-1,34 \pm 3,12$ vs $1,00 \pm 3,28$; mmol/l; $p < 0,01$).

Dále jsme analyzovali korelaci mezi koncentrací cholesterolu v UC frakci LDL ($d < 1,063$ g/ml), která obsahuje jak vlastní LDL ($1,019 < d < 1,063$; g/ml), tak i IDL ($d < 1,019$; g/ml), a součtem koncentrací LDL-C (LDL1 až 7) a IDL-C (MIDA až MIDC) určených pomocí diskontinuální elektroforézy. Korelační koeficient byl velmi těsný a statisticky významný ($r = 0,964$, $p < 0,0001$).

4.2. Terminální renální selhání

Porovnání hemodialyzovaných pacientů s kontrolní skupinou

V Tabulkách 2 a 3 jsou uvedeny základní klinické a biochemické charakteristiky HV-HDF a kontrolní skupiny (KON). Obě skupiny se nelišily v hodnotách základních antropometrických parametrů, jako věku, tělesné hmotnosti nebo BMI. U dialyzované skupiny jsme pozorovali vyšší hodnoty systolického krevního tlaku, zatímco hodnoty diastolického krevního tlaku byly vyšší u KON. Vliv přítomnosti DM v obou skupinách na studované parametry byl zanedbatelný. Obě skupiny měly podobný poměr muži/ženy jak u nediabetiků, tak mezi diabetiky (obě $p > 0,5$, χ^2 -test s Yatesovou korekcí). Dialyzovaní pacienti měli více zvýrazněné změny v hodnotách některých biochemických parametrů, jako vyšší koncentrace močoviny, kreatininu, glukózy a CRP. Rozdílné hodnoty parametrů lipidového metabolismu u skupiny HV-HDF, jako nižší koncentrace celkového cholesterolu (TC), byly způsobeny jak nižšími koncentracemi LDL-C, tak i HDL-C, zatímco koncentrace TAG byly u skupiny HV-HDF vyšší.

Tabulka 2. Základní klinické charakteristiky skupin HV-HDF a KON

	HV-HDF	KON
počet	57	50
muži (%)	35 (61 %)	32 (64 %) ^{NS}
věk (roky)	62,9 ± 12,7	61,6 ± 7,8 ^a
BMI (kg.m ⁻²)	28,1 ± 6,3	29,3 ± 5,0
DM n(%)	28 (49 %)	17 (34 %) ^{NS}
součet RF pro CVD (0-4/5-7)	34/23	39/11*
hypertenze (n (%))	29 (51 %)	37 (74 %) *
CVD n (%)	37 (65 %)	3 (6 %)***
dyslipidémie n (%)	51 (89 %)	49 (98 %) ^{NS}
terapie statiny n (%)	27 (47 %)	13 (26 %) *
systolický krevní tlak (mmHg)	143 ± 22	135 ± 16* ^b
diastolický krevní tlak (mmHg)	70 ± 15	88 ± 11***
optimální tělesná hmotnost (kg)	83 ± 21	86 ± 16

Zkratky: ^a data jsou ve formátu průměr ± S.D., ^b*p < 0,05, **p < 0,01, *** p < 0,001 (nepárový t-test), ^{NS} – bez statistické významnosti (χ^2 test s Yatesovou korekcí); HV-HDF – vysokoobjemová hemodiafiltrace, KON – kontrolní skupina; RF – rizikové faktory; CVD – kardiovaskulární nemoc

Mezi skupinami KON a HV-HDF jsme pozorovali rozdíly jak mezi apoB lipoproteiny, tak v subfrakcích HDL. Skupina HV-HDF měla vyšší obsah cholesterolu v částicích VLDL a částicích IDL na úkor nižšího zastoupení cholesterolu ve velkých LDL částicích. Tyto změny byly doprovázeny velkými rozdíly mezi koncentracemi cholesterolu v non-HDL a LDL částicemi ve skupině HD. Rozdíly mezi koncentracemi cholesterolu v sdLDL částicích nedosáhly statistické významnosti. Distribuce cholesterolu mezi subfrakcemi HDL byla též rozdílná: HV-HDF pacienti měli distribuci HDL cholesterolu posunutou směrem k větším subpopulacím. Naopak obsah cholesterolu ve středně velkých částicích HDL a malých HDL byl nižší u skupiny HV-HDF

Tabulka 3. Základní biochemické charakteristiky skupin HV-HDF a KON

	HV-HDF (n = 57)	KON (n = 50)
močovina (mmol/l)	17,8 ± 4,7	5,6 ± 1,4***
kreatinin (μmol/l)	681 ± 177	177 ± 18 ***
kyselina močová (μmol/l)	316 ± 63	320 ± 83
celkový protein (g/l)	67,1 ± 5,4	71,6 ± 4,2***
albumin (g/l)	38,1 ± 3,1	46,1 ± 1,9 ***
CRP (mg/l)	4,1 (2,5 - 9,9) ^c	2,5 (1,2 - 5,2)**
TC (mmol/l)	4,45 ± 1,01	5,15 ± 1,05 ***
TAG (mmol/l)	2,12 ± 1,10	1,52 ± 0,79 **
HDL-C (mmol/l)	1,19 ± 0,44	1,40 ± 0,39*
LDL-C (mmol/l)	2,29 ± 0,84	3,09 ± 0,81***
non-HDL-C – LDL-C (mmol)	0,96 ± 0,42	0,66 ± 0,29 ***
glukóza (mmol/l)	7,51 ± 3,65	5,29 ± 0,81***
AIP (poměr)	0,23 ± 0,34	0,01 ± 0,27 ***
eGFR (ml/s)	0,13 ± 0,05	1,41 ± 0,25 ***

Zkratky: AIP - atherogenní index plazmy ($= \log(\text{TAG}(\text{mmol/l})/\text{HDL-C}(\text{mmol/l}))$), eGFR – odhadovaná rychlost glomerulární filtrace (ml/s) ; ^a data jsou ve formátu průměr ± S.D., ^b * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ (nepárový t-test), ^c medián (Q1-Q4); HV-HDF – vysokoobjemová hemodiafiltrace, KON – kontrolní skupina

Analýzy u skupiny přeživších

Celkem jsme hodnotili 13 párovaných dat u skupiny přeživších. Základní charakteristika soborů pacientů je uvedena v tabulce 4. Na konci sledovaného období jsme zaznamenali rozdílné hodnoty u parametrů minerálové rovnováhy. Pro močovinu, kreatinin ani kyselinu močovou jsme nezaznamenali žádné trendy, ovšem koncentrace β2-mikroglobulinu se zvýšily během sledovaného období. Pokles koncentrace celkové bílkoviny nebyl doprovázen úbytkem koncentrace albuminu. Koncentrace CRP stouply.

Tabulka 4 - Základní charakteristiky přeživších na počátku a konci sledování po 5 letech

	počátek HV-HDF (n= 13)	konec sledování (n = 13)
BMI (kg.m ⁻²)	28,1 ± 7,1	27,6 ± 8,3
systolický krevní tlak (mmHg)	143,8 ± 19,6	136,2 ± 22,1 ^b
diastolický krevní tlak (mmHg)	74,0 ± 9,6	65,6 ± 16,4
celkový protein (g/l)	67,2 ± 6,1	62,2 ± 4,8*
albumin (g/l)	38,2 ± 2,9	38,0 ± 4,2
CRP (mg/l)	3,3 (1,7-4,0) ^c	9,1 (6,0-13,9)*
TC (mmol/l)	4,82 ± 0,98	4,24 ± 0,74
non-HDL-C – LDL-C (mmol)	0,96 ± 0,54	0,86 ± 0,52
TAG (mmol/l)	2,24 ± 1,49	1,92 ± 1,07
HDL-C (mmol/l)	1,32 ± 0,45	1,32 ± 0,44
LDL-C (mmol/l)	2,54 ± 0,65	2,06 ± 0,67*
glukóza (mmol/l)	5,0 (4,6-6,2)	5,4 (4,7-6,1)
AIP (poměr)	0,18 ± 0,35	0,13 ± 0,35
eGFR (ml/s)	0,11 ± 0,02	0,09 ± 0,03
doba dialýzy (hod/týden)	14,37 ± 1,00	13,74 ± 0,73
OCM (poměr)	1,62 ± 0,31	1,83 ± 0,31*
β ₂ -mikroglobulin (mg/l)	16,4 ± 2,4	21,2 ± 2,5***

Zkratky: AIP -atherogenní index plazmy (= $\log(\text{TAG}(\text{mmol/l})/\text{HDL-C}(\text{mmol/l}))$), eGFR – odhadovaná rychlost glomerulární filtrace (ml/s); HV-HDF – vysokoobjemová hemodiafiltrace; ^a data jsou ve formátu průměr ± S.D., ^b *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001 (párový t-test), ^c medián (Q1-Q4)

Změny v parametrech lipidového metabolismu zahrnovaly pouze snížení koncentrace LDL-C. Úbytky koncentrací TC a TAG nedosáhly statistické významnosti, což se také projevilo v nesignifikantních změnách hodnot aterogenního indexu plazmy (AIP). Na druhé straně jsme

pozorovali mnoho změn v distribucích lipoproteinových subfrakcí, a to jak u apoB, tak u HDL lipoproteinů. Po 5 letech došlo ke snížení obsahu cholesterolu u lipoproteinů VLDL, zatímco u LDL došlo ke zvýšení, které bylo způsobeno vyšším obsahem cholesterolu jak u velkých subfrakcí LDL, tak i u sdLDL. Distribuce HDL subfrakcí též doznala několika změn: po 5 letém období, zastoupení HDL cholesterolu u skupiny přeživších se zastoupení posunulo ve prospěch malých a středně velkých HDL subfrakcí, kdežto velké HDL subfrakce obsahovaly méně cholesterolu

5. Diskuse

5.1. Pacienti s MS

V patogenezi aterogenní dyslipidémie má klíčovou úlohu zvýšená produkce VLDL v játrech, zejména velkých částic VLDL-1 (Sf 100-400). U pacientů s MS se na této poruše podílí především nadměrný přívod FA do jater z tukové tkáně a stimulace lipogeneze de novo. V přímé souvislosti s hypertriacylglycerolémií dochází v cirkulaci k úbytku částic HDL2 a k zmnožení aterogenních částic LDL, zvláště sdLDL (Chan 2006).

Zatímco nízká plazmatická koncentrace HDL-C je všeobecně spojována se zvýšeným kardiovaskulárním rizikem, prognostický význam vzestupu HDL-C nelze jednoznačně interpretovat, protože nevypovídá o simultánních změnách jednotlivých faktorů, které se podílejí na reverzním transportu cholesterolu (Sethi 2010).

Metabolismus lipoproteinů příznivě ovlivňují PUFA řady n-3, a to v několika směrech. Jako přirozené ligandy regulují expresi důležitých transkripčních faktorů, např. PPAR α a SREBP-1c, čímž zlepšují inzulinovou senzitivitu ve svalstvu a v tukové tkáni (Nakamura 2004). Potlačují sekreci VLDL-1 a urychlují konverzi VLDL na LDL ve prospěch větších částic LDL (Bays 2008, Calabresi 2000). Podávání PUFA n-3 způsobí snížený katabolismus apoA1 v HDL bez výrazného vlivu na celkové koncentrace HDL-C, ale se zvýšeným podílem frakce HDL2 (Chan 2006).

Po šesti týdnech podávání relativně nízké terapeutické dávky 3,0 g ethylesterů EPA a DHA denně došlo v obou skupinách k významnému poklesu TAG v plazmě i ve VLDL, což svědčí o snížení počtu velkých částic VLDL. Přesun cholesterolu z VLDL do LDL provázal významný úbytek sdLDL, které byly obsaženy v subfrakcích LDL3 až 7, izolovaných metodou diskontinuální gelové elektroforézy (Lipoprint). Celkový počet lipoproteinových částic nesoucích na svém povrchu apo B se nezměnil.

Po suplementaci PUFA n-3 je popisován mírný vzestup koncentrace HDL-C a zvýšení poměru HDL2-/HDL3-C i zpomalení katabolismu apo A-I (Chapman 2011). V naší studii jsme pozorovali mírný vzestup koncentrace HDL-C v obou skupinách, avšak vzestup byl statisticky významný ve skupině S a v celém souboru. Zvýšení poměru HDL-C/apoA1 naznačuje, že vzestup koncentrace částic HDL2 navozený podáváním PUFA n-3 převážil nad zpomalením katabolismu apo A-I.

Studie z poslední doby potvrzují význam Lp(a) jako samostatného RF pro CVD, zvláště ischemickou chorobu srdeční a cévní mozkové příhody (Nordestgaard 2010). V našem souboru pacientů s MS se bazální hodnoty Lp(a) pohybovaly v pásmu hraničního rizika a po PUFA n-3 ve všech skupinách poklesly (pokles byl statisticky významný ve skupině S a v celém souboru). Výsledky naší studie tedy naznačují, že PUFA n-3 by také mohly snížit kardiovaskulární riziko a to příznivým ovlivněním hladiny Lp(a).

Kromě vlivu na metabolismus lipidů a glycidů byla popsána celá řada pleiotropních účinků PUFA n-3 (Robinson 2006). Se zřetelem na MS má zvláštní význam, že PUFA n-3 zasahují do některých patogenních mechanismů spojených se zvýšeným oxidačním stresem (Poudyal 2011). Konjugované dieny v LDL reflektují koncentraci minimálně oxidačně modifikovaných částic LDL (mm-LDL). V naší práci jsme zjistili, že CD po podávání PUFA n-3 mírně poklesly (v celém souboru na hranici statistické významnosti). Z ukazatelů antioxidační kapacity se po PUFA n-3 významně zvýšila aktivita PON1, enzymu asociovaného s HDL, který brání oxidaci LDL (Sorani 2009); současně poklesla aktivita GR, což při nezměněné aktivitě GPx ukazuje na zmenšení nároků pro recyklaci systému oxidovaný/redukovaný glutathion (Kodydková 2009).

Se zmírněním oxidačního stresu souvisí též pokles vylučování albuminu ledvinami. Albuminurie je důsledkem zvýšené permeability glomerulů pro albumin a tato porucha se vyskytuje zejména u pacientů s arteriální hypertenzí a s porušenou glukózovou tolerancí. U našich pacientů byly bazální hodnoty koncentrace albuminů v moči nižší. Renoprotektivní účinky PUFA n-3 byly opakovaně popsány (Shapiro 2011). U nemocných s diabetickou dyslipidemií léčených kombinací statin-fibrát snížila suplementace PUFA n-3 koncentrace TAG, hladiny tHcy a zmenšila albuminurii (Zeman 2006).

5.2. Pacienti s terminálním renálním selháním

Porovnání kontrolní a HV-HDF skupiny

Hodnoty biochemických parametrů stanovovaných v obou sledovaných skupinách odrážejí specifické rozdíly typické pro pacienty v hemodialyzačním programu, jako například změněný lipidový profil zahrnující snížené koncentrace HDL-C, LDL-C, TC a vyšší koncentrace TAG. Tyto změny jsou obvykle doprovázeny i rozdílnými distribucemi lipoproteinových částic, které jsou výsledkem zhoršeného vylučování i dysfunkce lipoproteinů a které vykazují zvýšené zastoupení subfrakcí s akumulací oxidačně

pozměněných lipidů (Vaziri 2014). Rozdělení lipoproteinů na jednotlivé subfrakce se v současné době provádí pomocí mnoha různých metod, zahrnujících ultracentrifugační postupy, NMR, gelovou elektroforézu a HPLC (Chung 2009). Navíc se data z těchto analýz stále častěji využívají při hodnocení kardiovaskulárního rizika. Lipoprint® je komerčně dostupný systém, který je poměrně rychlý, nenáročný na objem vzorku a na preanalytickou přípravu. Analýzy lipoproteinových subfrakcí pomocí systému Lipoprint u pacientů s ESRD se objevily teprve nedávno (Rysz-Górzyńska 2016, Gluba-Brzózka 2017a).

Změny ve skupině HV-HDF odpovídají výsledkům jiných studií porovnávajících HV-HDF pacienty s kontrolními skupinami bez terapie statiny a známky CVD. V naší kontrolní skupině byly známky CVD přítomny u několika jedinců (3 z 50). Progrese CVD u HV-HDF pacientů je spojována s vysokým zastoupením částic VLDL a IDL (Shoji 1998), což může být způsobeno jejich sníženým katabolismem díky nízké aktivitě LPL a/nebo sníženým vychytáváním remnantních částic jaterními LDL receptory a tzv. „LDL-receptor related proteins“ (Saland 2010). Nicméně data ukazující zvýšené zastoupení VLDL/IDL u pacientů s HV-HDF mohou být ovlivněna přítomností Lp(a) v IDL třídách separovaných elektroforeticky (Oravec 2013). Lipoproteinový profil u naší HV-HDF skupiny byl v soulase s výše uvedenými údaji, tzn. vykazoval zvýšené zastoupení cholesterolu v částicích VLDL a IDL na úkor velkých LDL částic.

Zastoupení HDL subtříd se u HV-HDF skupiny lišilo u všech tří hlavních skupin, ale stále upřednostňovalo větší částice. V současné době se stále diskutuje o vztahu jednotlivých HDL subtříd vzhledem k riziku/progresi CVD, přičemž velké HDL částice jsou často zmiňovány jako ateroprotektivní (Martin 2014). Na druhé straně, je známo, že malé HDL částice jsou účinnějšími akceptory cholesterolu než velké, na lipidy bohaté, HDL podtřídy. Zdá se tedy, že důležitým aspektem HDL částice je její struktura/složení, nejenom její velikost (Movva 2008). U hemodialyzovaných pacientů jsou malé HDL nezávislými prediktory úmrtí na CV komplikace (Vekic 2011). Ve skupinách sledovaných v této práci byl vztah mezi počtem konvenčních RF pro CVD a podtřídami HDL pozorován pouze u kontrolní skupiny (negativní korelace s obsahem cholesterolu ve velkých HDL, $r = -0,396$, $p < 0,01$; Spearmanův pořadový koeficient korelace, kladná korelace s obsahem cholesterolu v malých HDL, $r = 0,348$; $p < 0,05$), kdežto v HV-HDF skupině jsme žádné korelace nepozorovali. Zastoupení sumy rizikových faktorů pro CVD bylo asymetrické ve prospěch vyšších hodnot (> 4) ve skupině HV-HDF group (χ^2 -test s Yatesovou korekcí = 4,14, $p = 0,04$) v porovnání s kontrolní skupinou. Tento nálezn je v soulase s údaji ve studii Lia a kol. (Li 2016), kteří pozorovali

vymizení vztahu mezi počtem tradičních RF a obsahem cholesterolu ve velkých HDL u skupin pacientů s počtem rizikových faktorů > 4.

Porovnání skupin přeživších a nepřeživších

Skupina nepřeživších měla nevýznamně vyšší zastoupení pacientů s DM (χ^2 -test s Yatesovou korekcí; $p = 0,1$), což mohlo být spojeno s vyššími koncentracemi glukózy v této skupině a s vyšší úrovní chronického zánětu, protože koncentrace CRP byly u nepřeživších také vyšší. Vyšší hodnoty diastolického krevního tlaku pozorované u nepřeživších odpovídají známému U-typu vztahu mezi krevním tlakem a rizikem mortality u dialyzovaných pacientů (Hannedouche 2016), přičemž pro nízké hodnoty odráží tento vztah vliv srdečního selhávání. U těchto pacientů mohou hrát roli i jiné faktory, jako změny/jiné tlakové poměry, jež jsou odvislé od např. typu cévního přístupu (arteriovenózní fistula (AVF)) vs. trvalý katetr zavedený do v. jugularis interna. V naší skupině HV-HDF, u pacientů s AVF přístupem jsme pozorovali pouze nevýznamně vyšší hodnoty diastolického krevního tlaku (71 ± 14 vs. 61 ± 13 mmHg, AVF vs. CTH, $p > 0,8$). S výjimkou hodnot HDL-C, parametry lipidového metabolismu nerozlišovaly skupinu přeživších od nepřeživších.

Analýzy po 5 letech

Lipidové parametry se během sledovaného období neměnily s výjimkou snížení LDL-C. Lipidový metabolismus mohl reagovat na již přítomné rizikové faktory CVD u těch, kteří přežili pětileté sledované období a také období před vstupem do studie (medián 2 roky), přeuspořádáním lipoproteinových profilů. Tyto změny, patrné u apo B lipoproteinů jako přesun cholesterolu z VLDL do LDL částic za současného snížení hodnot LDL-C, naznačují remodelaci částic bohatých na TAG (i když celková koncentrace TAG v plazmě se nezměnila). Koncentrace apoB nebyly dostupné pro oba časové body, tedy nelze činit závěry ohledně změn absolutního počtu lipoproteinových částic. Někteří autoři dokonce přišli s hypotézou, že sdLDL nejsou u pacientů v HV-HDF programu spojeny s CV komplikacemi (Yeo 2009). V naší studii jsme pozorovali přesun cholesterolu z velkých HDL částic (jež jsou někdy považovány za důležitou součást progresu aterosklerózy (Qi 2015)) do středně velkých a malých HDL, které jsou též považovány za částice se vztahem k CVD během dlouhodobého sledování (Vekic 2011). Tento jev může být součástí komplexní odpovědi metabolismu částic HDL během dlouhodobé HD. V průběhu patogeneze CV komplikací u pacientů s ESRD jsou také možné změny ve funkci/proteomu HDL (Annema 2016). Zvýšená koncentrace β_2 -mikroglobulinu během sledování naznačuje postupné zhoršování reziduální funkce ledvin

(sekundární amyloidóza spojená se stárnutím a HD). Nicméně tento protein u našich pacientů neměl žádný vztah k zastoupení cholesterolu v lipoproteinových třídách

Doba sledování dosáhla 5 let, což bylo déle než medián trvání HD programu před vstupem do studie (2 roky). Stratifikace pacientů podle mediánu trvání již proběhlého HD programu na počátku studie (poměr muži/ženy mezi skupinami se nelišil) odhalila pouze malé rozdíly v apoB lipoproteinovém profilu: u pacientů s kratším trváním HD programu jsme našli nižší obsah cholesterolu ve VLDL a IDL částicích. Ostatní analyzované parametry se mezi těmito dvěma skupinami nelišily, až na koncentrace β_2 -mikroglobulinu, které byly nižší u skupiny pod medián trvání HD programu. Koncentrace TAG se nelišily. Obsah cholesterolu v jednotlivých lipoproteinových subfrakcích neměl vztah k trvání HD programu na počátku studie jak v celé skupině HV-HDF, jak v podskupinách přeživších i nepřeživších. Navíc jsme nepozorovali ani souvislost profilu lipoproteinů s parametrem dhadované rychlosti glomerulární filtrace (eGFR) jak u HV-HDF skupiny, tak u kontrolních osob.

Tato restrospektivní studie je první studie se sledováním přežívání u pacientů na HD, která se zabývá subfrakcemi HDL a apoB lipoproteinů měřených systémem Lipoprint® v homogenní skupině pacientů na HV-HDF. Mezi omezení studie patří nízký počet přeživších, znemožňující činit obecné závěry o lipidovém metabolismu, a nemožnost stanovovat trendy kvůli měření pouze ve dvou časových okamžicích. V této studii jsme nestanovovali proteiny spojené s metabolismem lipoproteinů, jako například strukturálních apolipoproteinů apoB100 a apoB48, a také aktivity enzymů měnících obsah lipoproteinů (lecitin-cholesterol acyltransferasa, lipoproteinová lipasa, protein přenášející cholesteryl estery nebo jaterní lipasa).

Změny pozorované v profilech lipoproteinů na konci sledovaného období ukazují na známky konvergence k lipoproteinovému fenotypu kontrolní skupiny. Zdali je to obecná situace u pacientů přežívajících po relativně dlouhou dobu v HD programu, nebo se jedná o dosud neznámý vliv na lipoproteinové částice, není zjevné. Problematika týkající se lipoproteinových subfrakcí u vysokoobjemové hemodiafiltrace bude nepochybně předmětem dalších studií.

6. Závěr

6.1. Pacienti s MS

V probíhající odborné diskusi o významu PUFA řady n-3 v léčbě poruch lipidového metabolismu a v prevenci CV onemocnění nebylo dosud dosaženo jednoty. Výsledky naší studie podporují názor, že pro pacienty s hypertriglyceridemií v rámci metabolického syndromu představují PUFA n-3 účinnou složku terapie, která příznivě ovlivňuje reziduální kardiovaskulární riziko a doplňuje tak účinky statinů.

6.2. Pacienti s ESRD

Pacienti s HD měli typické hodnoty lipidových parametrů doprovázené redistribucí apoB lipoproteinů do částic VLDL a IDL, spojené se zvýšeným obsahem cholesterolu v subfrakci velkých HDL částic. Vztah subfrakcí HDL k počtu rizikových faktorů CVD byl prokázán pouze u kontrolní skupiny.

Distribuce lipoproteinových tříd na počátku sledování se nelišily mezi skupinou přeživších a nepřeživších (s výjimkou hodnot HDL-C) a nebyly ve vztahu k hodnotám poměru intima/medie (IMT). Na konci sledovaného období došlo u přeživších k redistribuci cholesterolu v HDL částicích do menších podtříd, která byla podobná distribuci cholesterolu v HDL částicích u kontrolní skupiny. Změny v lipoproteinech nesoucích apoB byly též výsledkem redistribuce cholesterolu z VLDL do LDL částic. Hypolipidemická léčba u pacientů s HD neměla na lipoproteinový profil vliv.

7. Použitá literatura

- Ahotupa M, Ruutu M, Mäntylä E. Simple methods of quantifying oxidation products and antioxidant potential of low density lipoproteins. *Clin Biochem.* 1996; 29(2): 139-44.
- Alberti, KG., Zimmet, P., Shaw, J. metabolic syndrome – a new worldwide definition. A consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet.med.* 2006; 23: 469-480.
- Annema W, von Eckardstein A: Dysfunctional high-density lipoproteins in coronary heart diseases: implications for diagnostics and therapy. *Transl Res.* 2016; 173: 30-57.
- Araki A, Sako Y. Determination of free and total homocysteine in human plasma by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J Chrom B: Biomed Sci Appl.* 1987; 422: 43-52.
- Bays HE, Tighe AP, Sadovsky R, Davidson MH. Prescription omega-3 fatty acids and their lipid effects: physiologic mechanisms of action and clinical implications. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2008; 6: 391-409.
- Calabresi L, Donati D, Pazzuconi F, Sirtori CR, Franceschini G. Omacor in familial combined hyperlipidemia: Effects on lipids and low-density lipoprotein subclasses. *Atherosclerosis.* 2000; 148: 387-396.
- Dušejovská M., Staňková B., Vecka M., Rychlíková J., Mokrejšová M., Rychlík I. and Žák A.: Lipid metabolism in patients with end-stage renal disease: a five year follow-up study. *Current Vascular Pharmacology.* 2017 (in press)
- Gluba-Brzózka A, Franczyk B, Bartnicki P, Rysz-Górzyńska M, Rysz J: Lipoprotein subfractions, uric acid and cardiovascular risk in end-stage renal disease (ESRD) patients. *Curr Vasc Pharmacol.* 2017; 15: 1-12.
- Hannedouche T, Roth H, Krummel T, London GM, Jean G, Bouchet JL, Drüeke TB, Fouque D, on behalf of the French Observatory: Multiphasic effects of blood pressure on survival in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2016; 90(3): 674-684.
- Chan DC, Barrett PH, Watts GF. Recent studies of lipoprotein kinetics in the metabolic syndrome and related disorders. *Curr Opin Lipidol.* 2006; 17: 28-36.

- Chan DC, Watts GF, Nguyen MN, Barrett PH. Factorial study of the effect of n-3 fatty acid supplementation and atorvastatin on the kinetics of HDL apolipoproteins A-I and A-II in men with abdominal obesity. *Am J Clin Nutr* 2006; 84: 37-43.
- Chapman JM, Ginsberg HN, Amarceno P, Andreotti F, Borén J, Catapano AL, Descamps OS, Fisher E, Kovanen PT, Kulvenhoven JA, Lesnik P, MASana L, Nordestgaard BG, Ray KK, Reiner Z, Taskinen MR, Tokgözoğlu L, Tybjaerg-Hansen A., Watts GF. Triglyceride-rich lipoproteins and high-density lipoprotein cholesterol in patients at high risk of cardiovascular disease: evidence and guidance for management. *Eur Heart J* 2011; 32: 1345-1361.
- Chung M, Lichtenstein AH, Ip S, Lau J, Balk EM: Comparability of methods for LDL subfraction determination: a systematic review. *Atherosclerosis*. 2009; 205: 342-348.
- Kodykova J, Vavrova L, Zeman M, Jiráček R, Macášek J, Stanková B, Tvrzická E, Žák A. Antioxidative enzymes and increased oxidative stress in depressive women. *Clin Biochem*. 2009; 42: 1368-1374.
- Martin SS, Jones SR, Toth PP: High-density lipoprotein subfractions: current views and clinical practice applications. *Trends Endocrinol Metab* 2014; 25(7): 329-336.
- Movva R et al. Laboratory assessment of HDL heterogeneity and function. *Clin Chem*. 2008; 54: 788-800.
- Movva R, Rader DJ. Laboratory assessment of HDL heterogeneity and function. *Clin Chem*. 2008; 54: 788-800.
- Nakamura MT, Cheon Y, Li Y, Nara TY. Mechanisms of regulation of gene expression by fatty acids. *Lipids*. 2004; 39: 1077-1083.
- Nordestgaard BG, Chapman MJ, Ray K, Borén J, Andreotti F, Watts GF, Ginsberg H, Amarenco P, Catapano A, Descamps OS, Fisher E, Kovanen PT, Kuivenhoven JA, Lesnik P, Masana L, Reiner Z, Taskinen MR, Tokgözoğlu L, Tybjærg-Hansen A; European Atherosclerosis Society Consensus Panel. Lipoprotein(a) as a cardiovascular risk factor: current status. *Eur Heart J*. 2010; 31: 2844-2853.
- Oravec S, Dostal E, Gruber K: Lipoprotein Lp(a) in lipoprotein spectrum identified by Lipoprint LDL system. *Neuroendocrinol Lett*. 2013; 34(4): 309-313.

- Poudyal H, Panchal SK, Diwan V, Brown L. Omega-3 fatty acids and metabolic syndrome: effects and emerging mechanisms of action. *Prog Lipid Res.* 2011; 50: 372-387.
- Qi Y, Fan J, Liu J, Wang W, Wang M, Sun J, Liu J, Xie W, Zhao F, Li Y, Zhao D: Cholesterol-overloaded HDL particles are independently associated with progression of carotid atherosclerosis in a cardiovascular disease-free population. *J Am Coll Cardiol.* 2015; 65(4): 355-363.
- Robinson JG, Stone NJ. Antiatherosclerotic and antithrombotic effects of omega-3 fatty acids. *Am J Cardiol.* 2006; 98: 39i-49i.
- Rychlík, I., Nehézová, K. Epidemiologie chronického onemocnění ledvin. *Pokroky v oboru nefrologie.* 2009, 3(1):11-20.
- Rysz-Górzyńska M, Gluba-Brzózka A, Banach M: High-density lipoprotein and low-density lipoprotein subfractions in patients with chronic kidney disease. *Curr Vasc Pharmacol.* 2016 Oct 2. [Epub ahead of print]
- Saland JM, Parekh RS: Chapter 11 – Dyslipidemia in Renal Disease in: *The John Hopkins Textbook of Dyslipidemia* (Ed. Kwiterovich PO Jr), Wolters Kluwer, Philadelphia, U.S.A. 2010; 132-142.
- Sethi AA, Sampson M, Warnick R, Muniz N, Vaisman B, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A, Remaley AT. High pre- β 1 HDL concentrations and low lecithin:cholesterol acyltransferase activities are strong positive risk markers for ischemic heart disease and independent of HDL-cholesterol. *Clin Chem.* 2010; 56: 1128-1137.
- Shapiro H, Theilla M, Attal-Singer J, Singer P. Effects of polyunsaturated fatty acids consumption in diabetic nephropathy. *Nat Rev Nephrol.* 2011; 7: 110-121.
- Shoji T, Nishizawa, Kawagishi, Kawasaki K, Taniwaki H, Tabata T, Inoue T, Morii H: Intermediate-density lipoprotein as an independent risk factor for aortic atherosclerosis in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol.* 1998; 9: 1277-1284.
- Soran H, Younis NN, Charlton-Menys V, Durrington P. Variation of paraoxonase-1 activity and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol.* 2009; 20: 265-274.

- Tvrzicka E, a kol. Analysis of Fatty Acids in Plasma Lipoproteins by Gas Chromatography-flame Ionization Detection: Quantitative Aspects. *Analytica Chimica Acta*. 2002; 465: 337-350.
- Tvrzická E, M Vecka M, B Staňková B, A Žák A: Analysis of fatty acids in plasma lipoproteins by gas chromatography–flame ionization detection: Quantitative aspects. *Anal Chim Acta*. 2002; 465(1–2): 337–350.
- Vaziri ND: Role of dyslipidemia in impairment of energy metabolism, oxidative stress, inflammation and cardiovascular disease in chronic kidney disease. *Clin Exp Nephrol*. 2014; 18: 265-268.
- Vekic J, Zeljkovic A, Bogavac-Stanojevic N, Jelic-Ivanovic Z, Spasojevic-Kalimanovska V, Simic-Ogrizovic S, Dopsaj V, Spasic S: Cox proportional hazard model analysis of survival in end-stage renal disease patients with small-sized high-density lipoprotein particles. *Clin Biochem*. 2011; 44(8-9): 635-41.
- Zeman M, Žák A, Vecka M., Tvrzická E., Písaříková A., Staňková B. N-3 fatty acid supplementation decreases plasma homocysteine in diabetic dyslipidemia treated with statin-fibrate combination. *J Nutr Biochem*. 2006; 17: 379-384.

8. Seznam publikací

8.1. Publikace in extenso, které jsou podkladem dizertace

a) s IF

Dušejvská M, Staňková B, Vecka M, Rychlíková J, Mokrejšová M, Rychlík I, Žák A. Lipid metabolism in patients with end-stage renal disease: a five year follow-up study. *Current Vascular Pharmacology*. 2017 IF 2,374 v tisku

Vecka M, Dušejvská M, Staňková B, Zeman M, Vávrová L, Kodydková J, Slabý A, Žák A. N-3 polyunsaturated fatty acids in the treatment of atherogenic dyslipidemia. *Neuroendocrinology Letters*. 33(Suppl.2), 2012, 87-92. IF = 0.93.

8.2. Publikace in extenso bez vztahu k tématu dizertace

a) s IF

Vávrová L, Kodydková J, Zeman M, Dušejvská M, Macášek J, Staňková B, Tvrzická E, Žák A. Altered activities of antioxidant enzymes in patients with metabolic syndrome. *Obesity Facts*. 6(1), 2013, 39-47. IF = 1.705

b) bez IF

Dušejvská M, Vařeka T, Macášek J, Hrubant K, Žák A, Zeman M. Shyùv-Dragerův syndrom. *Časopis lékařů českých* 149(5), 2010, 225-228.

Zeman M, Jirák R, Žák A, Jáchymová M, Vecka M, Tvrzická E, Staňková B, Dušejvská M. Metabolický syndrom a deprese - klinické vztahy. *Časopis lékařů českých*. 147(2), 2008, 75-80.