

**Univerzita Karlova
1. lékařská fakulta**

Studijní program: kombinovaný
Studijní obor: biochemie a patobiochemie



**UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta**

MUDr. Magdaléna Dušejovská

Velikost jednotlivých lipoproteinových částic u různých patologických stavů

The size of individual lipoproteins in various pathological conditions

Typ závěrečné práce: Disertační

Školitel:

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

Konzultant:

Prof. MUDr. Ivan Rychlík, CSc., FASN, FERA 1. interní klinika 3. LF UK

Praha, 2017

Prohlášení:

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

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

V Praze, 31. 5. 2017

Magdaléna Dušejovská

Identifikační záznam:

DUŠEJOVSKÁ, Magdaléna. Velikost jednotlivých lipoproteinových částic u různých patologických stavů. [*The size of individual lipoproteins in various pathological conditions*]. Praha, 2017. 90 stran, 2 přílohy. Disertační práce. Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta, IV. interní klinika. Školitel Prof. MUDr. Aleš Žák, DrSc. Konzultant: Prof. MUDr. Ivan Rychlík CSc., FASN, FERA

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 léčených vysokoobjemovou on-line hemodiafiltrací (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 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 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 in patients with MS 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 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.

Poděkování

Děkuji školiteli Prof. MUDr. Aleši Žákovi DrSc. a konzultantu Prof. MUDr. Ivanu Rychlíkovi CSc., FASN, FERA za odborné vedení disertační práce a velkou podporu. Dále za praktickou pomoc, nesčetné rady, asistenci při zpracování biologického materiálu a statistických výpočtů Mgr. Barboře Staňkové a RNDr. Marku Veckovi, PhD. V neposlední řadě bych ráda poděkovala své rodině za podporu v průběhu celého studia.

Práce byla podpořena výzkumnými projekty: *RVO-VFN64165/2012* a *PROGRES Q25/LF1/2*

Obsah

1	ÚVOD	7
2	LITERÁRNÍ PŘEHLED	9
2.1	Lipoproteiny, apolipoproteiny a jejich klinický význam	9
2.2	Metabolická přeměna lipoproteinů	11
2.3	Analytické možnosti vyšetření subfrakcí lipoproteinů	14
3	PORUCHY METABOLISMU LIPOPROTEINŮ U VYBRANÝCH PATOLOGICKÝCH STAVŮ	17
3.1	Lipoproteiny a kardiovaskulární komplikace	17
3.2	Metabolický syndrom	18
3.2.1	Definice	19
3.2.2	Incidence a prevalence metabolického syndromu	20
3.2.3	Etiologie a patogeneze metabolického syndromu	20
3.2.4	Dyslipidémie spojená s MS	23
3.3	Renální selhání	28
3.3.1	Definice ESRD	29
3.3.2	Incidence a prevalence ESRD	29
3.3.3	Etiopatogeneze ESRD	29
3.3.4	Patogeneze ESRD	30
3.3.5	Dyslipidémie spojená s ESRD	31
4	CÍLE PRÁCE	33
5	MATERIÁL A METODY	34
5.1	Výběr pacientů	34
5.1.1	Soubor pacientů s metabolickým syndromem	34
5.1.2	Soubor pacientů s ESRD	37
5.2	Vyšetřovací metody	38
5.2.1	Biochemické parametry plazmy	39
5.2.2	Ostatní použité metodiky	40
5.3	Statistické zpracování	45
6	VÝSLEDKY	46
6.1	Metabolický syndrom	46
6.2	Terminální renální selhání	53
7	DISKUZE	64
8	ZÁVĚR	73
9	LITERATURA	74
10	PŘÍLOHY	86
11	SEZNAM PUBLIKACÍ	87

1 ÚVOD

V důsledku demografických trendů, socioekonomických změn i zlepšení lékařské péče se v posledních letech celosvětově změnila prevalence kardiovaskulárních onemocnění. I když došlo v posledních letech v České republice k podstatnému poklesu úmrtnosti na kardiovaskulární onemocnění (CVD, cardiovascular disease), choroby srdce a cév zůstávají hlavní příčinou smrti. Podobné trendy lze dokumentovat i v ostatních evropských zemích (*ÚZIS 2016*). Srovnání výskytu a úrovně rizikových faktorů (RF) dokumentovalo především pokles koncentrace celkového cholesterolu (TC, total cholesterol) a cholesterolu v lipoproteinech o nízké hustotě (LDL, low density lipoproteins) spolu se zvýšením počtu osob, které dosáhly doporučených cílových hodnot. Příčinou tohoto příznivého výsledku byla změna životního stylu a především pak nárůst účinné hypolipidemické léčby, především podávání statinů. Stejně jako se podařilo snižovat koncentrace celkového a LDL cholesterolu (LDL-C), zlepšila se také kontrola arteriální hypertenze. Proti těmto změnám působí negativní RF, které udržují CVD na předních místech statistik morbidit a mortality. Mezi negativními faktory se uplatňuje vysoká prevalence kouření a především zvyšující se výskyt obezity (resp. nadváhy) a s ní asociovaných patologických stavů. Závažnost obezity a nadváhy jako významného celosvětového problému je uznávána od 90. let minulého století, kdy Světová zdravotnická organizace jako první vyhlásila její výskyt za alarmující. Epidemie nadváhy a obezity je spojena se zvýšením prevalence závažných zdravotních problémů, jako je diabetes mellitus 2. typu (DM 2T), kardiovaskulární nemoci i řady dalších, mezi které se řadí některé zhoubné nádory a neurologicko-psychiatrická onemocnění (*Kunešová et al. 2016*).

Odhadovaný nárůst mortality na CVD v ekonomicky vyspělých zemích činil mezi roky 1990 až 2013 více než 40 %. Podkladem tohoto nepříznivého trendu byla hlavně arteriální hypertenze, obezita a s ní spojené patologické stavy, jako DM 2T a metabolický syndrom (MS). Tyto stavy jsou úzce spojeny s inzulínovou rezistencí, dyslipidemií a systémovým subklinickým zánětem. Za stejné období byl zaznamenán také nárůst úmrtí na chronické onemocnění ledvin (CKD, chronic kidney diseases) o více než 100 % (*GBD 2013*), hlavně díky komplikacím spojených s aterosklerotickými kardiovaskulárními příhodami a srdečním selháním u těchto nemocných.

Základním rizikovým faktorem CVD jsou zvýšené koncentrace celkového, resp. LDL cholesterolu. Je známo, že snížení koncentrace LDL-C o 1 mmol/l průměrně snižuje mortalitu a morbiditu na CVD o 22 %. Moderní léčba inhibitory biosyntézy cholesterolu (statiny),

případně kombinační hypolipidemická léčba, která je v posledních letech uplatňována, nevedla ale k podstatnému snížení mortality a morbidity na CVD (*Catapano et al. 2011*). Tento poznatek vedl ke konceptu reziduálního kardiovaskulárního rizika, daného především přetrvávajícími zvýšenými koncentracemi triacylglycerolů (TAG) a apolipoproteinu B (apoB) u nemocných léčených statiny, dále snahou o přehodnocení s novým pohledem na konvenční RF a také úsilím o definici nových rizikových faktorů, včetně metabolických (*Agrawal et al. 2016*). Mezi nově přehodnocené rizikové faktory patří zvýšení koncentrací TAG, které jsou považovány za surogátní marker koncentrace lipoproteinů bohatých na TAG (TRL, triglyceride rich lipoproteins). Změna koncentrace TAG o 1 mmol/l je spojena se změnou rizika CVD o 14 % (*Dallinga-Thie et al. 2016; Nordestgaard 2016*). Zvýšení koncentrace TRL je součástí změn zjišťovaných u MS a DM 2T. Dnes je nepochybně prokázáno, že TRL, s výjimkou chylomikronů (CM), mají *přímé* aterogenní účinky a *nepřímé* aterogenní působení následků hypertriacylglycerolémie (HTAG, převaha malých denzních LDL, pokles koncentrace cholesterolu obsaženého v lipoproteinech o vysoké hustotě, inzulínová rezistence, prokoagulační stav). Další ze směrů výzkumu byl zaměřen na analýzu subfrakcí lipoproteinů LDL a lipoproteinů o vysoké hustotě (HDL, high density lipoproteins) jako významných rizikových i protektivních protagonistů aterogenního procesu (*Pokharel et al. 2015*).

Cílem obecného úvodu je zasazení vlastního tématu disertace do širšího kontextu dalších souvisejících oblastí výzkumu, které se týkají změn metabolismu lipoproteinů LDL a HDL se zřetelem na změny koncentrace a distribuce cholesterolu v podtřídách LDL a HDL u dvou patologických stavů – metabolického syndromu a chronického onemocnění ledvin (*Reyes-Soffer a Ginsberg 2015; Jardine et al. 2015*), jejichž přítomnost zařazuje jedince do kategorie s velmi vysokým (resp. vysokým) rizikem pro vznik fatálního CVD (*Catapano et al. 2016*).

2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 Lipoproteiny, apolipoproteiny a jejich klinický význam

Lipoproteiny (LP) jsou částice tvořené lipidovou a bílkovinnou složkou. Vzhledem k amfipatickému charakteru bílkovin obsažených v lipoproteinových částicích umožňují transport lipidů ve vodném prostředí (Tabulka 1). Bílkovinná část, apoprotein, je v organismu důležitá jako strukturální částice lipoproteinů, kofaktor enzymů funkčních v lipoproteinovém metabolismu, dále zprostředkovává vazbu lipoproteinové částice na specifický receptor a rovněž se účastní přenosu lipidů mezi jednotlivými lipoproteiny – Tabulka 2.

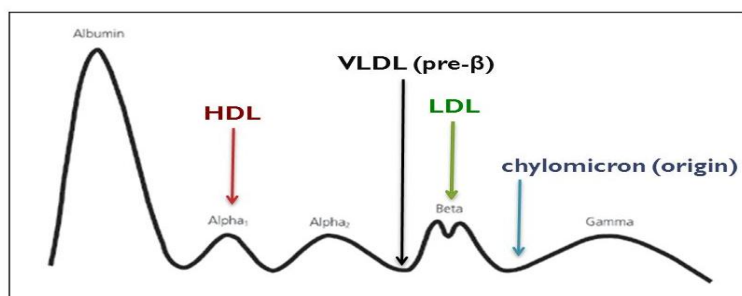
Tabulka 1 - Charakteristika lidských plazmatických lipoproteinů

LP třída	Velikost (nm)	Hustota g/ml	Místo syntézy/substrát	Hlavní lipidová třída	Funkce
Chylomikron	80 - 500	< 0,94	střevo	TAG	transport exogenních TAG
VLDL	30 - 80	0,94 - 1,006	játra	TAG (endogenní)	transport endogenních TAG
IDL	25 - 35	1,006 - 1,019	katabolismus VLDL	TAG, CE	dopředný transport cholesterolu
LDL	18 - 28	1,019 - 1,063	katabolismus IDL	CE	dopředný transport cholesterolu
HDL ₂	9 - 12	1,063 - 1,125	játra, střevo, povrch CM a VLDL	PL, CE	reverzní transport cholesterolu
HDL ₃	5 - 9	1,125 - 1,210	HDL ₂	PL, CE	reverzní transport cholesterolu
Lipoprotein(a)	25 - 35	1,050 - 1,100	játra	CE	inhibice aktivace plazminogenu, další neznámá

Zkratky: CE – cholesterol estery, CM – chylomikrony, IDL – lipoproteiny o střední hustotě, LDL – lipoproteiny o nízké hustotě, PL – fosfolipidy, TAG – triacylglyceroly, VLDL – lipoproteiny o velmi nízké hustotě

Lipoproteiny lze rozdělit dle několika hledisek. Nejčastěji používané dělení lipoproteinů je prováděno na základě fyzikálně-chemických vlastností. Dle elektroforetické pohyblivosti na polyakrylamidu lze LP rozdělit na CM, lipoproteiny o velmi nízké hustotě (VLDL, very low density lipoproteins, post-beta), LDL (beta), HDL (alfa). Na agaróze se dělí v pořadí: CM, beta (LDL), pre beta (VLDL) a alfa - Obrázek 1.

Obrázek 1 – Separace lipoproteinů na agarózovém gelu



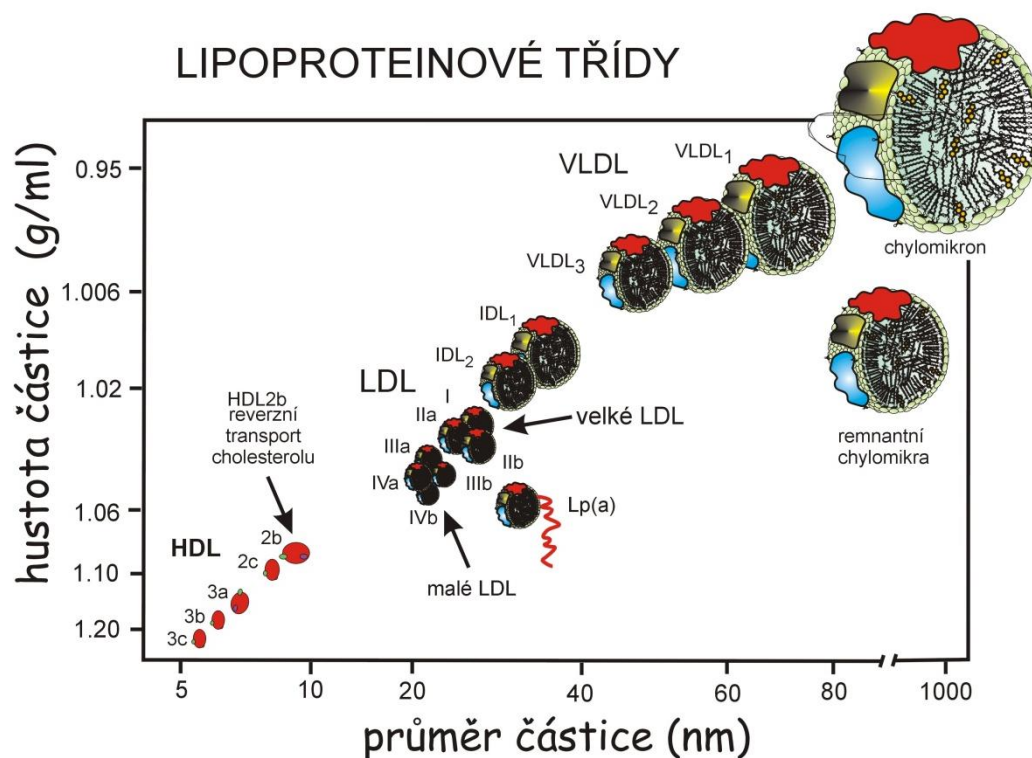
Zkratky: HDL – lipoproteiny o vysoké hustotě, LDL – lipoproteiny o nízké hustotě, VLDL – lipoproteiny o velmi nízké hustotě (podle Masaratana 2017)

Tabulka 2 – Charakteristika hlavních plazmatických apolipoproteinů

Apolipoprotein	Hlavní LP třída	Mr (kDa)	Koncentrace (g/l)	Funkce
A-I	HDL _{2,3}	28,5	0,9-1,6	transportní, vazba na HDL-receptor, aktivace LCAT
A-II	HDL ₃	17,4	0,25-0,50	transportní, aktivace HL
A-IV	CM, HDL _{2,3}	45,0	< 0,05	RCT, aktivace LCAT, absorpce exogenních TAG a tvorba CM
A-V	VLDL, CM	39,0	< 0,05	aktivace lipolýzy vazba Lp na plazminogen
B-100	VLDL, LDL	512,7	0,60-1,20	transportní, vazba na LDL-R
B-48	CM	241	0-0,10	transportní
C-I	CM, VLDL	6,6	0,05-0,06	aktivace LCAT, inhibice vazby apoE na LDL-R, inhibice CETP
C-II	CM, VLDL	8,8	0,03-0,05	aktivace LPL
C-III ₀₋₃	CM, VLDL	8,7	0,10-0,14	inhibice LPL inhibice i vazby apoE z TRL a LDL-R
D	HDL ₃	29,0-33,0	0,04-0,07	aktivace RCT a CETP
E	CM, IDL	34,1	0,02-0,08	vazba CM na LRP vazba LDL a IDL na LDL-R
Apo(a)	Lp(a)	250-800	0-2,0	inhibice aktivace plazminogenu
H	HDL	54,0	0-0,2	aktivace LPL

Zkratky: CETP – transferový protein esterů cholesterolu, CM – chylomikrony, HDL – lipoproteiny o vysoké hustotě, HL – jaterní lipáza, IDL – lipoproteiny o střední hustotě, LCAT – lecitin:cholesterol acyltransferáza, LDL – lipoproteiny o nízké hustotě, LDL-R – LDL receptor, LPL- lipoproteinová lipáza, LRP – receptor related protein (CM receptor), LP – lipoprotein, M_r – relativní molekulová hmotnost, RCT – reverzní transport cholesterolu, TAG - triacylglyceroly, TRL – lipoproteiny bohaté na TAG, VLDL – lipoproteiny o velmi nízké hustotě

Obrázek 2 – Třídy lipoproteinů



Zkratky: HDL – lipoproteiny o vysoké hustotě, IDL – lipoproteiny o střední hustotě, LDL – lipoproteiny o nízké hustotě, VLDL – lipoproteiny o velmi nízké hustotě (upraveno podle Vecka 2017)

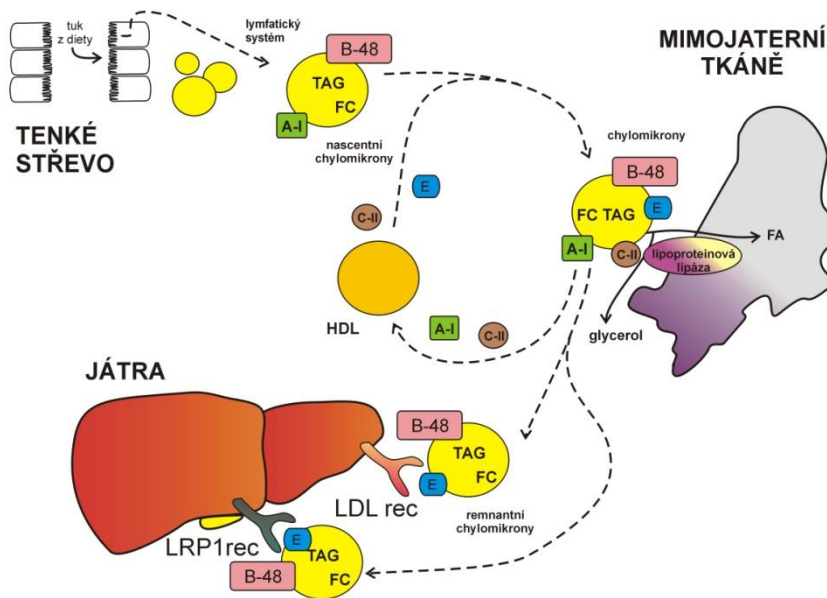
Částice LDL i HDL jsou heterogenní (Obrázek 2) a dále se rozdělují na jednotlivé subfrakce, přičemž počet/vlastnosti těchto subtríd se liší podle použitých metodik. Kromě odlišných fyzikálních vlastností mají jednotlivé částice i různý aterogenní potenciál. Lipoprotein(a) [Lp(a)] je také zařazován mezi lipoproteiny. Zvýšené koncentrace Lp(a) představují samostatný RF pro rozvoj ischemické choroby srdeční (ICHS), přičemž nepříznivý účinek tohoto lipoproteinu se vysvětluje působením v koagulační kaskádě. Molekula Lp(a) je homologní s plazminogenem, kompetuje s ním o receptor s následným snížením fibrinolytické aktivity. Dále se také nachází v aterosklerotických lézích (Češka 2006).

2.2 Metabolická přeměna lipoproteinů

Transport lipidů v krevním oběhu pomocí lipoproteinových částic je úzce spjat s jejich metabolickými přeměnami. Dopředný transport cholesterolu lze rozdělit podle hlavního zdroje lipidových molekul (cholesterolu) na exogenní a endogenní metabolickou cestu. Exogenní cesta začíná inkorporací dietních lipidů do nově sestavované chylomikronové

částice v enterocyty (Obrázek 3). Triacylglyceroly v CM jsou hydrolyzovány pomocí lipoproteinové lipázy (LPL), hlavně v tukové a svalové tkáni, a remnantní částice jsou vychytávány játry.

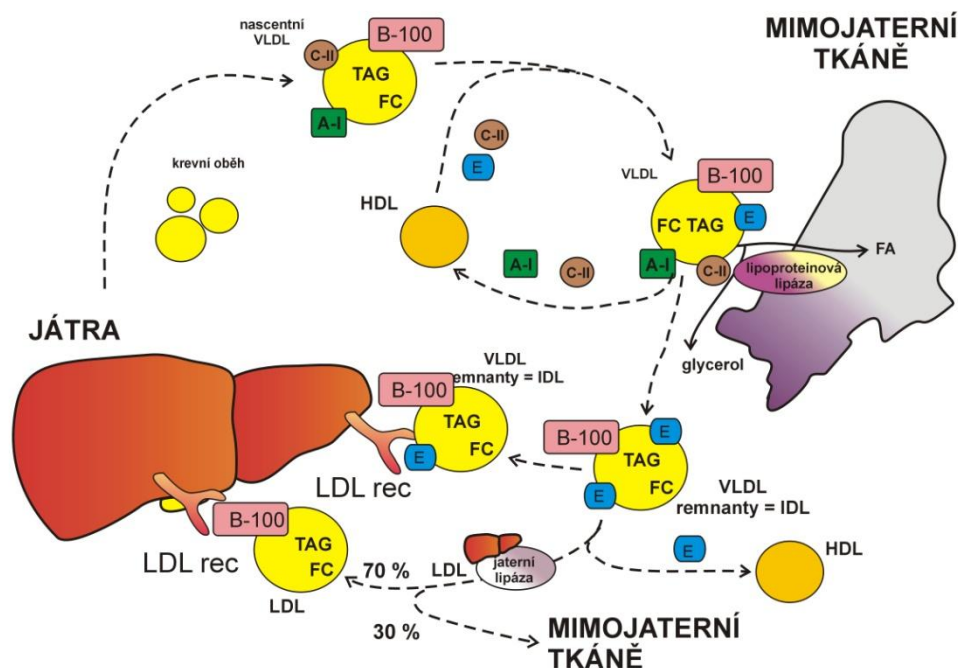
Obrázek 3 Metabolismus chylomikronů



Zkratky: FA – mastné kyseliny, FC – volný cholesterol, TAG – triacylglyceroly, HDL – lipoproteiny o vysoké hustotě, apolipoproteiny jsou znázorněny obdélníkovými rámečky (upraveno podle Vecka 2017)

Endogenní metabolická cesta začíná analogicky formováním částic VLDL v hepatocytech a metabolizací TAG, přičemž vzniklé lipoproteiny o střední hustotě (IDL, intermediary density lipoproteins) jsou většinou dále hydrolyzovány na LDL. Částice LDL jsou internalizovány v jaterních i mimojaterních tkáních pomocí LDL receptoru (Obrázek 4).

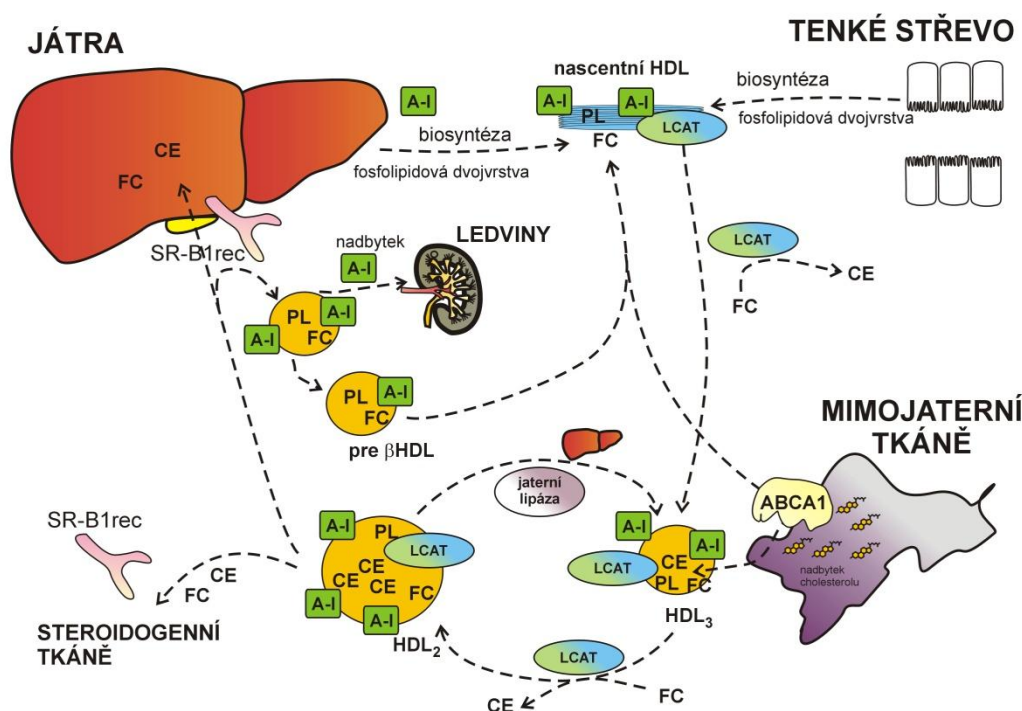
Obrázek 4 Metabolismus VLDL



Zkratky: FA – mastné kyseliny, FC – volný cholesterol, TAG – triacylglyceroly, HDL – lipoproteiny o vysoké hustotě, IDL – lipoproteiny o střední hustotě, LDL – lipoproteiny o nízké hustotě, VLDL – lipoproteiny o velmi nízké hustotě, rec – receptor, apolipoproteiny jsou znázorněny obdélníkovými rámečky (upraveno podle Vecka 2017)

Reverzní transport cholesterolu (Obrázek 5) začíná tvorbou nascentních HDL částic v játrech nebo ve střevě. Dalším přísunem cholesterolu a fosfolipidů (PL, phospholipids) z buněčných membrán (např. pomocí transportních molekul ABCA1) je vytvořena částice HDL, která může dále přijímat cholesterol z buněk pomocí ABCG1, SR-B1 nebo dokonce pasivní difúzí. Vlastní reverzní transport cholesterolu je dokončen vychytáváním HDL játry nebo nepřímo přes přesun cholesterolu z HDL do VLDL (přeměněny dále na LDL, viz Obrázek 4), jež jsou nakonec také internalizovány hepatocyty.

Obrázek 5 Metabolismus HDL



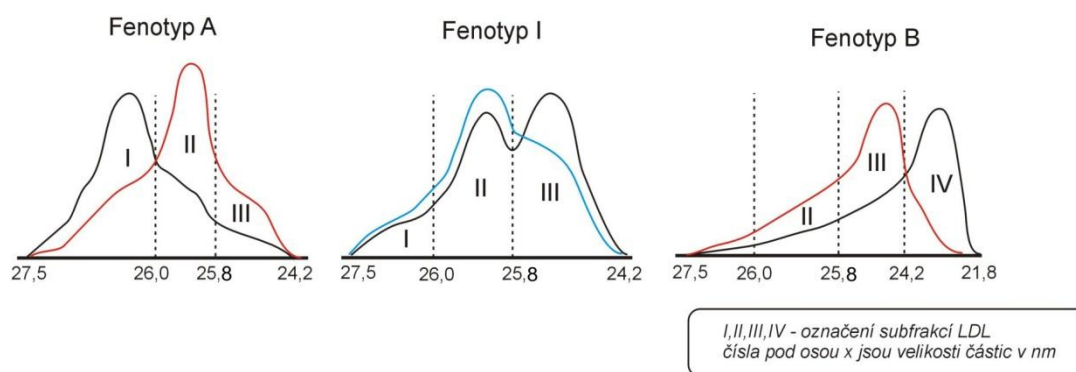
Zkratky: CE – cholesteryl estery, FC – volný cholesterol, TAG – triacylglyceroly, HDL – lipoproteiny o vysoké hustotě, IDL – lipoproteiny o střední hustotě, LCAT – lecithin:cholesterol acyltransferáza LDL – lipoproteiny o nízké hustotě, VLDL – lipoproteiny o velmi nízké hustotě, rec – receptor, apolipoproteiny jsou znázorněny obdélníkovými rámečky; v obrázku nejsou znázorněny výměny apolipoproteinů a lipidových tříd mezi HDL a VLDL (IDL, LDL), (upraveno podle Vecka 2017)

2.3 Analytické možnosti vyšetření subfrakcí lipoproteinů

Subfrakcionace lipoproteinových tříd využívá v současné době hlavně rozdílnou velikost lipoproteinových subfrakcí, i když lipoproteinové třídy lze dělit i podle obsahu apolipoproteinů, například HDL třídu podle toho, zda částice HDL obsahují apoA-I nebo apoA-I spolu s apoA-II (Asztalos et al. 2011).

Analýza velikosti lipoproteinových částic má klinický význam. Zvýšené zastoupení malých denzních LDL (sdLDL) je jedním z rysů aterogenní dyslipidémie (ADL, synonymum aterogenní lipoproteinový fenotyp), která vzniká na podkladě inzulínové rezistence, a přítomnost sdLDL je asociována se zvýšeným rizikem CVD (Austin et al. 1988). Z praktického hlediska je elektroforetické rozdělení LDL částic popisováno jako fenotyp A, B, nebo smíšený (I), přičemž jako hranice odlišující malé částice od větších byla stanovena na 25,8 nm (gradientová gelová elektroforéza) nebo i 26,8 nm (v případě gelové elektroforézy v trubičkách) (Doi et al. 2008, Berneis a Krauss 2002).

Obrázek 6 Fenotypy distribucí LDL velikostí



převaha velkých LDL

smíšená distribuce

převaha malých LDL

(upraveno podle Rizzo a Berneis 2006)

Podobně částice VLDL můžeme rozdělit na podtřídy s rozdílnými metabolickými vlastnostmi: velké VLDL₁ s vysokým obsahem TAG a menší VLDL₂ s nižším obsahem TAG; někdy jsou v plazmě přítomny i aterogenní, malé VLDL₃ (McLeod a Yao 2016).

Heterogenita částic HDL (Asztalos et al. 2011) sahá od nejmenších pre β -HDL částic o velikosti cca 6 nm až po HDL_{2b} subfrakci dosahující průměru více než 13 nm.

V současné době se pro dělení jednotlivých lipoproteinových tříd používá mnoho postupů (Tabulka 3), z nichž nejpoužívanější zahrnují ultracentrifugaci (UC), nukleární magnetickou rezonanci (NMR), gelovou elektroforézu a vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii (HPLC, high performance liquid chromatography), (Chung et al. 2009). Nevýhodou některých metodik je vysoká pořizovací cena přístrojů nebo i nízký počet vzorků analyzovatelných během jednoho dne. Mezi vhodné varianty lze počítat využití HPLC nebo různých elektroforetických metod, které jsou ovšem náročné preanalyticky a byly tak donedávna vyhrazeny pouze specializovaným laboratořím. V současné době jsou již dostupné i komerční platformy pro dělení subfrakcí lipoproteinů pomocí elektroforézy (Lipoprint® - Quantimetrix), případně NMR (Vantera® Clinical Analyzer - LipoScience Inc.).

Tabulka 3 – Metody dělení subfrakcí lipoproteinů

Typ metody	Princip dělení LP částic	Třídy VLDL	Třídy IDL	Třídy LDL	Třídy HDL	Oddělení Lp(a)	Citace
GGE	velikost/náboj	často 1	často 1	až 8	až 14	NA	Krauss a Burke 1982
NMR	(bez dělení) protony terminálních methylů v lipidech	až 6	1	až 6	až 5	ne	Mallol et al. 2015
VAP	hustota	3	3	4	HDL ₂₋₃ HDL ₃₋₄	až na 5 tříd	Kulkarni 2006
HPLC-GP	velikost	až 5	NA	až 6	až 7	ne	Okazaki a Yamashita 2016
HPLC-IE	náboj	1	1	2	2	ne	Hirowatari et al. 2009
ITP	náboj/velikost	3, spolu s LDL _{ox}	nedělí	6	8	ne	Moreno-Gordaliza et al. 2016
UC	hustota	3	1	až 5	až 5	ne	Havel et al. 1955
TGE	velikost	1	3	7	10	ne	Hoefner et al. 2001
DLS	(bez dělení) velikost	nutné separovat, max. bimodální distribuce					Sakurai et al. 2010
EM	(bez dělení) velikost	přesnost určení velikosti částice je cca 1-2 nm					Zhang et al. 2013
IM	velikost/mobilita	3	2	4	2	ne	Caulfield et al. 2008

Zkratky: DLS – dynamický rozptyl světla, EM – elektronová mikroskopie, GGE – diskontinuální (segmentovaná) gradientová gelová elektroforéza, GP – gelově permeační, HPLC – vysokoúčinná kapalinová chromatografie, IE- iontově výměnná, IM – iontová mobilita, ITP – izotachoforéza, NA – nejsou dostupná data, NMR – nukleární magnetická rezonance, TGE – gelová elektroforéza v trubičkách (Lipoprint®), VAP – vertikální jednostupňová gradientová ultracentrifugace

3 PORUCHY METABOLISMU LIPOPROTEINŮ U VYBRANÝCH PATOLOGICKÝCH STAVŮ

3.1 Lipoproteiny a kardiovaskulární komplikace

K nejvýznamnějším RF kardiovaskulárních komplikací patří kvantitativní změny plazmatických lipidových parametrů, které jsou pozorovány nejen u primárních dyslipidemií a hyperlipoproteinemií, ale i u řady dalších chorobných stavů, jako je MS, diabetes mellitus (DM) 1. i 2. typu, onemocnění ledvin či jater, malnutriční stavy a další (*Kraml 2008*). 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 intenzivně studován vzájemný vztah mezi změnou velikosti lipoproteinových částic a poruchami lipidového metabolismu u různých patologických stavů, se snahou co nejdříve a nejpřesněji odhalit riziko vzniku kardiovaskulárních 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, v případě dělení LDL pomocí systému Lipoprint® celkem sedm, (LDL1 – LDL7), z nichž největší aterogenní potenciál mají LDL3 – LDL7 a označují se souhrnně jako malé denzní LDL. Jiné používané dělení LDL částic podle velikosti rozlišuje subfrakce LDL I a LDL II (velké LDL) a dále subfrakce LDL III a LDL IV, které reprezentují malé denzní LDL. 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, a to zejména u pacientů léčených hemodialýzou (HD), u kterých je vystupňovaný oxidační stres. To může z části vysvětlovat rychlejší progresi aterosklerotického poškození.

Také HDL částice nejsou homogenní populací lipoproteinů. Jednotlivé subfrakce se liší svým složením (obsahem proteinů a lipidů), velikostí a především funkčními vlastnostmi. Podle velikosti a hustoty můžeme HDL rozlišit na subfrakce, pomocí systému Lipoprint® celkem deset: velké (HDL1-HDL3), střední (HDL4-HDL7) a malé denzní (HDL8-HDL10). Odlišná nomenklatura podtříd HDL vychází z jiných separačních technik, přičemž lze zhruba říci, že velké HDL odpovídají HDL_{2b} (podle UC) nebo frakcím HDL pre β -2 a α -1 (separovaných

dvojdimenzionální elektroforézou), střední velikost HDL odpovídá frakci HDL_{2a} nebo frakci HDL α -2, a nejmenší HDL spadají do kategorií HDL_{3a,b,c} nebo HDL α -3, α -4 či pre β -1 (Aztalos et al. 2011). 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 et al. 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 HDL může docházet vlivem oxidačního stresu navozeného např. DM, MS nebo chronickým onemocněním ledvin (Kalousová et al. 2003b).

Určení kvalitativních parametrů lipoproteinových částic LDL a HDL se do budoucna jeví jako nezbytné pro stanovení míry rizika kardiovaskulárních 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, diabetem mellitem 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 kardiovaskulárních komplikací nemocných s poruchami lipidového a lipoproteinového metabolismu.

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

3.2 Metabolický syndrom

Metabolický syndrom definoval v roce 1988 americký diabetolog Gerald M. Reaven. Jako synonyma pro jeho označení se také využívalo názvů – metabolický syndrom X, Reavenův syndrom, syndrom inzulínové rezistence, dysmetabolický syndrom. V 80. letech se také dle

Kaplana hovořilo o „smrtícím kvartetu“. Na doporučení světové zdravotnické organizace byl koncem 20. století zaveden jednotný termín metabolický syndrom, který je nyní akceptován. Současně se ke zdůraznění kardiovaskulárního rizika užívá také termín kardiometabolický syndrom. Metabolický syndrom v sobě zahrnuje rizikové faktory, které se uplatňují v patogenezi ICHS a DM 2T a zahrnují viscerální obezitu, porušenou glukózovou toleranci, aterogenní dyslipidémii a arteriální hypertenzi. Dle většiny autorů je společným jmenovatelem inzulínová rezistence (Alberti et al. 2006).

3.2.1 Definice

V roce 2009 došlo ke sjednocující dohodě mezinárodních lékařských organizací (IDF, AHA/NHLBI aj.) a byla vytvořena přesnější definice MS - Tabulka 4. Dosavadních pět základních parametrů bylo postaveno na stejnou úroveň. Přítomnost 3–5 z nich svědčí pro diagnózu MS. Obvod pasu je hodnocen specificky dle regionálních doporučení. U jednotlivých rizikových faktorů se bere v úvahu i možnost jejich farmakologického ovlivnění (antihypertenziva, hypolipidemika, léčba hyperglykémie). Tuto definici MS přijala většina odborných společností včetně Českého institutu metabolického syndromu (Český institut metabolického syndromu 2005; Perušičová 2012).

Tabulka 4 - Definice metabolického syndromu

	Muži	Ženy
Abdominální obezita	obvod pasu ≥ 102 cm (evropské etnikum)	obvod pasu ≥ 88 cm (evropské etnikum)
TAG	$\geq 1,7$ mmol/l obě pohlaví nebo hypolipidemické terapie	
HDL-C	<1 mmol/l	$<1,3$ mmol/l
TK	$\geq 130/\geq 85$ mmHg nebo antihypertenzní terapie	
Glykémie nalačno	$\geq 5,6$ mmol/l nebo PGT nebo DM2	

Zkratky: DM2 – diabetes mellitus 2. typu, HDL-C – cholesterol v lipoproteinech o vysoké hustotě, PGT – porušená glukózová tolerance, TAG – triacylglyceroly, TK – krevní tlak; podle (Alberti et al. 2006)

3.2.2 Incidence a prevalence metabolického syndromu

Vzestup MS koreluje s věkem. V USA třetina osob s nadváhou či obezitou splňuje kritéria Adult Treatment Panel III pro diagnózu MS. Reaven ve své původní práci z roku 1988 uváděl 25% prevalenci X syndromu v běžné populaci. V České republice je prevalence MS u osob středního věku 24% u žen a 32% u mužů dle studie MONICA (*Pelikánová 2003*).

3.2.3 Etiologie a patogeneze metabolického syndromu

Existuje všeobecná shoda, že MS vzniká v interakci genetických a zevních faktorů. Genetická složka MS je významná. K častějšímu výskytu MS dochází v určitých rodinách pravděpodobně v důsledku sdílení genů, které predisponují u nositele, či jeho příbuzných k manifestaci onemocnění. Rovněž některá etnika (např. Pima Indiáni) vykazují extrémně vysokou prevalenci MS. Ta je v tomto případě vysvětlována selekcí „úsporného genotypu“ („thrifty genotype“), který zvýhodňuje přežívání jedinců odolných vůči střídajícím se období nedostatku a nadbytku potravy (*Žák a Slabý 2009*).

Studie z posledních let ukázaly, že v etiologii a patogenezi MS hraje roli celá řada kandidátních genů, které ovlivňují akumulaci a distribuci tukové tkáně (*LRP5*), periferní inzulínovou rezistenci (*PPAR*, *IRS1*, *ENPP1*), jaterní inzulínovou rezistenci (*GCKR*, *KLF6*, *SLC2A1*), syntézu jaterních lipidů (*DGAT2*, *SSLC25A13*), hydrolyzu jaterních TAG (*ATGL*, *LIPA*), sekreci jaterních lipidů (*APOB*, *APOC3*, *MTP*, *PEMT*, *TM6SF2*), oxidační stres (*SOD2*, *NOS2*, *GCLC*), zánět (*ADIPOQ*, *ADIPOR1*, *ADIPOR2*, *STAT3*, *TNF*, *IL6*, *TLR4*, *CD14*) a další (*SREBP-2*, *FABP2*, *ANP*), (*Žák et al. 2008a*; *Loh et al. 2015*; *Saponaro et al. 2015*; *Larifla et al. 2016*).

Prudký nárůst prevalence MS není dán změnou genofondu, ale je zapříčiněn změnou životního stylu, která je způsobena především pozitivní energetickou bilancí při nadměrném přívodu živin, změnami složení stravy (zvýšený příjem rafinovaných cukrů a nasycených tuků, pokles příjmu vlákniny a n-3 vícenenasycených mastných kyselin) a nízkou fyzickou aktivitou.

Inzulínová rezistence (IR), nedostatečná odpověď cílových tkání na působení inzulínu, je podmíněna převážně postreceptorovou poruchou inzulínové signální kaskády. Tato porucha se zpravidla manifestuje nejprve v tukové tkáni, později ji lze prokázat nejen

v kosterním svalstvu, játrech a pankreatu, ale též v centrálním nervovém systému, cévním endotelu a imunokompetentních buňkách. Morfologicky se IR projevuje zvýšenou intracelulární akumulací lipidů a sníženou denzitou mitochondrií (Žák *et al.* 2011). Samotná IR závisí zhruba z 50 % na genetických faktorech, z 25 % na adipozitě a stejnou měrou na fyzické aktivitě.

Inzulínová rezistence je příčinou omezené kapacity tukové tkáně skladovat lipidy (resp. TAG), což má spolu s nedostatečnou supresí lipolýzy za následek trvale zvýšený tok volných (neesterifikovaných) mastných kyselin (NEFA, non-esterified fatty acids) do jater a jiných orgánových systémů. Proto se již v časném stadiu IR, ještě před manifestací abnormalit glukózové homeostázy, rozvíjí aterogenní dyslipidémie a dochází k ektopické akumulaci lipidů s projevy lipotoxicity. K ektopické akumulaci tuku dochází v kosterním svalstvu, jejímž následkem je systémová inzulínová rezistence a arteriální hypertenze, v pankreatu, kde se projeví zpočátku dysfunkcí sekrece inzulínu, poté apoptózou β -buněk a finálně manifestací DM 2T. Ektopický tuk v játrech je asociován s inzulínovou rezistencí, zvýšenou sekrecí VLDL, poklesem clearance inzulínu a rozvojem nealkoholové steatózy (NAFLD, non-alcoholic fatty liver disease), (Gaggini *et al.* 2015; Saponaro *et al.* 2015).

U obézních jedinců je možné ve viscerální tukové tkáni prokázat kvantitativní změny v sekreci adipocytokinů, ve prospěch prozánětlivých (leptin, TNF- α , interleukiny IL-6, IL-1, IL-9, rezistin, angiotenzinogen, retinol-vázající protein-4), kdežto tvorba adiponektinu klesá. Prozánětlivé adipocytokiny, stimulují produkci reaktivních sloučenin kyslíku a dusíku (RONS, reactive oxygen and nitrogen species), potlačují expresi antioxidantních enzymů, čímž zvyšují oxidační stres a zhoršují endoteliální dysfunkci, dále působí změny hemokoagulace a fibrinolýzy (Rabe *et al.* 2008). Viscerální tuková tkáň je více infiltrována imunokompetentními buňkami a vykazuje známky chronického subklinického zánětu se zvýšeným počtem i zastoupením jednotlivých imunokompetentních buněk, která je spojena s dysregulací adipokinů s převahou působků indukujících inzulínovou rezistenci, dyslipidémii, prokoagulační stav a oxidační stres. Adipokiny mají endokrinní (systémové) účinky - především v játrech a v kosterním svalstvu. Navíc parakrinně ovlivňují metabolismus v bezprostředním okolí makrofágů, zejména v adipocytech. Bylo prokázáno, že chronická subklinická zánětlivá reakce tukové tkáně, která je typická pro obézní jedince, je alespoň částečně odpovědná za IR a může být pojítkem mezi obezitou a jednotlivými komponentami MS včetně dyslipidémie (DLP) a poruch glukózové homeostázy. Zánětlivá reakce tukové

tkáně navíc iniciuje systémový chronický subklinický zánět a prokoagulační stav čímž významně přispívá ke zvýšenému kardiovaskulárnímu riziku u obézních jedinců (*Kalupahana et al. 2011; Kalupahana et al. 2012; Karastergiou a Mohamed-Ali 2010*).

V poslední době se předpokládá vliv polymorfizmů genů desaturáz mastných kyselin (FADS1, FADS2), které ovlivňují přeměnu esenciálních mastných kyselin (kyseliny linolové a kyseliny α -linolenové) na mastné kyseliny (FA, fatty acids) – arachidonovou, eikosapentaenovou (EPA) a dokosahexaenovou (DHA). Tyto FA mají významnou funkci jako regulátory genové exprese. Ovlivňují expresi receptorů aktivovaných peroxizómovými proliferátory α (PPAR, peroxisome proliferator activated receptor), PPAR γ , jaterních X-receptorů (LXR, liver x receptors), SREBP a HNF-4. Výsledné koncentrace vícenenasycených FA (PUFA, polyunsaturated fatty acids) n-3 a n-6 ve PL plazmatických lipoproteinů a buněčných membrán jsou výsledkem příjmu těchto FA, tak aktivit enzymů jejich metabolické přeměny. Aktivity Δ 6-desaturázy (FADS2) a Δ 5-desaturázy (FADS1) ovlivňují koncentrace konečných produktů a mohou tak působit na expresi výše uvedených nukleárních faktorů, které se podílejí na vzniku některých komponent MS (arteriální hypertenze, dyslipidémie, subklinický zánět) a klinických komplikací MS (*Merino et al. 2010*).

Faktory zevního prostředí ve formě změny životního stylu, která je dána především nadměrným příjmem energie a změnami ve složení stravy (vysoký obsah nasycených tuků, rafinovaných cukrů - sacharózy, *trans*-mononenasycených FA (MUFA, monounsaturated fatty acids), nízký podíl *cis*-mononenasycených a vícenenasycených FA řady n-3 a vysoký poměr n-6/n-3 PUFA). Dále k rozvoji MS přispívá fyzická inaktivita a kouření (stimulace sympatoadrenergního nervového systému a zvýšení energetického výdeje). Zvýšená lipomobilizace může zvyšovat přísun FA do jater, kosterního svalstva a stimulovat přírůstek viscerální tukové tkáně. Dále se stav zhoršuje hyperkortizolémií (kouření má vliv na aktivitu 11 β -hydroxysteroidní dehydrogenázy, která je zodpovědná za inaktivaci kortizolu na kortizon). Hyperkortizolémie tak prohlubuje negativní účinky zmnožení viscerální tukové tkáně (*Žák a Slabý 2009*).

3.2.4 Dyslipidémie spojená s MS

Aterogenní dyslipidémie je dyslipidemická komponenta MS a DLP nejčastěji zjišťovaná u osob s předčasnou aterosklerózou. ADL charakterizují zvýšené lačné a postprandiální koncentrace TAG, pokles HDL-C a normální nebo lehce zvýšené koncentrace LDL-C s predominancí sdLDL. Triáda složená z HTAG, poklesu HDL-C a převahy sdLDL je nezbytnou podmínkou pro diagnózu ADL (*Žák a Slabý 2008b*).

V patogenezi ADL má klíčovou úlohu HTAG. Druhé dvě složky, tj. nízká koncentrace HDL-C a převaha sd-LDL, vznikají druhotně, v kauzální souvislosti s HTAG (*Žák a Slabý 2008b*) (Obrázek 7 na straně 27).

ADL je dyslipidémií smíšené etiologie. Na fenotypické expresi HTAG se podílí polygenní dědičnost v interakci s faktory zevního prostředí. U dyslipidémie *smíšené etiologie* dojde k fenotypické manifestaci lipoproteinové poruchy u jedinců geneticky predisponovaných, u kterých je LP porucha zhoršena druhotnou příčinou (přírůstek hmotnosti, změny příjmu živin, selháním či poškozením určitých orgánů či systémů, farmakoterapie) a porucha se manifestuje při zvýšených nárocích na regulaci metabolismu LP (*Creider a Hegele 2015*). Primární poruchou je tudíž *polygenní hypertriacylglycerolémie*. Polygenní HTAG mají komplexní genetickou příčinu. Fenotypickou expresi, tj. koncentraci TAG, v těchto případech ovlivňuje řada běžných variant genů (polymorfizmů) s nízkým účinkem na koncentrace TAG a/nebo heterozygotní varianty vzácných genů (mutace) asociovaných s monogenní HTAG (viz níže). Polygenní HTAG má komplexní genetickou příčinu. Koncentraci TAG ovlivňuje řada běžných variant genů (polymorfizmů) s nízkým účinkem na koncentrace TAG a/nebo heterozygotní mutace vzácných genů s velkým účinkem na koncentrace TAG. Běžné varianty genů pro *GCKR*, *APOB*, *TRIB1*, *ANGPLT3* a *ChREBP* mají silnou vazbu s HTAG. Jako další lokusy kandidátních genů zvyšující náchylnost k HTAG byly identifikovány geny pro *LPL*, *APOE2/E2*, *APOC2*, *APOC3*, *APOA5*, *LMF1*, *GPIHBP1*, *GPD1* a genový cluster *APOA1/APOC3/APOA4*, *APOA5* (*Brahm a Hegele, 2013; Hegele et al. 2014; Sahebkar et al. 2014*). Ve většině případů se jedná o mutace nebo polymorfizmy genů spojené se ztrátou funkce (LOF, loss of function). Předpokládá se, že kumulace běžných variant genů regulujících katabolismus TAG dosažením kritického počtu alel spojených se ztrátou funkce predisponuje nositele k manifestaci HTAG (*Lewis et al. 2015*).

ADL lze prokázat až u 70 % u osob s předčasným infarktem myokardu, u DM 2T (kde se používá název diabetická dyslipidémie), nealkoholové steatózy jater, familiární kombinované hyperlipidémie i polygenní HTAG. Hypertriacylglycerolémie je důsledkem zvýšené sekrece VLDL-TAG z jater a zpomaleného katabolismu TRL (VLDL, CM, β -VLDL a IDL) (Arca 2015; Brahm a Hegele, 2013; Brahm a Hegele 2016; Žák 2016; Toth 2016). Je známé, že koncentrace TAG secernované z jater ve VLDL závisí na obsahu TAG v játrech. K obsahu TAG v játrech přispívají z 60 % NEFA uvolněné z lipolýzou z tukové tkáně v důsledku IR tukové tkáně, z 25 % *de novo lipogeneze*, tj. syntéza FA z netukových sloučenin (především cukrů) a z 15 % FA přijímané do organismu v podobě potravinových tuků (Saponaro et al. 2015). Na vzniku HTAG se podílí nejen vzestup syntézy TAG a jejich sekrece z jater cestou VLDL, ale i zpomalený katabolismus CM a VLDL v tukové tkáni a kosterním svalstvu v důsledku inhibice LPL akumulovanými volnými mastnými kyselinami (Ramasamy 2016).

V souvislosti s HTAG vznikají poruchy v metabolismu LP třídy HDL, které se týkají jejich sekrece, remodelace v cirkulaci a intenzity odbourávání. Mezi hodnotami plazmatické koncentrace TAG (nalačno i postprandiálně) a koncentracemi HDL-C byly prokázány významné negativní korelace. Nízké hodnoty HDL-C v slouží v klinice jako výsledný ukazatel poruchy, nemohou však informovat o jejím typu ani o negativních důsledcích pro zpětný transport cholesterolu a další specifické funkce jednotlivých subfrakcí HDL (Brewer 2015).

Epidemiologické studie, včetně Framingham Heart Study, jednoznačně prokázaly, že nízké koncentrace HDL-C jsou spojeny se zvýšeným rizikem ICHS a patří k nejsilnějším prediktorům kardiovaskulárních příhod. Pokles HDL-C o 0,3 mmol/l zvýší riziko ICHS u mužů dvojnásobně, u žen trojnásobně (Miller 2015). Částice HDL vznikají v játrech a z menší části též ve stěně tenkého střeva z nově secernovaných molekul apo A-I, které se spojují s PL a s malým množstvím volného cholesterolu. Tyto částice označované jako nascentní HDL, stejně jako samotné molekuly apo A-I, mají funkci silného akceptoru cholesterolu v iniciálním stádiu reverzního transportu cholesterolu. V procesu iniciální lipidace vzniká několik subpopulací HDL, které se podle elektroforetických vlastností označují jako pre- β LP. Obsahují v každé částici dvě molekuly apo A-I a méně než 10 % hmotnosti tvoří lipidy. Během postupného zrání přibývá v částicích HDL dalších funkčně relevantních složek. Z apo jsou zastoupeny zejména apo A-II, A-IV, C-III a E, z enzymů lecitin-cholesterolacyltransferáza (LCAT) a paraoxonáza 1 (PON1). Při vzniku zralých částic HDL₂ má

významnou úlohu enzym LCAT, jehož působením vznikají z volného cholesterolu hydrofobní estery cholesterolu (CE) přesunované do jádra, čímž se původní diskoidní tvar částice mění na sférický. V subfrakci HDL₂ se vyskytují též sférické částice, které neobsahují apo A-I, nýbrž pouze samotný apo E. Zralé částice HDL₂ odevzdávají cholesterol v játrech díky interakci s receptory SR-B1 a jaterní lipázy (HL, hepatic lipase) a znovu přecházejí do cirkulace, ochuzené o CE a PL (Obrázek 5).

Pro ADL je charakteristická nadměrně intenzivní výměna CE v subfrakci HDL₂ za TAG z VLDL₁ a jiných TRL (remnantní CM, IDL, LDL), které jsou zvláště v postprandiálním období k dispozici ve velkém množství. Jak již bylo uvedeno, k jejich akumulaci přispívá snížená aktivita LPL. Směnu neutrálních lipidů (CE za TAG) zprostředkuje protein transportující estery cholesterolu (CETP, cholesterol ester transfer protein), jehož aktivita je u stavů spojených s inzulinovou rezistencí rovněž zvýšená. Vznikají tak částice HDL bohaté na TAG a ochuzené o CE, což se projeví poklesem plazmatické koncentrace HDL-C a zpomalením reverzního transportu cholesterolu (RCT, reverse cholesterol transport). Částice HDL bohaté na TAG jsou preferenčním substrátem HL, specifického enzymu, který vzniká v hepatocytech a váže se k proteoglykanu heparansulfátu na vnitřním povrchu sinusoidálních kapilár. Aktivita HL kolísá v širokém rozmezí, přičemž 40-60 % rozptylu je podmíněno geneticky a k významnému vzestupu dochází v důsledku IR jaterní tkáně, příjmu nasycených FA (SFA) a intraabdominální akumulace tukové tkáně. Kromě HL se na přeměně HDL bohatých na TAG podílí též transferový protein fosfolipidů, který přenáší PL mezi HDL a VLDL, ale též mezi částicemi HDL různých velikostí, přičemž dochází k fúzi částic a k disociaci apo A-I. Katabolismus HDL probíhá hlavně v ledvinách, játrech a steroidogenních tkáních (nadledviny, ovaria). V důsledku HTAG je relativně omezena převládající cesta katabolické přeměny HDL₂, která spočívá v selektivním předání cholesterolu a jiných lipidů do buněk shora uvedených tkání (selective cholesterol uptake). Jde o dvojstupňový proces zahájený vazbou HDL k „zametačovým“ receptorům SR-BI, které umožní difuzi lipidů buněčnou membránou. Částice HDL zbavené lipidů mohou být opět remodelovány na HDL₂, ale vždy dochází ke ztrátě apolipoproteinů. U stavů s IR pravděpodobně nabývá na významu minoritní katabolická cesta - endocytóza celých částic HDL zbavených lipidů a jejich dezintegrace v lysozomech (holoparticle HDL uptake). Studie metabolického obratu prokázaly, že jedinci s ADL mají ve srovnání se zdravými osobami významně zvýšený katabolismus apo A-I v ledvinách. Jak bylo potvrzeno izotopovými studiemi, většinu zpětně transportovaného volného cholesterolu předávají v játrech částice HDL₂, naproti tomu

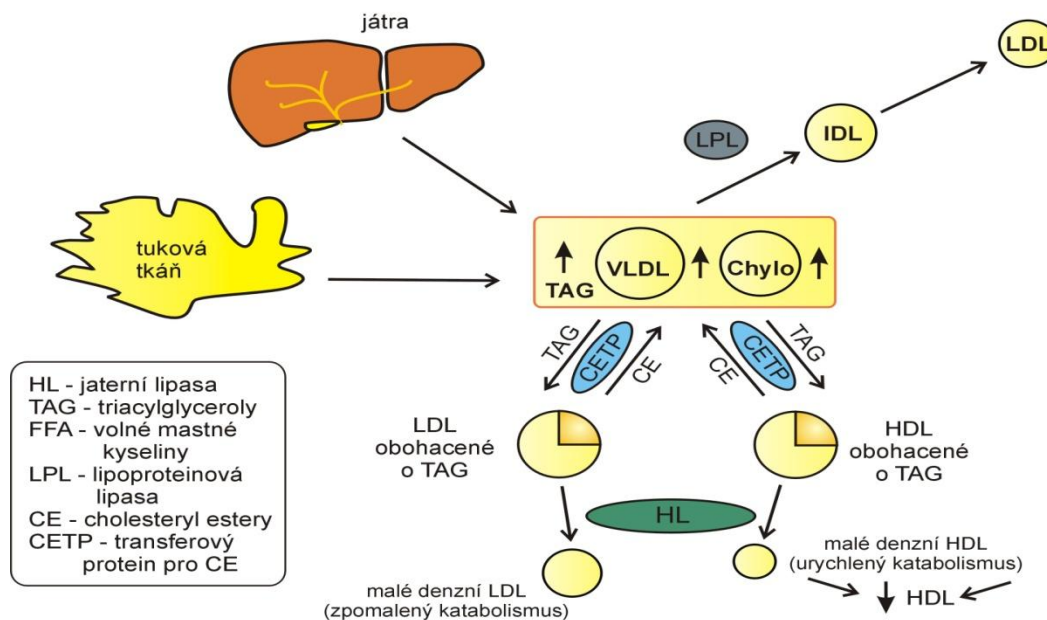
významný podíl CE se z HDL přemístí do LP obsahujících apo B. V játrech jsou CE vycytávány specifickými receptory hepatocytů, a to SR-B1 pro HDL, LRP (LDL-receptor related protein) pro IDL a β -VLDL, LDL-receptory (LDL-R) pro IDL a LDL. Další mechanismus, kterým u HTAG dochází k poklesu HDL-C, je zpomalení katabolismu CM a VLDL, které je provázeno úbytkem množství povrchové lipoproteinové membrány, která se za fyziologických okolností přesouvá z CM a VLDL do subfrakce HDL₃ a je zdrojem neesterifikovaného cholesterolu a fosfolipidů v HDL (*Barter et al. 2007*).

Třetím kardinálním příznakem ADL se dnes všeobecně považuje *fenotyp B* velikosti LDL, tj. převaha sdLDL, které jsou obsaženy v subfrakcích LDL III a IV. Z epidemiologických studií vyplynul jednoznačný závěr, že *fenotyp B* představuje samostatný rizikový faktor pro ICHS, který je zčásti nezávislý na hodnotách plazmatické koncentrace TAG, HDL-C a apo B, ale v kombinaci s těmito faktory významně potencuje jejich účinky. Ve srovnání s částicemi LDL převažujícími u zdravých jedinců (subfrakce I a II) mají sdLDL odlišné fyzikálně chemické a biologické vlastnosti. V experimentech *in vitro* bylo zjištěno, že sd-LDL jsou méně odolné vůči oxidaci, ať už vyvolané buňkami nebo kovovými katalyzátory, a ochranný vliv různých antioxidačních látek trvá kratší dobu. Malé denzní LDL obsahují méně sacharidů a kyseliny sialové. *In vivo* se sdLDL vyznačují tím, že díky malému průměru a příznivým elektrostatickým vlastnostem snáze prostupují cévní stěnou. Oxidativně modifikované sd-LDL působí toxicky na endotel (inhibují syntázu NO a zvyšují expresi cytoadhezních molekul), v subintimálním prostoru atrahují monocyty a makrofágy, čímž udržují subklinický zánět. Částice sdLDL přítomné v cirkulaci mají v důsledku odlišné konformace apo B-100 nižší afinitu k LDL receptorům (apo B/E receptory) v hepatocytech, což se projevuje významně nižším frakčním katabolizmem, zejména v postprandiálním období. Díky zvýšené afinitě k receptorům SR-B1 mohou sdLDL přednostně pronikat do makrofágů v aterosklerotických plátech. U osob s MS se částice sdLDL vyznačují vyšším obsahem apo C-III a vyšší afinitou k proteoglykanům cévní stěny (*Žák a Slabý 2008b*).

Převaha sdLDL má, obdobně jako pokles HDL-C, přímou kauzální spojitost s HTAG. K hlavním metabolickým prediktorům *fenotypu B* patří kromě HTAG zvýšená plazmatická koncentrace apoB, zvýšená aktivita HL a CETP. Jak již bylo uvedeno, na vzniku HTAG se významně podílí vzestup produkce VLDL₁ v játrech. Velké částice VLDL-1, které jsou bohaté na TAG a obsahují kromě apo B též apo C-III a apo E, dosahují maximální koncentrace v plazmě v pozdním postprandiálním období a delší dobu setrvávají v cirkulaci.

Bylo prokázáno, že existují různé metabolické dráhy, které rozhodují o vlastnostech TRL secernovaných v játrech a o způsobu jejich postupné delipidace, která vede přes IDL₁ nebo IDL₂ k jednotlivým subfrakcím LDL. Nepřímo úměrně k plazmatické koncentraci HDL-C se uplatňuje výměna TAG z velkých VLDL₁ nebo z jejich remnantních částic za CE v LDL, kterou zprostředkuje CETP. Částice LDL bohaté na TAG a ochuzené o CE jsou preferovaným substrátem aktivity HL, která působí jako lipáza i fosfolipáza. Po hydrolyze TAG a PL vznikají sdLDL, s vysokým poměrem apo B-100 k cholesterolu. Převaha sdLDL je dána převahou subfrakcí LDL-III a IV. Přítomnost sdLDL odvozujeme dle přítomnosti apoB-100 (> 1,3 g/l) při fyziologickém nebo hraničním rozmezí LDL-C (3,4 – 4,1 mmol/l), (viz též Obrázek 7). Diagnóza ADL se opírá o průkaz HTAG (>1,70 mmol/l), pokles koncentrace HDL-C (< 1,03/1,29 mmol/l u mužů/žen) a převahu sdLDL, v důsledku zvýšení koncentrace subfrakce LDL-III/LDL-IV (d > 1,50 g/ml; velikost < 25,5 nm). Zvýšení koncentrace cholesterolu v subfrakci LDL-III/IV (> 1,55 mmol/l), určené diskontinuální gelovou elektroforézou, svědčí pro převahu sdLDL.

Obrázek 7 – Mechanismus vzniku dyslipidémie u MS



Upraveno podle (Chapman a Guerin 2004)

3.3 Renální selhání

Pokud ledviny nejsou schopny plnit své základní funkce (homeostázu, exkreci odpadních látek - zvláště produkty bílkovinného původu, udržovat vodní a minerálovou homeostázu, udržovat acidobazickou rovnováhu, krevní tlak, erytropoézu) ani za bazálních podmínek, tj. při minimálním přívodu bílkovin (0,5 g/kg tělesné hmotnosti/ den), při relativním tělesném klidu a nealterované funkci ostatních orgánů, hovoříme o renálním selhání (*Pacovský 1986*). Selhání ledvin dělíme na akutní a chronické. Akutní renální selhání (AKI, acute kidney injury) je náhlý pokles funkce ledvin z příčin prerenálních (hypovolémie), renálních (preexistující onemocnění ledvin) a postrenálních (obstrukce močového traktu). Při dlouhodobě snížené funkci ledvin hovoříme o chronické renální insuficienci, kdy abnormality ve struktuře ledviny nebo její funkci trvají déle než 3 měsíce a mají vliv na celkový stav pacienta. Ve světovém a českém písemnictví nepanuje shoda mezi rozdělením pacientů s chronickou renální insuficiencí, kteří ještě nejsou dependentní na některé z náhrad funkce ledvin (RRT, renal replacement therapy) a označují se CRF (chronic renal failure), a nemocnými, kteří mají terminální selhání ledvin a jsou plně závislí na hemodialýze nebo peritoneální dialýze (PD), (*Viklický 2006*). V minulosti se obracela pozornost především k funkční abnormalitě, která se manifestovala při chronickém onemocnění ledvin sníženou glomerulární funkcí (*K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification 2002*). V současné době se klinická praxe opírá o doporučení KDIGO iniciativy z roku 2012 (*Levin et al. 2013*). CKD je dle těchto doporučení rozdělena na jednotlivé stupně na základě příčiny postižení ledvin (C-cause), kategorie glomerulární filtrace (G1-G5) a albuminurie (A1-A3) – Tabulka 5. Znalost základního onemocnění, které vedlo k poškození ledvin, je důležité v odhadu prognózy onemocnění. Za hranici patologické glomerulární filtrace (GF) se považuje hodnota $< 1,0 \text{ ml/s/1,73m}^2$ (kategorie G3a a výše). Albuminurie sama o sobě je nezávislým rizikovým faktorem jak celkové, tak kardiovaskulární mortality. Dále negativně ovlivňuje i výslednou renální funkci. Kombinace různých stupňů snížené GF a patologické albuminurie pak dala vzniknout schématu, které stratifikuje riziko progresu CKD (*Ryšavá 2014*). Pacienti s CKD mají vysokou mortalitu na CVD. Jejich riziko je až 10 krát vyšší než v běžné populaci (*Hahn et al. 1983*). Riziko aterosklerotických kardiovaskulárních příhod se zvyšuje jak u pacientů v predialýze, tak u pacientů s náhradou funkce ledvin (HD, PD).

Tabulka 5 – CKD klasifikace a riziko progresu dle GF a albuminurie

Prognóza CKD podle kategorie CKD podle GF a kategorie albuminurie				Kategorie albuminurie, hodnoty a slovní hodnocení		
				A1	A2	A3
				normální až lehce zvýšená	středně zvýšená	výrazně zvýšená
				< 30 mg/g (< 3 mg/mmol)	30 - 300 mg/g (3 - 30 mg/mmol)	> 300 mg/g (> 30 mg/mmol)
Kategorie CKD podle GF (ml/min/1,73 m ²), popis a rozptyl	G1	≥ 90	normální nebo vysoká			
	G2	60-89	lehce snížená			
	G3a	45-59	lehce až středně snížená			
	G3b	30-44	středně až výrazně snížená			
	G4	15-29	výrazně snížená			
	G5	< 15	selhání ledvin			

Vysvětlivky a zkratky: riziko progresu CKD prázdné pole – nízké riziko, šikmé šrafování – středně zvýšené riziko, svislé šrafování – vysoké riziko, plné pole - velmi vysoké riziko; CKD - chronické onemocnění ledvin, GF - glomerulární filtrace (podle Ryšavá 2014)

3.3.1 Definice ESRD

Konečné stádium CKD je stupeň G5 dle KDIGO klasifikace chronického onemocnění ledvin. Pacienti spadající do této kategorie jsou plně dependentní na některé z metod RRT – HD, PD nebo transplantace ledviny.

3.3.2 Incidence a prevalence ESRD

Terminální renální selhání představuje závažný medicínský problém se všemi medicínsko-socio-ekonomickými konsekvencemi. Dle aktuálních dat (2015) z ročenky České nefrologické společnosti je v chronickém hemodialyzačním programu zařazeno 6200 pacientů, což představuje 62/100 000 obyvatel. Ze světových registrů vyplývá, že v USA je v chronickém hemodialyzačním programu zařazeno 150/100 000 obyvatel a v Rakousku 51/100 000 obyvatel.

3.3.3 Etiopatogeneze ESRD

Příčina terminálního renálního selhání je multifaktoriální. Záleží na primárním onemocnění ledvin nebo na negativním působení jiného chronického onemocnění (DM, arteriální

hypertenze). Často se jedná o kombinaci obou vyše zmíněných problémů. Znamé rizikové faktory ovlivňující progresi CKD jsou uvedeny v Tabulce 6 (Vachek et al. 2012).

Tabulka 6 - Hlavní rizikové faktory ovlivňující progresi chronického selhání ledvin

Neovlivnitelné rizikové faktory	Ovlivnitelné rizikové faktory
Typ onemocnění ledvin	Proteinurie
Věk	Hypertenze
Pohlaví	Glykémie (diabetes mellitus, metabolický syndrom)
Etnické faktory	Dietní zvyklosti – příjem bílkovin
Geny	Anémie
Rodinná anamnéza	Krevní lipidy
	Obezita
	Hyperurikémie
	Kouření

3.3.4 Patogeneze ESRD

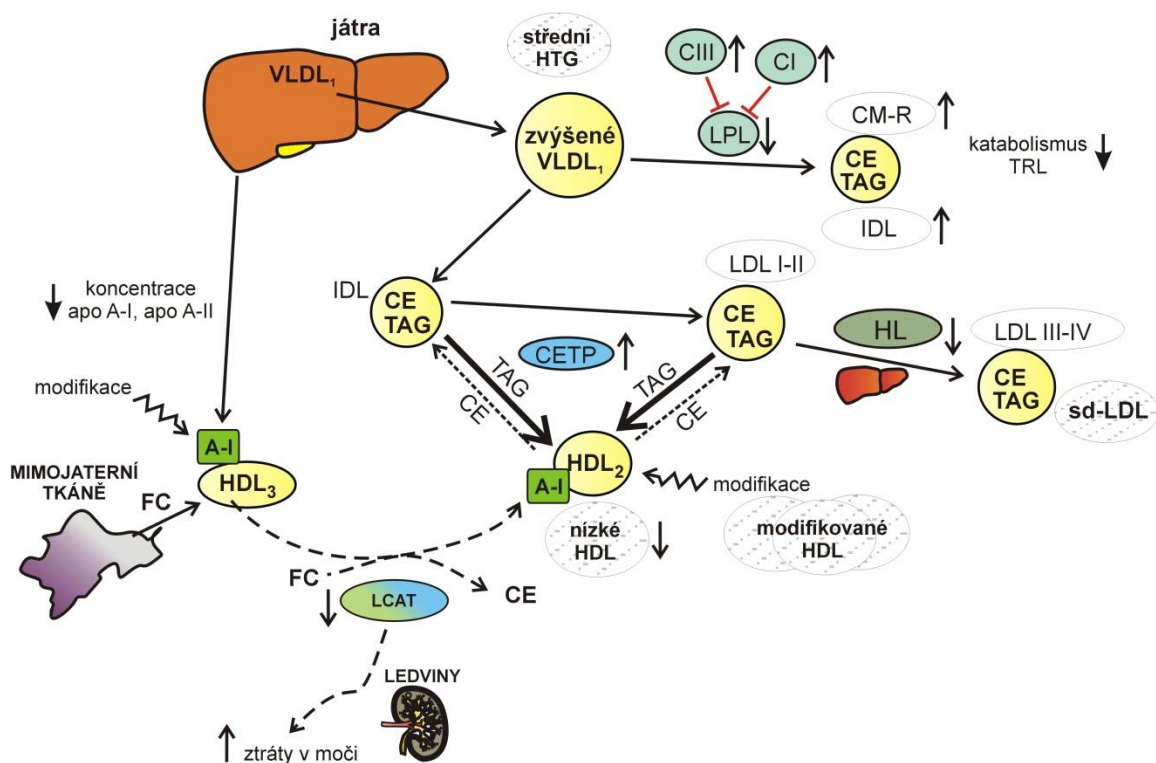
Hlavními patogenetickými mechanismy, které se uplatňují během progresu CKD, jsou procesy vznikající působením imunokompetentních buněk a systému renin-angiotenzin-aldosteron (Rodriguez et al. 2001, Hollenberg 2004). Imunitní odpověď vzniká jako reakce na předchozí poškození buňky endotelu, mezangia nebo tubulu. Ty na své poškození následně reagují produkcí chemoatraktivních molekul (cytokiny, růstové faktory), jež vedou k infiltraci tkáně mononukleáry. Mononukleární lymfocyty následně produkují další působky, které v konečném důsledku vedou k proliferaci fibroblastů, mezangia, hladké svaloviny a ukládání extracelulární matrix. Ve funkčních glomerulech dochází ve snaze udržet funkci ledvin ke kompenzatornímu zvýšení intraglomerulárního tlaku se vznikem hyperfiltrace. Hyperfiltrace se dále zhoršuje v důsledku preexistující arteriální hypertenze. Na zvýšení intraglomerulárního tlaku se podílí především angiotenzin II, který vede ke zvýšené produkci cytokinů a růstových faktorů ke glomerulární hypertrofii a hyperplazii a zvýšení permeability glomerulů. Důsledkem je proteinurie, která postupně vede k progresivní glomeruloskleróze s následným sraštěním ledvin. Podkladem tubulointersticiální fibrózy je poškození tubulárních buněk, které vede k stimulaci zánětlivých mediátorů. Tím dochází ke stimulaci fibroblastů a rozvoji fibrózy. Vaskulární skleróza vede k intersticiální ischemii, což způsobuje fibrózu intersticia. Vedle mechanismu hyperfiltrace se může uplatňovat např. poškození podocytů. Při progresi CKD pod určitou hodnotu GF (0,83 ml/s) již nestačí kompenzační snížení tubulární resorpce a navýšení tubulární sekrece některých látek a dochází k rozvoji uremických symptomů. Jako komplikace CKD se objevují renální osteodystrofie (mimo jiné

na podkladě sekundární hyperparatyreózy), poruchy nutriční (protein-kalorické malnutrice), chronický zánět, anémie (dána inadekvátní sekrecí erythropoetinu), dyslipidémie a zvýšené kardiovaskulární riziko (*El-Nahas a Bello 2005, Trivedi et al. 2002*).

3.3.5 Dyslipidémie spojená s ESRD

V pracích zahraničních i českých autorů se ukázalo, že dyslipidémie je nejen spojena s výrazným zvýšením rizika rozvoje aterosklerotických změn, ale může se výrazně podílet i na progresi chronické renální insuficience a stejně i chronické rejeckce po transplantaci (*Anders 2005, Appel a Appel 2004, Teplan 2000*).

Obrázek 8 - Mechanismy vzniku dyslipidémie u ESRD



Zkratky: CE – cholesteryl estery, CETP – cholesteryl ester transferový protein, CM-R – remnantní chylomikrony, FC – volný cholesterol, TAG – triacylglyceroly, HDL – lipoproteiny o vysoké hustotě, IDL – lipoproteiny o střední hustotě, LCAT – lecithin:cholesterol acyltransferáza, LDL – lipoproteiny o nízké hustotě, sdLDL – malé denzní LDL, VLDL – lipoproteiny o velmi nízké hustotě, rec – receptor, apolipoproteiny jsou znázorněny obdélníkovými rámečky (volně podle *Jardine et al. 2015; Žák a Zeman 2010*)

U nemocných s CKD je urychlená aterogeneze a zvýšené riziko CVD (*Hahn et al. 1983*). CVD je nejčastější příčinou mortality a morbidit u těchto nemocných. Na rozvoji CVD u

CKD se, kromě konvenčních rizikových faktorů podílejí také netradiční (které mohou být pro CKD i specifické) rizikové faktory, jako zánět, uremické toxiny, oxidační stres, deplece NO, karbamylyace proteinů, hyperhomocysteinémie, alterace metabolismu lipidů, kalcia a fosfátů (Kalousová *et al.* 2003a). Mezi metabolické markery pro výše zmíněné rizikové faktory, které se uplatňují u CKD, patří např. hsCRP, oxLDL, isoprostany, některé antioxidační enzymy (Popolo *et al.* 2013), homocystein, dimethylarginin, vitamin D (Maisel *et al.* 2011), homocitrulin pro karbamylyaci proteinů (Desmons *et al.* 2016), nebo PAPP-A u akutních komplikací (Kalousová *et al.* 2014).

Dyslipidémie je častým příznakem u CKD. Je charakterizována zvýšením koncentrace plasmatických TAG a VLDL a poklesem HDL-C. Častým nálezem je akumulace IDL a remnantních CM. Koncentrace celkového a LDL-C jsou často v normálním pásmu, nebo dokonce snižené. Skladba LP je disproporčně změněná. Zvyšuje se obsah TAG v LDL a zvyšuje se koncentrace sdLDL. Zvýšení koncentrace TAG je nejčastější abnormalitou a často se nachází zvýšený poměr TAG/TC jak v LDL i HDL frakci. Akumulace TAG je podmíněna sníženou koncentrací LPL vázané na endotel a zvýšenými koncentracemi apoC-III. CKD je spojena s „down-regulací“ LPL a VLDL receptorů tukové tkáně, kosterního svalstva a myokardu. Koncentrace Lp(a) jsou zvýšené, protože ledviny pravděpodobně nejsou schopny degradovat Lp(a).

CKD je asociováno s alterací složení HDL frakce. Bývá popisován pokles poměru subfrakce HDL₂/HDL₃, který se vysvětluje renálními ztrátami LCAT. Akumulace prozánětlivých sloučenin a zvýšený oxidační stres umocňují chemickou modifikaci LDL. U CKD nemají HDL kardioprotektivní účinky, které jsou dány jejich funkcí v reverzním transportu cholesterolu, antioxidačními a protizánětlivými vlastnostmi (Dodani *et al.* 2009). Rovněž postrádají vazoprotektivní vlastnosti. Z uremických toxinů je nejlépe probádán indoxyl-sulfát (toxin syntetizovaný ve střevě z dietních bílkovin působením střevního mikrobiomu), který je induktorem oxidačního stresu, současně je nefrotoxinem, up-reguluje cytoadhezní molekuly a inhibuje proliferaci endotelu (Reiss *et al.* 2015).

HTAG je důsledkem poklesu aktivity LPL a HL, který vede k poruše hydrolyzy TAG ve VLDL a CM (i); vzestup IDL je důsledkem poklesu aktivity HL a LRP (ii); pokles HDL – důsledkem snížení koncentrace apoA-I, poklesu aktivity LCAT a zvýšení aktivity CETP, v důsledku čehož dochází k vzestupu HDL-TAG a poklesu HDL-CE (iii) (Jardine *et al.* 2015).

4 CÍLE PRÁCE

Cílem práce bylo:

1. U pacientů s MS a ESRD charakterizovat zastoupení subfrakcí LDL a HDL.
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 hemodiafiltraci přežili 5 let.

5 MATERIÁL A METODY

5.1 Výběr pacientů

Tato disertační práce zahrnuje dvě studie s odlišným souborem pacientů. Od všech pacientů byl na základě podrobných informací získán podepsaný informovaný souhlas s účastí ve studii. Protokol studie byl schválen společnou Etickou komisí VFN a 1. LF UK.

5.1.1 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 triacylglycerolů nalačno přesahovaly 1,7 mmol/l. Podle zavedené statinové terapie byli pacienti rozděleni na dvě skupiny označené jako S a N. Do skupiny S bylo zařazeno 36 pacientů (24 mužů a 12 žen), kteří byli dlouhodobě léčeni statinem, do skupiny N 24 pacientů (15 mužů a 9 žen), kteří dosud statiny neužívali. Ze studie byly vyloučeny osoby s inzulín-dependentním diabetem. Mezi další vylučovací kritéria patřil věk nad 75 let, prodělaný infarkt myokardu nebo cévní mozková příhoda v předchozích šesti měsících, chronické kardiální, renální nebo hepatální selhání, obezita II. stupně (BMI nad 35 kg/m²), závažné endokrinopatie, gravidita a kojení. Základní klinické, antropometrické a biochemické charakteristiky obou skupin pacientů jsou uvedeny v Tabulce 7.

Design studie byl plánován jako „add-on“ dvojitě zaslepená studie, kde každý subjekt sloužil zároveň jako svoje kontrola, takže mohla být srovnávána individuální odpověď na placebo a na PUFA n-3. 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, nerozeznatelné od aktivní látky, 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). Placebo i aktivní látka pocházely od stejného producenta (SVUS Pharma a.s., ČR).

Pacienti ve skupině S pokračovali v dosavadní léčbě statinem (26 pacientů atorvastatin 20 mg denně, 6 pacientů fluvastatin 80 mg denně, 4 pacienti simvastatin 40 mg denně). Po ukončení obou období bylo provedeno podrobné kontrolní klinické, antropometrické a laboratorní vyšetření.

Z účastníků studie bylo 34 pacientů léčeno na hypertenzi (19 ACE inhibitory nebo sartany, 15 kombinovanou léčbou ACE inhibitory a blokátory Ca-kanálů). Farmakologická léčba se během studie nezměnila.

Tabulka 7 - Základní klinické a laboratorní údaje pacientů

	S- terapie statiny	N-bez terapie statiny
počet	36	24
muži/ženy	24/12	15/9 ^{NS}
věk (roky)	55,0 ± 9,4	48,6 ± 13,0 ^{a*}
tělesná hmotnost (kg)	91,5 ± 9,7	86,8 ± 14,9 ^b
tuk (% těl. hmotnosti, bioimpedančně)	30,2 ± 7,0	23,4 ± 6,4
BMI (kg.m ⁻²)	30,3 ± 4,2	27,8 ± 3,3
obvod pasu (cm)	105 ± 10	97 ± 12
systolický krevní tlak (mmHg)	131 ± 11	125 ± 17
diastolický krevní tlak (mmHg)	84 ± 11	82 ± 12
TC (mmol/l)	5,70 ± 1,40	5,57 ± 0,72
TAG (mmol/l)	2,17 (1,59-3,27)	2,00 (1,79-3,48)
HDL-C (mmol/l)	1,21 ± 0,23	1,15 ± 0,29
LDL-C (mmol/l)	3,14 ± 0,89	3,35 ± 1,03
apo A1 (g/l)	1,34 ± 0,21	1,30 ± 0,25
apo B (g/l)	1,19 ± 0,23	1,19 ± 0,24
glukóza (mmol/l)	5,29 ± 0,69	5,04 ± 0,81
urea (mmol/l)	5,66 ± 1,72	5,30 ± 1,04
kreatinin (μmol/l)	84,7 ± 19,4	79,5 ± 14,1
kyselina močová (μmol/l)	348 ± 110	329 ± 91
bilirubin (μmol/l)	10,48 ± 4,96	13,40 ± 7,73
ALT (μkat/l)	0,68 ± 0,33	0,51 ± 0,29**
AST (μkat/l)	0,50 ± 0,15	0,42 ± 0,11**
GMT (μkat/l)	0,94 ± 0,59	0,65 ± 0,52
ALP (μkat/l)	1,11 ± 0,35	0,98 ± 0,29

^{NS} – *nesignifikační (χ² test s Yatesovou korekcí), ^a - nepárový t-test, ^b - ANOVA, adjustováno na věk; * - p < 0,05; ** - p < 0,01; *** - p < 0,001; Zkratky: ALP - alkalická fosfatáza, ALT - alanin aminotransferáza, AST - aspartát aminotransferáza, BMI - body mass index, GMT - γ-glutamyl transferáza, HDL-C – cholesterol v lipoproteinech o vysoké hustotě, LDL-C – cholesterol v lipoproteinech o nízké hustotě, TAG - triacylglyceroly, TC - celkový cholesterol*

5.1.2 Soubor pacientů s ESRD

Soubor sledovaných pacientů sestával z 57 osob s ESRD (35 mužů/22 žen, věk $62,9 \pm 12,7$ roků) v pravidelném hemodialyzačním programu a 50 kontrolních osob bez známek CKD párovaných podle věku a pohlaví. Základní charakteristiky souboru jsou uvedeny v Tabulce 11 na straně 54. Všechny vyšetřované parametry přeživších pacientů s ESRD se po pěti letech porovnávaly se vstupními hodnotami na počátku studie.

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, v Praze (viz též kapitola 5.2.2.3 na straně 44). Všichni pacienti byli ve stabilním klinickém stavu bez známek akutních kardiologických problémů. Někteří měli zavedenou hypolipidemickou léčbu [30 užívalo statiny (atorvastatin), 2 jiná hypolipidemika], 3 pacienti měli anurii, u zbývajících byla diuréza zachována. Diabetes mellitus T2 mělo 28 pacientů (ve 13 případech byla zavedena léčba analogy inzulínu). Jako vazač fosfátu byl použit Renagel® (sevelamer hydrochlorid) u 13 pacientů. Pro účely pětiletého sledování bylo nakonec vhodných celkem 14 pacientů (36 pacientů nepřežilo – 31 z nich z kardiovaskulárních příčin, 5 pro onkologické komorbidity; 10 pacientů bylo transplantováno). Jeden pacient nemohl být využit pro další účely sledování, neboť nebyl k dispozici informovaný souhlas. Celková doba dialýzy v průběhu jednoho týdne se u všech pacientů pohybovala v rozmezí 12-15 hodin během jednoho týdne. Současná technologie umožňuje monitorování účinnosti dialýzy přímo během procedury (Kt/V na podkladě iontové dialyzance či stanovení močoviny v dialyzátu) a adekvátnost dialýzy je tak možno sledovat on-line. V našem případě jsme využívali změnu koncentrace Na^+ , jež má obdobnou clearance přes dialyzační membránu jako urea. Adekvátnost dialýzy byla tedy vyjádřena pomocí parametru OCM (on-line clearance monitoring), který je znám hned na konci hemodialyzační procedury a měl dosahovat hodnot $> 1,4$. V našem souboru měli pacienti parametr OCM $1,64 \pm 0,33$ (Locatelli et al. 2005). U žádného pacienta jsme nepozorovali významné odchylky od cílového hydratačního stavu (dodržení tzv. „suché váhy“ a doporučené hodnoty ultrafiltrace).

Vylučovací kritéria zahrnovala: endokrinopatii, těhotenství a kojení, požívání alkoholu a akutní zánětlivá onemocnění. Během sledování se u žádného pacienta tato vylučovací kritéria neobjevila. 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). U většiny

dialyzovaných pacientů lze v anamnéze indikaci statiny zaznamenat, tato studie tedy popisuje běžnou situaci u dialyzovaných pacientů.

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 (parametr eGFR pro odhad glomerulární filtrace byl vypočítán podle vzorce: $eGFR(\text{ml/s/1,73 m}^2) = 186,3 * [\text{kreatinin v séru (mmol/l)} / 88,4]^{-1,154} * \text{věk}^{-0,203} * 1/60 * f$, přičemž $f = 1$ pro muže a $f = 0,742$ pro ženy (*Planet 2007*): příslušné hodnoty eGFR byly $1,41 \pm 0,25$, případně eGFR > 1 pro všechny členy kontrolní skupiny. Někteří pacienti byli léčeni hypocholesterolemickými léky (9 statiny, 1 fenofibrátem), 20 mělo hypertenzi, u 17 jedinců byl diagnostikován DM T2 (8 léčeno metforminem), a 3 pacienti měli CVD.

Všichni pacienti byli ve stabilizovaném (> 1 rok) metabolickém stavu beze změn v terapii. Pacienti byli také charakterizováni podle počtu přítomných konvenčních RF pro CVD, jako pohlaví (muži nad 55 let), přítomnost DM, hypertenze, poruch lipidového metabolismu: (LDL-C $> 1,8$ mmol/l a/nebo TAG $> 1,7$ mmol/l a/nebo HDL/C $< 1,0$ mmol/l), kouření a BMI nad 25 kg/m^2 . Stratifikace stavu tloušťky intima-mediae (IMT, intima-media thickness) byla provedena podle Belcara (*Belcaro et al. 2001*) s tím, že byly sjednoceny kategorie IA, IB a II, aby byly vytvořeny pouze tři skupiny: normální/ztluštělá stěna (IA+IB+II); nestenotický plát (III); stenotický plát (IV).

5.2 Vyšetřovací metody

Všem osobám zařazených do studie byla odebrána venózní krev po celonočním lačnění (min. 12 hodin), u souboru ESRD před dialýzou. Sledované parametry byly podle příslušné metody stanovovány v séru nebo plazmě. Krev byla odebírána z periferní žíly do odběrových zkumavek BD Vacutainer® pro separaci séra (BD SST™ II Advances) a zkumavek BD Vacutainer® EDTA pro separaci plazmy. Zkumavky pro rutinní biochemické a hematologické analýzy byly ihned odeslány do Centrálních laboratoří Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky VFN a 1. LF UK v Praze. Tekutá složka krve (sérum/plazma) byla od krevních elementů oddělena centrifugací při 3500 RPM a 4°C po dobu 10 minut. Zkumavky pro další analýzy byly odeslány do Laboratoře pro výzkum aterosklerózy, kde bylo každému vzorku přiděleno anonymní identifikační číslo (rozklíčování proběhlo až po provedení jednotlivých analýz), pod kterým byly alikvoty séra a plazmy pro

jednotlivé speciální analýzy skladovány při -80 °C. Ke vzorkům séra pro stanovení koncentrace konjugovaných dienů (CD) byla v poměru 10:1 přidána Na₂EDTA. Aktivita antioxidantních enzymů byla měřena v erytrocytech, které byly po separaci od plazmy 3x promyty vychlazeným fyziologickým roztokem (9 g NaCl/l) v poměru 1:10 (v/v).

5.2.1 Biochemické parametry plazmy

Běžné laboratorní parametry byly vyšetřeny rutinními metodami v Centrálních laboratořích Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky VFN v Praze. Koncentrace TC, TAG, kyseliny močové a glukózy byly stanoveny pomocí enzymaticko-kolorimetrických metod (CHOD/PAP, GPO/PAP, urikáza/PAP, GOD-PAP; Lab Mark a.s. Praha) na automatickém biochemickém analyzátoru Modular (Roche). Koncentrace HDL-C byly stanoveny přímou homogenní metodou kolorimetrickou reakcí bez precipitace (Modular, Roche), hodnoty LDL-C (včetně cholesterolu v IDL) byly stanoveny výpočtem dle Friedewalda ($LDL-C = TC - HDL-C - TAG/2,2$). Koncentrace NEFA byly měřeny enzymaticko-kolorimetrickou metodou (NEFA, Randox Labs, Velká Británie) na analyzátoru COBAS MIRA Plus (Roche), apolipoproteiny (A1, B) byly stanoveny nefelometricky pomocí diagnostického setu (Beckman Coulter) na proteinovém analyzátoru Image (Beckman Coulter) a Lp(a) byl stanoven imunoelktroforeticky (Hydragel Lp(a), Sebia). Koncentrace inzulínu a CRP byly stanoveny s použitím diagnostických souprav Roche na analyzátoru Modular (Roche). Koncentrace inzulínu byly určeny chemiluminiscenční metodou ECLIA, hladina CRP byla stanovena imunoturbidimetricky.

Jako parametr oxidačního stresu byla měřena koncentrace konjugovaných dienů v precipitovaných částicích LDL spektrofotometrickou metodou (*Ahotupa et al. 1996*). Koncentrace homocysteinu a glykovaného hemoglobinu (HbA_{1c}) byla stanovena vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (*Araki a Sako 1987*).

Aktivity antioxidantních enzymů glutathion peroxidasy (GPx1), glutathion reductázy (GR) a PON1 byly změřeny v erytrocytech (*Kodydková et al. 2009*).

5.2.2 Ostatní použité metodiky

5.2.2.1 Stanovení profilu mastných kyselin

Složení FA v hlavních lipidových třídách plazmy bylo vyšetřeno rozdělovací plynovou chromatografií po předchozí separaci jednotlivých lipidových tříd – PL, TAG a CE preparativní tenkovrstvou chromatografií (*Tvrzická et al. 2002*).

Extrakce celkového lipidu

K extrakci celkového lipidu z jednotlivých vzorků séra byla použita metoda dle Folche modifikovaná Carlsonem v následující úpravě (*Folch et al. 1957*). K 1 ml séra bylo přidáno 10 ml extrakční směsi dichlormetan-metanol (2:1 v/v) a 20 minut třepáno. Poté byl obsah zkumavky přefiltrován a filtr promyt 3x2 ml extrakční směsí. Po přidání 4 ml testované vody byla směs důkladně protřepána a centrifugována 5 min při 1500 RPM. Infranatant byl přenesen do čisté skleněné zkumavky a vysušen pod proudem dusíku při 40°C.

Jednotlivé lipidové třídy (PL, TAG, CE) byly separovány pomocí tenkovrstvé chromatografie. Vyvíjení pro separaci neutrálních lipidů (TAG a CE) od PL probíhalo v mobilní fázi heptan – diethyleter – kyselina octová (ledová) v objemovém poměru 85 – 15 – 1. Fosfolipidy se v této směsi nepohybují a zůstanou na startu v místě nanesení vzorku. Jednotlivé lipidové třídy byly detekovány pod UV lampou ($\lambda = 366 \text{ nm}$) a poté kvantitativně převedeny do označených zkumavek pro další zpracování.

Plynová chromatografie

Podmínkou pro použití plynové chromatografie je těkavost analyzovaných vzorků. Stanovení FA je proto možné až po jejich převedení na těkavé methylestery transmethylocí (*Tvrzická et al. 2002*).

Příprava metylesterů mastných kyselin transmetylací

Vzorky izolovaných PL a TAG byly po přidání bezvodého metanolátu sodného 60 minut v temnu při laboratorní teplotě, vzorky CE byly s 1 ml methanolátu sodného zahřívány 20 minut při 80°C. Ke každému 1 ml methanolátu sodného byly po inkubaci (u esterů cholesterolu po ochlazení na laboratorní teplotu) přidány 2 ml hexanu a 2 ml 0,5N kyseliny octové, dále byly

protřepány a poté odstředěny 10 minut při 2000 RPM. Supernatant byl převeden do čisté zkumavky a vysušen pod proudem dusíku při 40°C .

Analýza methylesterů mastných kyselin plynovou chromatografií

Vzorky methylesterů mastných kyselin byly po naředění heptanem analyzovány kapilární plynovou chromatografií s plamenoionizační detekcí (GC 17A Shimadzu).

Specifikace

Kolona: kapilární kolona s polární zakotvenou fází DB-23; síla zakotvené fáze 0,25 µm; vnitřní průměr 0,25 mm; délka 60 m (Agilent Technologies). Nosný plyn: vodík, vstupní tlak 53 kPa, Teplota injektoru: 250°C, Teplota detektoru: 260°C. Teplotní program pro analýzy FA v TAG a PL: počáteční teplota 80°C – izotermicky 1 min – gradient 10°C/min do teploty 120°C - gradient 4°C/min do teploty 180°C - gradient 1°C/min do teploty 240°C - gradient 10°C/min do teploty 250°C - izotermicky 5 minut. Teplotní program pro analýzy FA v esterech cholesterolu: počáteční teplota 80°C – izotermicky 1 min – gradient 10°C/min do teploty 120°C - gradient 4°C/min do teploty 180°C - gradient 1°C/min do teploty 240°C - gradient 10°C/min do teploty 250°C - izotermicky 20 minut. Vyhodnocení chromatogramů: SW Clarity™ (Data Apex).

5.2.2.2 Separace lipoproteinů ultracentrifugací

Jednotlivé lipoproteinové třídy byly separovány preparativní ultracentrifugací (Optima™ L-100XP, Beckman Coulter) za postupně se zvyšující hustoty prostředí, a to v pořadí VLDL, LDL a HDL. Do ultracentrifugační kyvety byly odměřeny 3 ml séra a hladina byla na povrchu zkumavky označena ryskou. Sérum bylo dále v poměru 2:1 (v/v) převrstveno roztokem takové hustoty, aby výsledný roztok měl hustotu specifickou pro separovanou frakci, tj. takovou, při které separovaná frakce flotuje - Tabulka 8). Pro VLDL byl použit fyziologický roztok o hustotě 1,006 g/ml, pro separaci částic LDL hustotní roztok 1,182 g/ml a pro HDL hustotní roztok 1,504 g/ml. Izolovaná frakce lipoproteinů byla pasteurovou pipetou stažena po rysku označující původní objem séra do graduované zkumavky. Po doplnění jednotlivých odebraných frakcí příslušným hustotním roztokem na původní objem séra byly vzorky odeslány do Centrálních laboratoří Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky VFN a 1. LF UK v Praze ke stanovení koncentrací lipidových složek (TC a TAG).

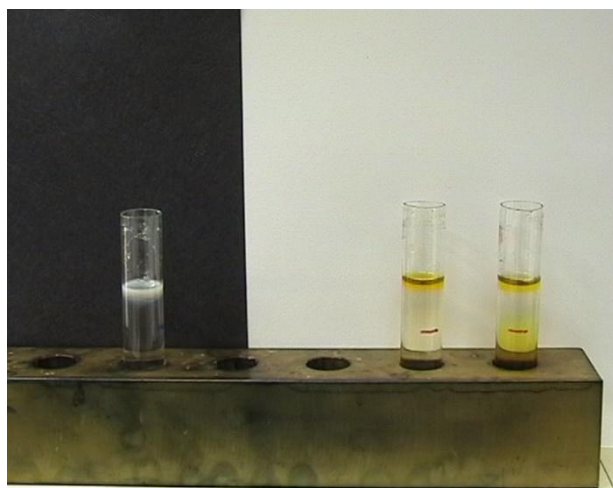
Podmínky centrifugace: 38000 ot./min po dobu dvaceti hodin ve vakuu při teplotě 10 °C.

Tabulka 8 - Hustotní roztoky pro UC separaci

Lipoprotein	Objem séra (ml)	Hustotní roztok (g/ml)/objem (ml)	Výsledná hustota 4,5 ml (g/ml)	Požadovaná hustota (g/ml)
VLDL	3	1,006/1,5	1,006	< 1,006
LDL	3	1,182/1,5	1,063	1,006-1,063
HDL	3	1,504/1,5	1,210	1,063-1,210

Zkratky: HDL – lipoproteiny o vysoké hustotě, LDL – lipoproteiny o nízké hustotě, VLDL – lipoproteiny o velmi nízké hustotě

Obrázek 9 Separované frakce:



VLDL

LDL HDL

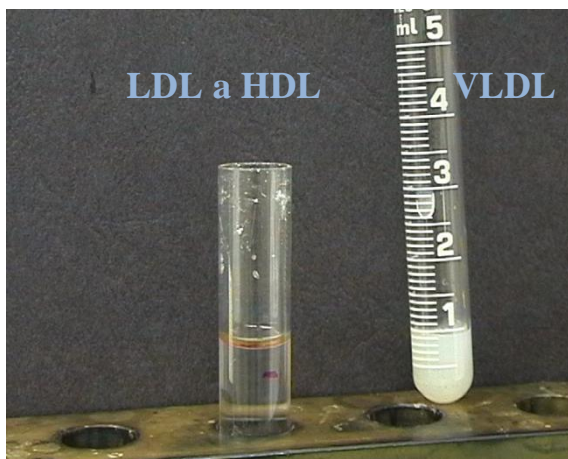
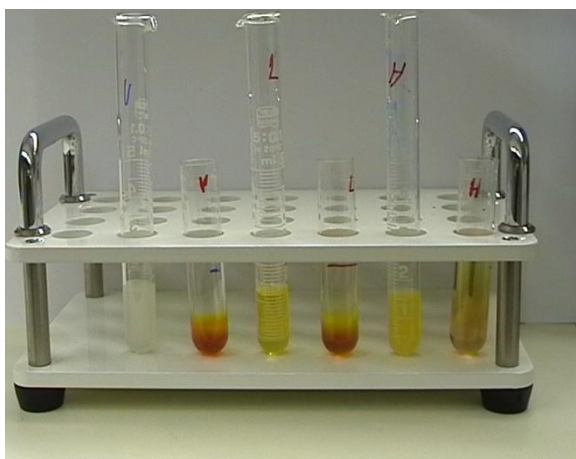
Obrázek 10

separované frakce

před doplněním na původní objem

stažení VLDL

před doplněním na původní objem



Zastoupení subfrakcí LDL a HDL v séru bylo analyzováno pomocí vysokoúčinné diskontinuální gelové elektroforézy Lipoprint® LDL/HDL System (Quantimetrix) s použitím diagnostických setů Lipoprint LDL/HDL Kit. Principem separace jednotlivých subpopulací LDL nebo HDL je vertikální elektroforéza na polyakrylamidovém gelu ve skleněné trubičce. Quantimetrix Lipoprint System separuje LDL/HDL subfrakce a stanovuje jejich obsah cholesterolu.

Obrázek 11 Systém Lipoprint

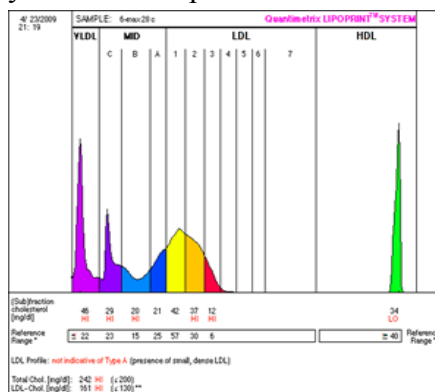
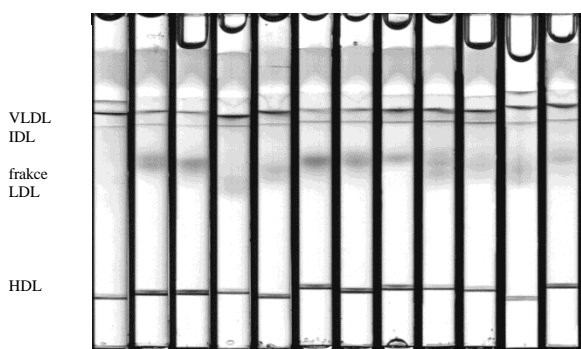


Lipoprint LDL Kit separuje lipoproteinové částice obsahující ApoB na frakce VLDL, IDL-A, IDL-B, IDL-C a 7 subpopulací LDL. LDL1 a LDL2 reprezentují velké částice, LDL3 – LDL7 malé denzní LDL.

Obrázek 12

Příklad separace LDL

scan a vyhodnocení v prostředí LIPOWARE

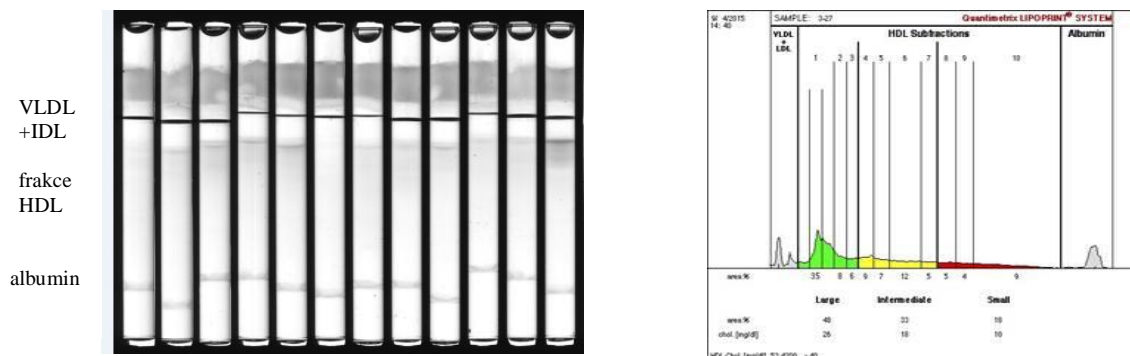


Lipoprint HDL Kit separuje 10 subfrakcí: velké HDL1 – HDL3, střední HDL4 – HDL7 a malé HDL8 – HDL10.

Obrázek 13

Příklad separace HDL

scan a vyhodnocení v prostředí LIPOWARE



Po odstranění konzervačního pufru bylo na jednotlivé trubičky (pro separaci LDL nebo HDL) nanášeno postupně 25 µl plazmy a 200 µl nanášecího gelu. Loading gel byl následně se vzorkem promíchán a po 38 minutové fotopolymerizaci byly separační trubičky vloženy do elektroforetické vany a opatrně převrstveny elektrolytickým puftrem. Elektroforetické dělení probíhalo za konstantního proudu (3 mA na jeden vzorek/gelovou trubičku) po dobu přibližně 60 minut (do doby než nejrychlejší frakce doputovala 1 cm od spodního okraje trubičky). Vyhodnocení bylo provedeno denzitometricky pomocí programu Lipoware (Quantimetrix).

5.2.2.3 Hemodiafiltrace

Hemodiafiltrace (HDF) je pokročilejší metoda, která slouží pacientům s ESRD k náhradě funkce ledvin. Metoda spočívá na principu difúzního (pohyb molekul přes membránu po koncentračním spádu) a konvektivního (proudění a splavování látek vyvolané tlakem) transportu látek přes polopropustnou membránu. Spojení těchto principů nejlépe napodobuje funkci ledvin (*Ledebo et al. 2010*). Pro hemodiafiltrační proceduru jsou využívány vysokopropustné tzv. high-flux (v našem případě Cordiax 5008 firmy Fresenius Medical Care) membrány, které jsou vyrobeny ze syntetického materiálu (polysulfonu). Během vysokoobjemové (HV, high volume) HDF je z těla pacienta postupně ultrafiltrován větší objem tekutin, než by odpovídal pouhému převodnění pacienta. Aby se zabránilo

hemokoncentraci a hypovolémii, je odfiltrovaný roztok obsahující toxické látky současně nahrazován substitučním roztokem. Podle místa aplikace substitučního roztoku lze rozlišovat prediluční HDF (náhradní roztok je podán do krve před hemodiafiltrem) a postdiluční HDF (náhradní roztok je podán do krve za hemodiafiltrem).

HDF metody jsou vysoce účinné v eliminaci nejen nízkomolekulárních látek, jako v případě hemodialýzy, ale i středně molekulárních látek a toxických látek s vazbou na bílkoviny. Odstraňování spektra a množství toxických látek je při hemodiafiltraci významně účinnější ve srovnání s klasickou hemodialýzou. Zároveň je hemodiafiltrace spojena s vyšší kardiovaskulární stabilitou a je pro pacienta významně komfortnější (*Maduell et al. 2013*).

5.3 Statistické zpracování

Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr \pm SD pro veličiny s normálním rozdělením a jako medián (25. – 75. percentil) pro veličiny s negaussovskou distribucí. Normalita byla testována prostřednictvím Shapiro-Wilksova *W* testu, přičemž v případě nenormální distribuce proměnných byly tyto transformovány logaritmicky nebo pomocí arcsin funkce (typicky pro TAG, CRP, glukózu nebo procentuální podíly u některých lipoproteinových subfrakcí). Rozdíly mezi jednotlivými skupinami a kontrolními soubory byly zkoumány pomocí jednofaktorové ANOVA s Neuman-Keulsovým post-hoc testem. Pro neparametrickou analýzu byla použita Kruskal-Wallisova ANOVA. Vztahy mezi proměnnými byly analyzovány pomocí Pearsonova (resp. Spearmanova) korelačního koeficientu.

Pro všechny statistické analýzy byl používán program STATISTICA 10.0 (Stat Soft, CZ). Za statisticky signifikantní byly považovány výsledky s $p < 0,05$, přičemž pro mnohonásobná porovnávání jsme použili Benjaminino-Hochbergovu (exploratorní Simesovu) proceduru pro úpravu hodnot p . Tato metoda umožnila odmítnout nulovou hypotézu ještě při hodnotách $p < 0,03$ na úrovni poměru chybně zamítnutých nulových hypotéz a celkového počtu zamítnutých hypotéz (tzv. false discovery rate) 5 % (*Heller 2006*).

6 VÝSLEDKY

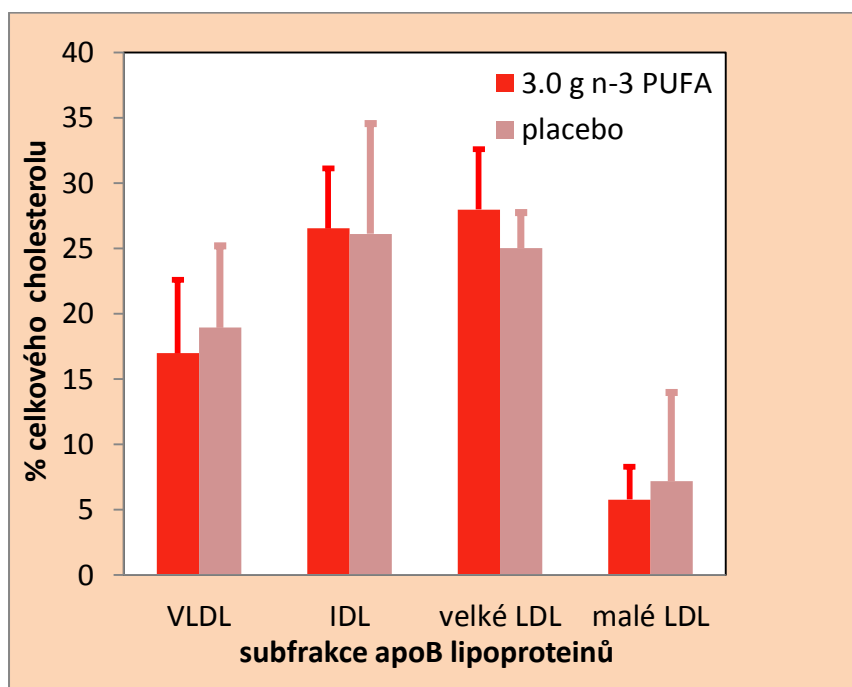
6.1 Metabolický syndrom

V Tabulkách 9a a 9b 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 (-28 %, $p < 0,001$) a ve VLDL (-27 %, $p < 0,001$), doprovázená i poklesem obsahu cholesterolu ve VLDL, hlavně u skupiny bez statinové léčby, což bylo potvrzeno i analýzami pomocí elektroforézy (Grafy 1 a 2). Tyto změny byly provázeny mírným vzestupem plazmatické koncentrace HDL-C (+4 %, $p < 0,01$) a poklesem absolutní koncentrace cholesterolu v sdLDL-C (-16 %, $p < 0,05$). Plazmatická koncentrace LDL-C se mírně zvýšila (+8,8 %, $p < 0,01$).

Dále byl po podávání PUFA n-3 zjištěn pokles plazmatické koncentrace Lp(a) (-10 %, $p < 0,05$); 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, $p < 0,01$).

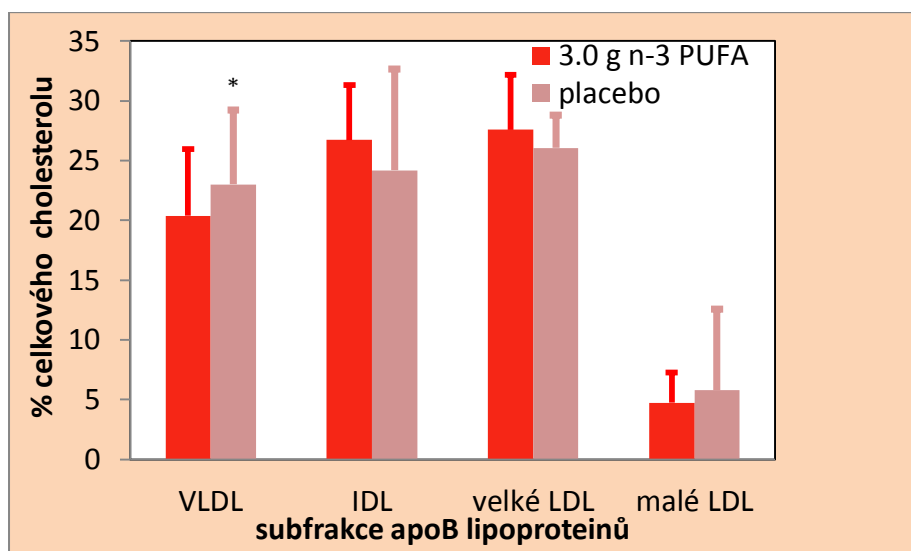
V obou skupinách byl zaznamenán významný pokles intenzity albuminurie. Koncentrace CD v LDL (LDL-CD) se mírně snížila (-6,3 %, $p = 0,05$); významně poklesla aktivita GR (-11 %, $p < 0,001$) a stoupla aktivita PON1 (+5 %, $p < 0,05$). Podávání PUFA n-3 nevyvolalo žádné signifikantní změny ukazatelů sacharidového metabolismu (glykémie, inzulinémie, HbA_{1C}) ani markerů inzulinové rezistence (HOMA-IR, HOMA-B, QUICKI, data neuvedena).

Graf 1 - Vliv podávání PUFA n-3 na profil lipoproteinů (pacienti se statinovou léčbou)



Zkratky: IDL – lipoproteiny o střední hustotě, LDL – lipoproteiny o nízké hustotě, PUFA - polynenasycené mastné kyseliny VLDL – lipoproteiny o velmi nízké hustotě

Graf 2 - Vliv podávání PUFA n-3 na profil lipoproteinů (pacienti bez statinové léčby)



* - $p < 0,05$ (párový t-test)

Zkratky: IDL – lipoproteiny o střední hustotě, LDL – lipoproteiny o nízké hustotě, PUFA - polynenasycené mastné kyseliny VLDL – lipoproteiny o velmi nízké hustotě

Tabulka 9a - 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
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) ¹	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) ²	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) ²	2,18(1,68-3,38)	1,87(1,24-2,69)***	2,01 (1,82-3,47)	1,87(1,49-2,11)***
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) ²	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 - denzitní gradient odpovídá IDL+LDL ($d = 1,006-1,063$), ² - Wilcoxonův párový test; symboly pro statistickou významnost (párový t-test, pokud není vyznačeno jinak): * - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$, *** - $p < 0.001$

Zkratky: CAT - kataláza, CD – konjugované dieny, GPx - glutathion peroxidáza, GR - glutathion reduktáza, HDL - lipoproteiny o vysoké hustotě, IDL - lipoproteiny o střední hustotě, LDL - lipoproteiny o nízké hustotě, NEFA – neesterifikované mastné kyseliny, PON1 - paraoxonáza-1, Hb1Ac - glykovaný hemoglobin, TC - celkový cholesterol, TAG – triacylglyceroly, tHCY – celkový homocystein, UC – analýzy pomocí ultracentrifugace, VLDL- lipoproteiny o velmi nízké hustotě

Tabulka 9b - 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
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
celkový homocystein (μmol/l)	15,7 ± 5,8	15,8 ± 5,3
konjugované dieny 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

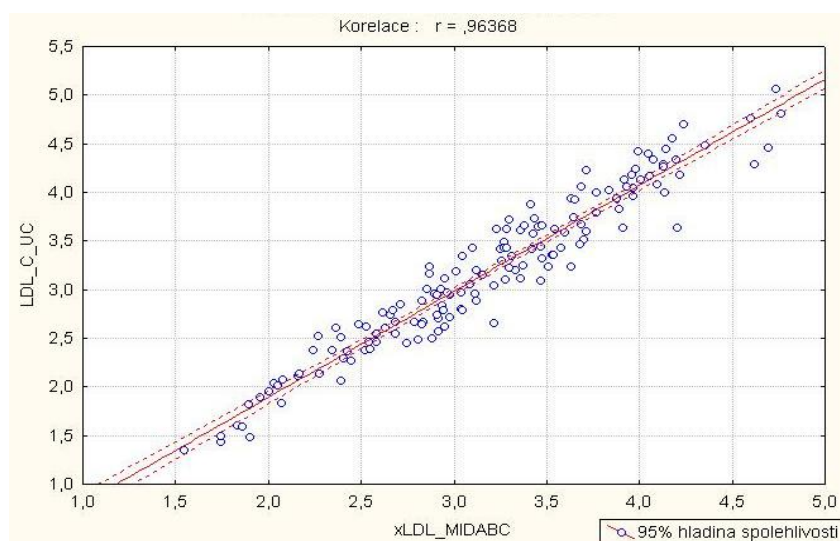
¹ - odpovídá subfrakcím MID A,B,C v analýzách Lipoprint®, ²- subfrakce LDLI-7 v analýzách Lipoprint®, ³- subfrakce LDL 3-7 v analýzách Lipoprint®, ⁴- denzitní gradient odpovídá IDL+LDL ($d = 1,006-1,063$), ⁵ - Wilcoxonův párový test; další poznámky viz Tabulka 9a

Analýzou FA ve fosfolipidech plazmy byl zjištěn významný pokles mononenasycených kyselin (-7 %, $p < 0,001$) zejména palmitolejové (16:1n-7) (-13 %, $p < 0,001$) a olejové (18:1n-9) (-7,5 %, $p < 0,001$) a rovněž pokles vícenenasycených kyselin řady n-6 (-12,7 %, $p < 0,001$), linolové (18:2n-6) (-10,8 %, $p < 0,001$), dihomo- γ -linolenové (20:3n-6) (-26 %, $p < 0,001$) a arachidonové (20:4n-6) (-39 %, $p < 0,001$). Podíl nasycených kyselin myristové (14:0) a palmitové (16:0) se mírně zvýšil (+3,5 %, $p < 0,001$). Zastoupení PUFA n-3 se zvýšilo velmi výrazně a signifikantně, kyselina eikosapentaenová (20:5n-3) stoupla čtyřnásobně, kyselina dokosaheptaenová (22:6n-3) téměř dvojnásobně; také kyselina dokosapentaenová (22:5n-3) vykázala významný vzestup (vše $p < 0,001$).

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 (subfrakce LDL1 až 7) a IDL-C (subfrakce MIDA až MIDC) určených pomocí diskontinuální elektroforézy. Korelační koeficient byl velmi těsný a statisticky významný ($r = 0,964$; $p < 0,0001$).

Obrázek 14 Korelace hodnot LDL-C stanovených pomocí ultracentrifugace a Lipoprintu:



Zkratky: LDL_C_UC – koncentrace cholesterolu ve frakci LDL (obsahuje i IDL) získané pomocí ultracentrifugace, xLDL_MIDABC – součet koncentrací cholesterolu ve frakcích LDL (xLDL) a IDL (MIDABC) získaných gelovou elektroforézou v systému Lipoprint®

Korelační analýzou byly v celém souboru vyšetřených osob zjištěny následující závislosti týkající se plazmatické koncentrace TAG a koncentrace sdLDL-C: Před podáváním PUFA n-3 hodnoty sdLDL-C pozitivně korelovaly s koncentrací TAG ($r = 0,623$; $p < 0,001$). Pokles sdLDL-C po podávání PUFA n-3 pozitivně koreloval s hodnotami sdLDL před léčbou ($r = 0,561$; $p < 0,001$), a s velikostí poklesu TAG po léčbě ($r = 0,333$; $p < 0,05$), avšak nebyl závislý na hodnotách TAG před léčbou ($r = 0,244$; $p < 0,075$). Pokles TAG po léčbě pozitivně koreloval s koncentrací TAG před léčbou ($r = 0,567$; $p < 0,001$), ale nebyl závislý na vzestupu plazmatické koncentrace PUFA n-3 po léčbě ($r = 0,146$; $p < 0,225$).

Tabulka 10a - Vliv PUFA n-3 na složení mastných kyselin v plazmatických fosfolipidech

	Placebo	PUFA n-3	Placebo	PUFA n-3
	S	S	N	N
14:0	0,26 ± 0,07	0,32 ± 0,12**	0,26 ± 0,07	0,32 ± 0,11*
16:0	29,24 ± 1,39	30,87 ± 2,35***	30,17 ± 1,63	31,57 ± 1,42***
16:1n-7	0,54 ± 0,13	0,48 ± 0,12**	0,51 ± 0,23	0,44 ± 0,13
18:0	14,53 ± 1,01	14,41 ± 1,14	13,47 ± 1,10	13,52 ± 1,07
18:1n-9	9,51 ± 1,11	8,88 ± 1,08**	9,55 ± 1,43	8,66 ± 0,94**
18:1n-7	1,39 ± 0,24	1,34 ± 0,16	1,45 ± 0,28	1,42 ± 0,28
18:2n-6	22,01 ± 3,54	19,22 ± 2,54***	22,72 ± 3,04	19,36 ± 2,24***
18:3n-6	0,09 ± 0,03	0,09 ± 0,04	0,09 ± 0,05	0,08 ± 0,05
18:3n-3	0,18 ± 0,06	0,16 ± 0,05	0,18 ± 0,06	0,16 ± 0,05
20:3n-6	3,37 ± 0,68	2,59 ± 0,63***	3,46 ± 0,64	2,41 ± 0,54***
20:4n-6	12,26 ± 2,39	10,38 ± 1,79***	11,50 ± 2,23	10,07 ± 1,57***
20:5n-3	1,01 ± 0,77	3,71 ± 1,16***	0,98 ± 0,41	4,22 ± 1,49***
22:4n-6	0,34 ± 0,06	0,21 ± 0,05***	0,32 ± 0,09	0,19 ± 0,05***
22:5n-6	0,23 ± 0,06	0,13 ± 0,04***	0,22 ± 0,08	0,11 ± 0,04***
22:5n-3	0,90 ± 0,15	1,38 ± 0,24***	0,86 ± 0,17	1,38 ± 0,31***
22:6n-3	3,43 ± 0,85	5,17 ± 0,96***	3,56 ± 0,77	5,51 ± 0,97***
Σ SFA	44,11 ± 1,03	45,68 ± 1,92***	43,98 ± 1,10	45,49 ± 1,19***
Σ MUFA	11,67 ± 1,23	10,94 ± 1,13**	11,74 ± 1,71	10,73 ± 1,15***
Σ PUFA n-6	38,70 ± 2,22	32,96 ± 2,41***	38,71 ± 1,30	32,50 ± 2,31***
Σ PUFA n-3	5,52 ± 1,37	10,43 ± 1,84***	5,57 ± 1,07	11,28 ± 2,50***

* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$; párový t-test

Zkratky: Σ - suma, MUFA – mononenasyčené mastné kyseliny, PUFA – vícenenasyčené mastné kyseliny, SFA – nasycené mastné kyseliny, zkrácená notace pro označování retězců mastných kyselin (formát C:N-x): C – počet uhlíků v molekule, N – počet dvojných vazeb, x- pozice první dvojných vazeb počítáno od methylového konce

Tabulka 10b - Vliv PUFA n-3 na složení FA v plazmatických PL - spojené skupiny

	Placebo	PUFA n-3
	S+N	S+N
14:0	0,26 ± 0,07	0,32 ± 0,12***
16:0	29,61 ± 1,55	31,15 ± 2,04***
16:1n-7	0,53 ± 0,17	0,46 ± 0,12**
18:0	14,10 ± 1,16	14,05 ± 1,19
18:1n-9	9,52 ± 1,24	8,80 ± 1,03***
18:1n-7	1,42 ± 0,26	1,37 ± 0,22
18:2n-6	22,29 ± 3,34	19,28 ± 2,41***
18:3n-6	0,09 ± 0,04	0,09 ± 0,04
18:3n-3	0,18 ± 0,06	0,16 ± 0,05
20:3n-6	3,41 ± 0,66	2,52 ± 0,60***
20:4n-6	11,95 ± 2,34	10,26 ± 1,70***
20:5n-3	1,00 ± 0,65	3,91 ± 1,31***
22:4n-6	0,33 ± 0,07	0,20 ± 0,05***
22:5n-6	0,22 ± 0,07	0,12 ± 0,04***
22:5n-3	0,88 ± 0,16	1,38 ± 0,27***
22:6n-3	3,48 ± 0,82	5,31 ± 0,97***
Σ SFA	44,06 ± 1,05	45,61 ± 1,66***
Σ MUFA	11,70 ± 1,43	10,85 ± 1,13***
Σ PUFA n-6	38,70 ± 1,89	32,77 ± 2,36***
Σ PUFA n-3	5,54 ± 1,25	10,77 ± 2,15***

* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$, párový t-test

Zkratky: Σ - suma, MUFA – mononenasyčené mastné kyseliny, PUFA – vícenenasyčené mastné kyseliny, SFA – nasycené mastné kyseliny, zkrácená notace pro označování retězců mastných kyselin (formát C:N-x): C – počet uhlíků v molekule, N – počet dvojných vazeb, x- pozice první dvojně vazby počítáno od methylového konce

6.2 Terminální renální selhání

Porovnání hemodialyzovaných pacientů s kontrolní skupinou

V Tabulkách 11 a 12 jsou uvedeny základní klinické a biochemické charakteristiky hemodialyzovaných pacientů (HV-HDF) a kontrolní skupiny (KON). Obě skupiny se nelišily v hodnotách základních antropometrických parametrů, jako věku ($62,9 \pm 12,7$ vs. $61,6 \pm 7,8$ roků, $p > 0,1$; HV-HDF vs. KON), tělesné hmotnosti ($83,0 \pm 21,0$ vs. $85,6 \pm 16,0$ kg, $p > 0,1$) nebo BMI ($28,1 \pm 6,3$ vs. $29,3 \pm 5,0$ kg.m⁻², $p > 0,1$). U dialyzované skupiny jsme pozorovali vyšší hodnoty systolického krevního tlaku (143 ± 22 vs. 135 ± 16 mmHg, $p < 0,05$), zatímco hodnoty diastolického krevního tlaku byly vyšší u kontrolních osob (70 ± 15 vs. 88 ± 11 mmHg, $p < 0,001$). 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). Pouze koncentrace glukózy byly rozdílné, ale bez vlivu na distribuci lipoproteinů (data neuvedena). Navíc terapie DM pomocí metforminu neovlivnila profil lipoproteinových subfrakcí u kontrolní skupiny (data neuvedena) a terapie inzulinem/inzulínovými analogy neměla vliv na hodnoty lipoproteinů u skupiny HD. Ačkoliv poměr muži/ženy byl u obou skupin podobný ($p > 0,5$; χ^2 -test s Yatesovou korekcí), pozorovali jsme některé rozdíly mezi muži a ženami, co se týče lipoproteinových subfrakcí. Ve skupině HV-HDF, muži měli snížené zastoupení velkých subfrakcí HDL (48 ± 12 vs. 42 ± 9 % cholesterolu v HDL, ženy vs. muži; $p = 0,04$), zřejmě v souvislosti s nižšími koncentracemi HDL-C ($1,4 \pm 0,5$ vs. $1,1 \pm 0,3$ mmol/l; $p = 0,013$). Účinnost dialýzy, vyjádřená jako parametr OCM, byla mírně vyšší u žen ($1,75 \pm 0,40$ vs. $1,56 \pm 0,23$; $p = 0,04$). Nicméně parametr OCM nekoreloval se zastoupením cholesterolu u subfrakcí HDL/LDL u mužů ani u žen na HV-HDF (data neuvedena). Ve skupině KON, muži měli více změn v lipidovém profilu než ženy: vyšší hodnoty TAG ($1,2 \pm 0,4$ vs. $1,7 \pm 0,9$ mmol/l, ženy vs. muži; $p = 0,01$) a nižší koncentrace HDL-C ($1,6 \pm 0,5$ vs. $1,3 \pm 0,3$ mmol/l, $p = 0,008$). Tyto změny se odrazily i ve změnách profilu lipoproteinů, jako například ve vyšším zastoupení cholesterolu v částicích VLDL u mužů (21 ± 8 vs. 27 ± 5 % cholesterolu, $p < 0,001$) a v částicích sdLDL ($1,2 \pm 1,2$ vs. $2,9 \pm 2,7$ % cholesterolu; $p = 0,02$). Vliv hypertenze na sledované parametry nebyl statisticky významný.

Dialyzovaní pacienti měli jiné hodnoty minerálů (nižší koncentraci Na⁺: 135 ± 4 vs. 140 ± 2 mmol/l; $p < 0,001$; a vyšší koncentraci K⁺: $5,1 \pm 0,6$ vs. $4,3 \pm 0,3$ mmol/l; $p < 0,001$) a také více zvýrazněné změny v hodnotách některých biochemických parametrů, jako vyšší

koncentrace močoviny (18 ± 5 vs. 6 ± 1 mmol/l, $p < 0,001$), kreatininu (681 ± 177 vs. 177 ± 18 mmol/l, $p < 0,001$), glukózy ($7,5 \pm 3,7$ vs. $5,3 \pm 0,8$ mmol/l; $p < 0,05$) a CRP ($4,1[2,5-9,9]$ vs. $2,5[1,2-5,2]$ mg/l, medián[Q1-Q4]; $p < 0,01$). Rozdílné hodnoty parametrů lipidového metabolismu u skupiny HV-HDF, jako nižší koncentrace TC ($4,4 \pm 1,0$ vs. $5,2 \pm 1,0$ mmol/l; $p < 0,001$), byly způsobeny jak nižšími koncentracemi LDL-C ($2,3 \pm 0,8$ vs. $3,1 \pm 0,8$ mmol/l; $p < 0,001$), tak i HDL-C ($1,2 \pm 0,4$ vs. $1,4 \pm 0,4$ mmol/l; $p < 0,001$), zatímco koncentrace TAG byly u skupiny HV-HDF vyšší ($2,1 \pm 1,1$ vs. $1,5 \pm 0,8$ mmol/l; $p < 0,01$).

Tabulka 11 - Základní klinické charakteristiky skupin HV-HDF a KON

	HV-HDF	KON
počet	57	50
muži (%)	35 (61 %)	32 (64 %) ^{NS}
věk (roky)	$62,9 \pm 12,7$	$61,6 \pm 7,8^a$
BMI ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$)	$28,1 \pm 6,3$	$29,3 \pm 5,0$
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	$135 \pm 16^{*b}$
diastolický krevní tlak (mmHg)	70 ± 15	$88 \pm 11^{***}$
optimální tělesná hmotnost (kg)	83 ± 21	86 ± 16

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

Tabulka 12 - Základní biochemické charakteristiky skupin HV-HDF a KON

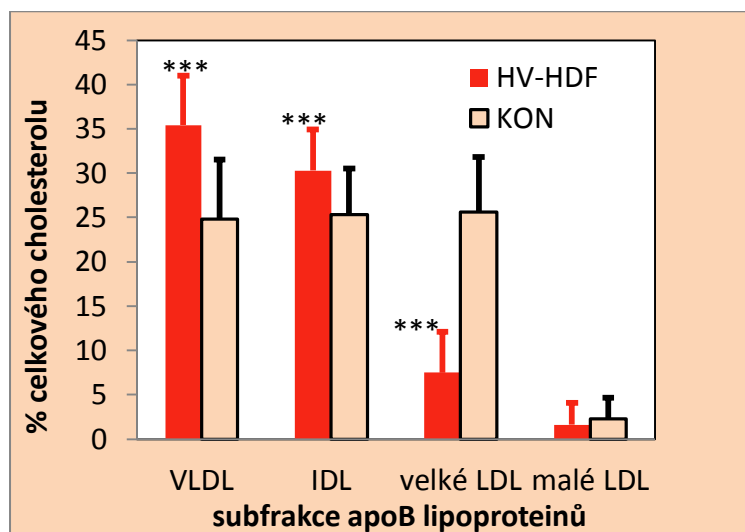
	HV-HDF (n = 57)	KON (n = 50)
močovina (mmol/l)	17,8 ± 4,7	5,6 ± 1,4***
kreatinin (μmol/l)	681 ± 177	177 ± 18 ***
kyselina močová (μmol/l)	316 ± 63	320 ± 83
celkový protein (g/l)	67,1 ± 5,4	71,6 ± 4,2***
albumin (g/l)	38,1 ± 3,1	46,1 ± 1,9 ***
CRP (mg/l)	4,1 (2,5-9,9) ^c	2,5 (1,2-5,2)**
TC (mmol/l)	4,45 ± 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 - aterogenní 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

Profily lipoproteinových subfrakcí jsou uvedeny v Grafu 3. Mezi skupinami KON a HV-HDF jsme pozorovali rozdíly jak mezi apoB lipoproteiny, tak v subfrakcích HDL. Skupina HV-HDF měla vyšší obsah cholesterolu ve frakci VLDL (35 ± 6 vs. 25 ± 7 % cholesterolu v lipoproteinech; $p < 0,001$) a částicích IDL (30 ± 5 vs. 25 ± 5 % cholesterolu v lipoproteinech; $p < 0,001$) na úkor nižšího zastoupení cholesterolu ve velkých LDL částicích (8 ± 5 vs. 26 ± 6 % cholesterolu v lipoproteinech; $p < 0,001$). Tyto změny byly doprovázeny velkými rozdíly mezi koncentracemi cholesterolu v non-HDL a LDL částicemi ve skupině HD ($0,96 \pm 0,42$ vs. $0,66 \pm 0,29$ mmol; $p < 0,001$). 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 (44 ± 11 vs. 22 ± 7 % cholesterolu v

lipoproteinech HDL; $p < 0,001$). Naopak obsah cholesterolu ve středně velkých částicích HDL (38 ± 7 vs. 43 ± 4 % cholesterolu v lipoproteinech HDL; $p < 0,001$) a malých HDL byl nižší u skupiny HV-HDF (18 ± 5 vs. 35 ± 8 % cholesterolu v lipoproteinech HDL; $p < 0,001$).

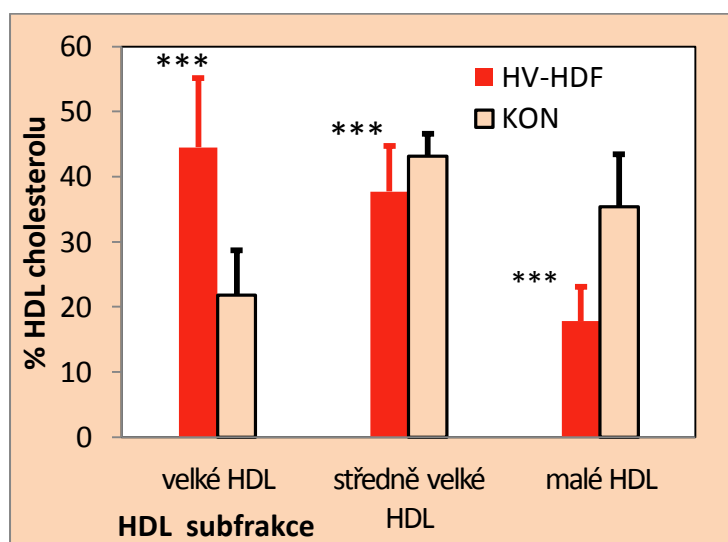
Graf 3 - Profil lipoproteinů apoB



*** - $p < 0,001$ (nepárový *t*-test); chybové úsečky odpovídají SD

Zkratky: HV-HDF – vysokoobjemová hemodiafiltrace, IDL – lipoproteiny o střední hustotě, KON- kontrolní skupina, LDL – lipoproteiny o nízké hustotě, VLDL – lipoproteiny o velmi nízké hustotě

Graf 4 - Profil HDL lipoproteinů



*** - $p < 0,001$ (nepárový *t*-test); chybové úsečky odpovídají SD

Zkratky: HV-HDF – vysokoobjemová hemodiafiltrace, IDL – lipoproteiny o střední hustotě, KON- kontrolní skupina, LDL – lipoproteiny o nízké hustotě, VLDL – lipoproteiny o velmi nízké hustotě

Počáteční charakteristiky přeživších

Sledované období 5 let přežilo pouze 14 ze skupiny 47 pacientů na HV-HDF (nepočítaje v to pacienty podstoupivší transplantaci ledvin), což je v souladu s daty uváděnými pro Českou republiku. Dále jsme porovnávali vstupní hodnoty u skupiny přeživších a nepřeživších, abychom stanovili možné prediktory přežívání. Skupina přeživších byla charakterizována (viz Tabulky 13 a 14) vyššími hodnotami diastolického krevního tlaku (76 ± 9 vs. 65 ± 14 mmHg, přeživší vs. nepřeživší; $p < 0,001$). Pouze dvě osoby ze skupiny přeživších (15 %) měly plazmatické koncentrace albuminu pod normálními hodnotami (35 g/l), zatímco u skupiny nepřeživších tato situace nastala v 8 případech (24 %), ovšem bez statistické významnosti (χ^2 -test s Yatesovou korekcí = 0,14; $p = 0,709$). U skupiny nepřeživších jsme zaznamenali vyšší koncentrace CRP (3,3[1,7-4,0] vs. 7,5[3,3-15,1] mg/l, medián [Q1-Q4] $p < 0,001$) a glukózy (5,1[4,4-6,2] vs. 7,6[5,6-10,8] mmol/l, $p = 0,016$). Parametry lipidového metabolismu se lišily pouze v případě HDL-C ($1,3 \pm 0,4$ vs. $1,0 \pm 0,4$ mmol/l; $p = 0,043$), ani distribuce lipoproteinových subfrakcí nebyla rozdílná, a to jak u apoB, tak u HDL lipoproteinů (Graf 5 a 6). Obě skupiny se nelišily ani věkem ($58,7 \pm 12,1$ vs. $65,6 \pm 12,4$ let; $p > 0,09$) ani zastoupením mužů/žen (χ^2 -test s Yatesovou korekcí = 1,43; $p = 0,232$). Délka hemodialyzačního programu před vstupem do studie u obou skupin byla též podobná (2,1[0,5-6,2] vs. 2,4[1,4-2,9] let; $p > 0,4$). Co se týče stratifikace pomocí IMT, skupina přeživších neměla příznivější distribuci pacientů než nepřeživší (χ^2 -test s Yatesovou korekcí = 0,714; $p = 0,70$).

Tabulka 13 - Porovnání klinických parametrů skupin přeživších a nepřeživších

	Přeživší	Nepřeživší
počet (muži/ženy)	14 (6/8)	33 (22/11) ^{NS}
věk (roky)	$58,7 \pm 12,1$	$65,6 \pm 12,4^a$
BMI ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$)	$28,2 \pm 6,9$	$28,3 \pm 6,4$
DM (ano (%))	4 (29 %)	20 (61 %) ^{NS}
IMT stratifikace (IA+IB+II/III/IV)	8/5/1	14/12/7 ^{NS}
systolický krevní tlak (mmHg)	140 ± 20	145 ± 21^b
diastolický krevní tlak (mmHg)	76 ± 9	$65 \pm 14^{***}$
optimální tělesná hmotnost (kg)	$85,1 \pm 28,9$	$84,5 \pm 18,0$

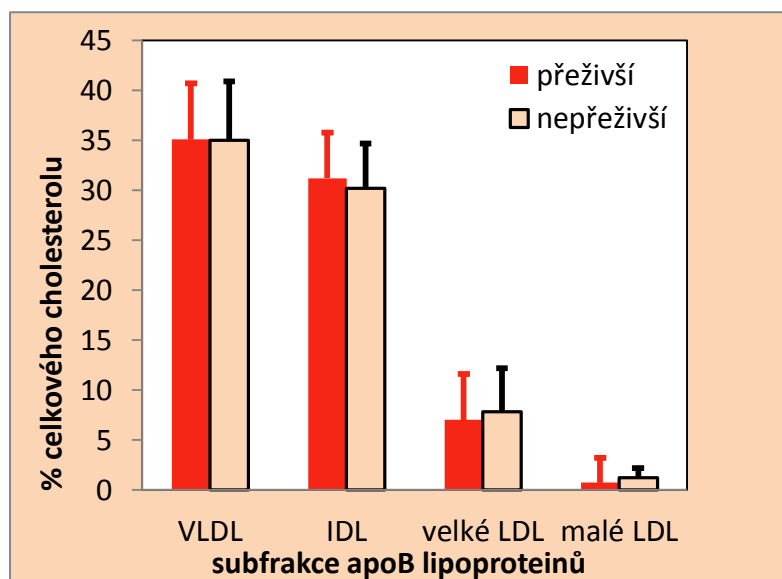
^a – data jsou ve formátu průměr \pm SD, ^b – * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ (nepárový t-test); Zkratky: BMI - index tělesné hmotnosti; DM - diabetes mellitus; IMT - tloušťka intima-medie; ^{NS} – bez statistické významnosti (χ^2 test s Yatesovou korekcí)

Tabulka 14 - Biochemické parametry u přeživších a nepřeživších

	Přeživší (n = 14)	Nepřeživší (n = 33)
Ca (mmol/l)	2,38 ± 0,28	2,20 ± 0,12*
P anorganický (mmol/l)	1,88 ± 0,48	1,69 ± 0,58
Mg (mmol/l)	1,07 ± 0,19	1,02 ± 0,34
močovina (mmol/l)	16,4 ± 3,9	18,3 ± 5,4
kreatinin (μmol/l)	684 ± 155	660 ± 192
kyselina močová (μmol/l)	310 ± 65	322 ± 67
celkový protein (g/l)	66,9 ± 5,8	67,3 ± 5,2
albumin (g/l)	38,7 ± 3,5	37,9 ± 3,3
albumin < 35 g/l n(%)	2 (15 %)	8 (24 %) ^{NS}
CRP (mg/l)	3,3 (1,7-4,0)	7,5 (3,3-15,1)***
TC (mmol/l)	4,86 ± 0,76	4,34 ± 1,13
non-HDL-C – LDL-C (mmol)	0,94 ± 0,56	1,02 ± 0,38
TAG (mmol/l)	1,9 (1,2-3,0)	2,0 (1,8-2,6)
HDL-C (mmol/l)	1,32 ± 0,41	1,05 ± 0,37*
LDL-C (mmol/l)	2,60 ± 0,58	2,27 ± 0,94
glukóza (mmol/l)	5,1 (4,4-6,2)	7,6 (5,6-10,8) *
AIP (poměr)	0,20 ± 0,31	0,32 ± 0,32
eGFR (ml/s)	0,11 ± 0,13	0,03 ± 0,07
doba dialýzy (hod/týden)	14,04 ± 0,73	13,86 ± 0,73
OCM (poměr)	1,73 ± 0,41	1,59 ± 0,30
HV-HDF t ₀ (roky)	2,1 (0,5-6,2)	2,4 (1,4-2,9)

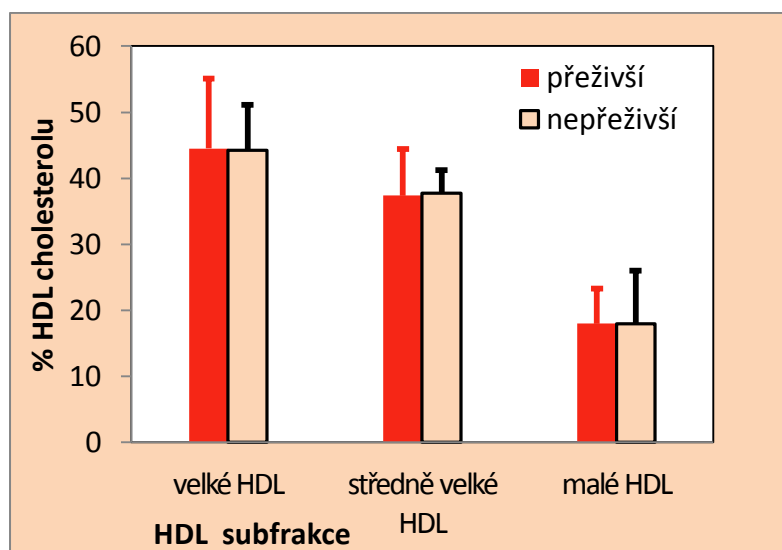
^a – data jsou ve formátu průměr ± SD, ^b – *p < 0,05; **p < 0,01; *** p < 0,001 (nepárový t-test); ^c – medián (Q1-Q4); ^{NS} – bez statistické významnosti (χ² test s Yatesovou korekcí)
 Zkratky: AIP - aterogenní index plazmy [= log(TAG(mmol/l)/HDL-C(mmol/l))], eGFR – odhadovaná rychlost glomerulární filtrace (ml/s) , HV-HDF t₀ – doba trvání HV-HDF na počátku studie, OCM - on-line měření clearance, TAG - triacylglyceroly, TC – celkový cholesterol

Graf 5 - Profil lipoproteinů apoB přeživší vs. nepřeživší



Zkratky: IDL – lipoproteiny o střední hustotě, LDL – lipoproteiny o nízké hustotě, VLDL – lipoproteiny o velmi nízké hustotě

Graf 6 - Profil HDL lipoproteinů přeživší vs. nepřeživší



Zkratky: HDL - lipoproteiny o vysoké hustotě

Analýzy u skupiny přeživších

Celkem jsme hodnotili 13 párovaných dat u skupiny přeživších. Základní charakteristika sborů pacientů je uvedena v Tabulce 15. Na konci sledovaného období jsme zaznamenali rozdílné hodnoty u parametrů minerálové rovnováhy (vzestup koncentrace Na^+ z 135 ± 3 na 136 ± 2 mmol/l, hodnoty na počátku a na konci období; $p = 0,012$; pokles koncentrací Mg^{2+} z $1,1 \pm 0,2$ na $0,9 \pm 0,2$ mmol/l; $p < 0,001$ a snížení koncentrace celkových anorganických

fosfátů z $2,0 \pm 0,5$ na $1,6 \pm 0,5$ mmol/l; $p = 0,028$). Pro močovinu, kreatinin ani kyselinu močovou jsme nezaznamenali žádné trendy, ovšem koncentrace β_2 -mikroglobulinu se zvýšily během sledovaného období (z $16,4 \pm 2,4$ na $21,2 \pm 2,5$ mg/l; $p < 0,001$). Pokles koncentrace celkové bílkoviny (z $67,2 \pm 6,1$ na $62,2 \pm 4,8$ g/l; $p < 0,05$) nebyl doprovázen úbytkem koncentrace albuminu. Koncentrace CRP stouply (z $3,3[1,7-4,0]$ na $9,1[6,0-13,9]$ mg/l, medián [Q1-Q4]; $p = 0,04$).

Tabulka 15 - Základní charakteristiky přeživších na začátku a po 5 letech

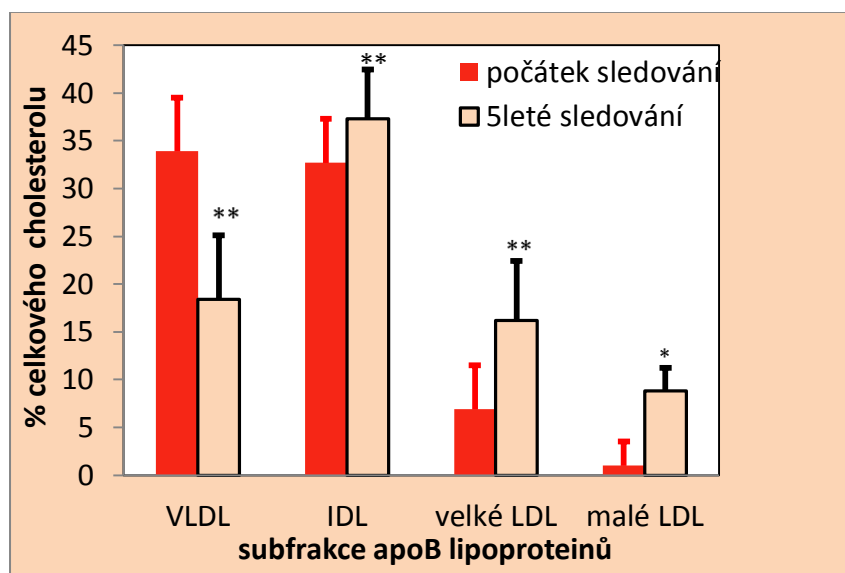
	Počátek HV-HDF (n= 13)	Konec sledování (n = 13)
BMI (kg.m ⁻²)	28,1 ± 7,1	27,6 ± 8,3
systolický krevní tlak (mmHg)	143,8 ± 19,6	136,2 ± 22,1 ^b
diastolický krevní tlak (mmHg)	74,0 ± 9,6	65,6 ± 16,4
celkové Ca (mmol/l)	2,41 ± 0,29	2,22 ± 0,24
P anorganický (mmol/l)	1,98 ± 0,46	1,56 ± 0,55*
Mg (mmol/l)	1,08 ± 0,21	0,86 ± 0,24***
močovina (mmol/l)	16,8 ± 4,1	16,6 ± 4,7
kreatinin (μmol/l)	749 ± 146	822 ± 181
kyselina močová (μmol/l)	309 ± 50	260 ± 107
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***

^a – data jsou ve formátu průměr ± SD, ^b – *p < 0,05; **p < 0,01; *** p < 0,001 (párový t-test); ^c – medián (Q1-Q4)

Zkratky: AIP - aterogenní index plazmy (= log(TAG(mmol/l)/HDL-C(mmol/l))), eGFR – odhadovaná rychlost glomerulární filtrace (ml/s); HV-HDF – vysokoobjemová hemodiafiltrace; OCM - on-line měření clearance, TAG - triacylglyceroly, TC – celkový cholesterol

Změny v parametrech lipidového metabolismu zahrnovaly pouze snížení koncentrace LDL-C (z $2,5 \pm 0,6$ na $2,1 \pm 0,7$ mmol/l; $p = 0,036$). Úbytky koncentrací TC a TAG nedosáhly statistické významnosti, což se také projevilo v nesignifikantních změnách hodnot atherogenního 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 (z 34 ± 7 na 18 ± 7 % cholesterolu v lipoproteinech; $p < 0,01$), zatímco u LDL došlo ke zvýšení (z 7 ± 5 na 27 ± 11 % cholesterolu v lipoproteinech; $p < 0,001$), které bylo způsobeno vyšším obsahem cholesterolu jak u velkých subfrakcí (z 7 ± 4 na 16 ± 7 % cholesterolu v lipoproteinech; $p < 0,01$) LDL, tak i u sdLDL (z 2 ± 3 na 7 ± 9 % cholesterolu v lipoproteinech; $p = 0,04$). Distribuce HDL subfrakcí též doznala několika změn: po pětiletém období, se zastoupení HDL cholesterolu u skupiny přeživších posunulo ve prospěch malých (z 17 ± 4 na 25 ± 11 % cholesterolu v HDL lipoproteinech; $p = < 0,05$) a středně velkých (z 36 ± 7 na 45 ± 5 % cholesterolu v HDL lipoproteinech; $p < 0,01$) HDL subfrakcí, kdežto velké HDL subfrakce obsahovaly méně cholesterolu (z 47 ± 9 na 30 ± 9 % cholesterolu v HDL lipoproteinech; $p < 0,001$), viz Grafy 7 a 8.

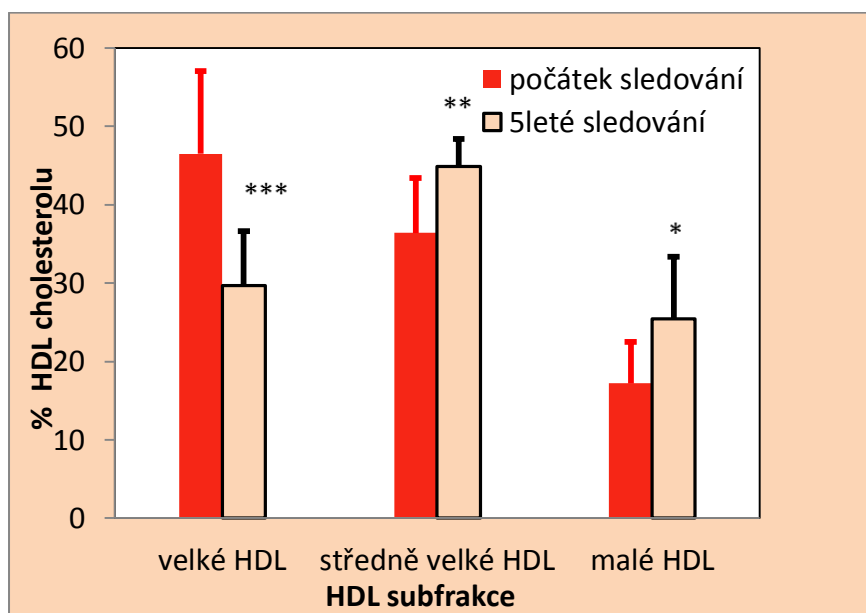
Graf 7 - Profil lipoproteinů apoB



* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$ (párový t-test); chybové úsečky odpovídají SD

Zkratky: IDL – lipoproteiny o střední hustotě, LDL – lipoproteiny o nízké hustotě, VLDL – lipoproteiny o velmi nízké hustotě

Graf 8 - Profil HDL lipoproteinů



* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ (párový t-test); chybové úsečky odpovídají SD
Zkratky: HDL - lipoproteiny o vysoké hustotě

7 DISKUZE

Pacienti s metabolickým syndromem

V patogenezi aterogenní dyslipidémie má klíčovou úlohu zvýšená produkce VLDL v játrech, zejména velkých částic VLDL₁ (S_f 100-400). U pacientů s metabolickým syndromem se na této poruše podílí především nadměrný přívod mastných kyselin 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 malých denzních LDL (*Chan 2006a*).

Recentní studie naznačily, že nejlepším ukazatelem zvýšeného zastoupení sdLDL je stupeň hypertriacylglycerolémie, zvláště ve spojení s hodnotami obvodu pasu (*Gazi et al. 2006*). Jako další marker sdLDL byla studována aktivita fosfolipázy A₂ asociované s lipoproteiny (Lp-PLA₂); tento enzym degraduje oxidované fosfolipidy (*Gazi et al. 2005*). 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 et al. 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 et al. 2004*). Hypolipidemické účinky ve vztahu k aterogenní dyslipidémii zahrnují transkripční regulaci zprostředkovanou interakcí se SREBP-1c a PPAR α . PUFA n-3 inhibují hormonálně senzitivní TAG lipázu, stimuluji LPL (*Harris a Jacobson 2009*) (i); inhibují sekreci TAG a lipogenezi (ii), stimuluji mitochondriální a peroxisomální oxidaci FA (iii), a inhibují diacylglycerol O-acyl transferázu 1 (*Chapman et al. 2011*). Potlačují sekreci VLDL₁ a urychlují konverzi VLDL na LDL ve prospěch větších částic LDL (*Bays et al. 2008, Calabresi et al. 2000*). Podávání PUFA n-3 způsobí snížený katabolismus apoA-I v HDL bez výrazného vlivu na celkové koncentrace HDL-C, ale se zvýšeným podílem frakce HDL₂ (*Chan et al. 2006b*).

V experimentech na zvířatech bylo opakovaně zjištěno, že podání PUFA n-3 působí inhibici jaterní lipogeneze, stimuluje β -oxidaci mastných kyselin, zvyšuje lipolytickou aktivitu plazmy a klinické studie u pacientů s hypertriacylglycerolémií potvrdily, že PUFA n-3 zvyšují konverzi VLDL na LDL, přičemž klesá zastoupení sdLDL ve prospěch částic velkých,

vzlínavých (*Bays et al. 2008, Calabresi et al. 2000*). Tento fenomén je způsoben zvýšením frakčního katabolismu VLDL převážně v důsledku zvýšeně exprimované lipoproteinové lipázy (*Harris a Jacobson 2009*). Do naší studie byli zařazeni pacienti s metabolickým syndromem, jejichž hodnoty TAG v plazmě byly vyšší než 1,7 mmol/l, ale nedosahovaly extrémně vysoké úrovně (TAG ve skupině S $3,61 \pm 5,01$, ve skupině N $2,66 \pm 1,52$; v mmol/l). Pacienti skupiny S byli starší ($p < 0,05$) a dlouhodobě léčeni statiny, kdežto do skupiny N byli zahrnuti převážně nemocní s nově diagnostikovanou dyslipidemií.

U nemocných ve skupině S jsme před léčbou zjistili o 33 % vyšší aktivity ALT a o 19 % aktivity AST (obě $p < 0,01$). Ve skupině S aktivity ALT nepřesahovaly u žádného nemocného 2-násobek horní hranice normy a aktivity AST se pohybovaly v pásmu referenčních hodnot; během léčby PUFA n-3 nedošlo k významným změnám aktivit funkčních jaterních testů. Mírné zvýšení transamináz může souviset s léčbou statiny, případně přítomností NAFLD, která ale nebyla sledována.

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.

Frakce LDL není homogenní a je možné ji rozdělit na základě denzity a velikosti minimálně do čtyř subfrakcí LDL I-IV, jejichž analýzu s určením koncentrace malých denzních LDL (LDL III a LDL IV) je možné uskutečnit několika způsoby. Nejstarší, časově a přístrojově nejnáročnější jsou UC postupy. Elektroforetické metody se opírají např. o 2-16% polyakrylamidový gradient nebo diskontinuální gelovou elektroforézu (DGE), kterou reprezentuje systém Lipoprint®. Také se stále častěji využívá NMR spektroskopie, která je schopna rozlišit velké, střední a malé LDL a IDL, ale neodliší Lp(a) od LDL. Popsána byla i sekvenční precipitační metoda k přímému určení koncentrace cholesterolu v sdLDL (*Hirano et al. 2005*).

Použití DGE bylo prakticky využito ke zjišťování (validaci) aterogenní dyslipidémie u osob s metabolickým syndromem (*Gazi et al. 2006*) i např. k průkazu asociace lipoprotein-asociované fosfolipázové aktivity na částice sdLDL (*Gazi et al. 2005*). Subfrakcionace třídy

LDL je možná na základě koncentrace sdLDL-C, kdy koncentrace cholesterolu v sdLDL pod 0,16 mmol/l zařazuje nemocného do fenotypu A velikosti LDL (sdLDL-C < 0,160 mmol/l), případně fenotypu non-A velikosti LDL (sdLDL-C > 0,160 mmol/l). Non-A fenotyp velikosti LDL tak může obsahovat i osoby s intermediárním fenotypem velikosti LDL.

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 et al. 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 et al. 2010*). Lipoprotein (a) představuje specifickou podtřídu lipoproteinů; jeho částice se podobají částicím LDL, ale na molekulu apo B je kovalentně navázán apo (a), jehož struktura vykazuje vysoký stupeň homologie s plazminogenem. Předpokládá se, že Lp(a) ve vysoké koncentraci působí protromboticky a má přímý aterogenní účinek. Plazmatická koncentrace Lp(a) je do značné míry geneticky podmíněna a vyznačuje se velkou interindividuální variabilitou. Kardiovaskulární riziko se zvyšuje s rostoucí koncentrací Lp(a) kontinuálně, za hraničně rizikové se považují hodnoty mezi 0,25 až 0,30 g/l. Bylo prokázáno, že poklesu plazmatické koncentrace Lp(a) lze dosáhnout podáváním kyseliny nikotinové a podle některých autorů též terapeutickými dávkami PUFA n-3 (*Shinozaki et al. 1996*). V našem souboru pacientů s metabolickým syndromem 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 a Stone 2006*). Se zřetelem na metabolický syndrom má zvláštní význam, že PUFA n-3 zasahují do některých patogenních mechanismů spojených se zvýšeným oxidačním stresem (*Poudyal et al. 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

paraoxonázy-1, enzymu asociovaného s HDL, který brání oxidaci LDL (Során 2009); současně poklesla aktivita glutathion reductázy, což při nezměněné aktivitě glutathion peroxidázy ukazuje na zmenšení nároků pro recyklaci systému oxidovaný/redukovaný glutathion (Kodydková et al. 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 albuminu v moči nižší. Renoprotektivní účinky PUFA n-3 byly opakovaně popsány (Shapiro et al. 2011). U nemocných s diabetickou dyslipidémií léčených kombinací statin-fibrát snížila suplementace PUFA n-3 koncentrace TAG, hladiny tHcy a zmenšila mikroalbuminurii (Zeman et al. 2006). V rámci studia protizánětlivého působení PUFA n-3 byla zjištěna nepřímá závislost mezi jejich plazmatickou koncentrací a koncentrací C-reaktivního proteinu (Micallef et al. 2009). V naší studii jsme změny koncentrace CRP po podávání PUFA n-3 nesledovali, protože jsme neměli možnost měřit hs-CRP; hodnoty stanovené u pacientů běžnou metodou nepřesahovaly 5 mg/l.

Pokles koncentrace PUFA n-3, zvláště EPA a DHA v CE a PL plazmy, membránách destiček a erytrocytů je považován za nezávislý rizikový faktor ICHS. Je známo, že pokles PUFA n-3 pod 4 % v PL erytrocytů je rizikovým faktorem ICHS a koncentrace nad 8 % jsou protektivním faktorem (Harris a Jacobson 2009). Podávání PUFA n-3 vedlo v naší studii v průměru alespoň k dvojnásobnému zvýšení koncentrace celkových PUFA n-3 ve PL plazmy.

Analýzou základních tříd plazmatických lipidů kapilární plynovou chromatografií byly u pacientů s metabolickým syndromem zjištěny charakteristické změny v zastoupení mastných kyselin, a to v závislosti na počtu komponent metabolického syndromu (Žák et al. 2007). Ve srovnání se zdravými osobami mají pacienti s metabolickým syndromem vyšší koncentrace SFA, MUFA a nižší koncentrace PUFA n-6, zvláště kyseliny linolové. Změny spektra FA jsou pravděpodobně důsledkem zvýšené lipogeneze a oxidačního stresu. Prokázali jsme příznivé účinky, a to významný vzestup koncentrace všech vyšetřených vícenenasycených mastných kyselin řady n-3 a snížení poměru kyselin n-3 ke kyselinám n-6.

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 vychytávání 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 et al. 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-Górzynska et al. 2017, Gluba-Brzózka et al. 2017a*).

Změny ve skupině HV-HDF odpovídají výsledkům jiných studií porovnávajících HV-HDF pacienty s kontrolními skupinami bez terapie statiny a známkami CVD. V naší kontrolní skupině byly známky CVD přítomny pouze u několika jedinců (3 z 50). Progrese CVD u HV-HDF pacientů je spojována s vysokým zastoupením částic VLDL a IDL (*Shoji et al. 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 a Parekh 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 et al. 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 a Rader 2008). U hemodialyzovaných pacientů jsou malé HDL nezávislými prediktory úmrtí na kardiovaskulární komplikace (Vekic et al. 2011). Ve skupinách sledovaných v této práci byl vztah mezi počtem konvenčních rizikových faktorů 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 (χ^2 -test s Yatesovou korekcí = 4,14, $p = 0,04$) v porovnání s kontrolní skupinou. Tento náález je v soulase s údaji ve studii Lia a kol. (Li et al. 2016), kteří pozorovali vymizení vztahu mezi počtem tradičních rizikových faktorů a obsahem cholesterolu ve velkých HDL u skupin pacientů s počtem rizikových faktorů > 4 .

Terapie statiny u skupiny HV-HDF

Obecně se má za to, že statinová terapie ovlivňuje metabolismus lipoproteinů. Ačkoli tyto účinky nejsou pozorovány u LDL ani HDL (Reyes-Soffer a Ginsberg 2015), u pacientů na hemodialýze je situace komplikovanější. U CKD bez hemodialýzy je stabilizace lipidového profilu během dlouhodobé léčby hypolipidemickými léky vhodná (Rysz et al. 2015), ovšem terapie statiny je doporučována u pacientů podstupujících hemodialýzu pouze při hypercholesterolémii (Vaziri 2016). Zajímavé je, že van den Akker (van den Akker et al. 2003) nepozoroval žádné změny u LDL podtříd separovaných ultracentrifugačně u hemodialyzovaných pacientů léčených atorvastatinem. Ve Studii MS jsme žádné změny u hypertriacylglycerolemických pacientů v lipoproteinech nesoucích apoB nepozorovali, ať již ve vztahu k léčbě statiny, tak po dietní suplementaci PUFA n-3, přičemž lipoproteiny byly separovány pomocí systému Lipoprint® (Vecka et al. 2012). Studie Sorensona dospěla ke stejným závěrům u pacientů s ESRD (Sorensen et al. 2015). Účinek statinů na koncentrace sdLDL u pacientů s CKD byl v nedávné studii zhodnocen jako zanedbatelný (Epstein a Vaziri 2012). V naší studii jsme pomocí analýzy ANOVA ukázali, že vliv terapie statiny je daleko menší, než příslušnost ke sledované skupině, neboť nejvyšší pozorovaný vliv statinové léčby byl pozorován pro velké subfrakce HDL a VLDL s hraniční významností (obě $p < 0,05$), kdežto vliv skupiny byl daleko vyšší ($p < 0,0001$).

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 et al. 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. Přežívání pacientů na HV-HDF je spojeno s lepším nutričním statutem. Rozdíly v lipoproteinových profilech jsme též nepozorovali. Jedna studie s dobou sledování 36 měsíců taktéž žádné rozdíly pro subfrakce HDL mezi přeživšími a nepřeživšími nepozorovala (*Vekic et al. 2011*).

Analýzy po 5 letech

Analýzy trendů v profilu lipoproteinů během hemodialyzačních programů nebyly dosud publikovány, alespoň v nám známých zdrojích. 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 kardiovaskulárními komplikacemi (*Yeo et al. 2009*).

Ploušťka intima-media v karotickém povodí je důležitým prediktorem CVD a v jedné studii bylo ukázáno, že má silnější vazbu k HDL než k apoB lipoproteinům u pacientů s HD (*Gluba-Brzozka et al. 2017b*). V naší studii jsme pozorovali přesun cholesterolu z velkých HDL částic

[jež jsou někdy považovány za důležitou součást progresu aterosklerózy (*Qi et al. 2015*)] do středně velkých a malých HDL, které jsou též považovány za částice se vztahem k CVD během dlouhodobého sledování (*Vekic et al. 2011*). Tento jev může být součástí komplexní odpovědi metabolismu částic HDL během dlouhodobé HD. V průběhu patogeneze kardiovaskulárních komplikací u pacientů s ESRD jsou také možné změny ve funkci/proteomu HDL (*Annema a von Eckardstein 2016*). Během sledovaného období jsme u pacientů nezaznamenali progresi kardiovaskulárních komplikací ani nebylo nutné změnit stávající hypolipidemickou léčbu.

Změny dalších parametrů ovlivňujících vývoj CVD, jako koncentrace Ca^{2+} , parathyroidního hormonu a thyreotropního hormonu v plazmě (*Nishizawa et al. 1997*), byly zanedbatelné a nevýznamné. 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 (34 ± 6 vs. 37 ± 5 % cholesterolu v lipoproteinech, pod medián vs. nad medián; $p = 0,023$) a IDL (32 ± 5 vs. 29 ± 4 % cholesterolu v lipoproteinech; $p = 0,018$) částicích. Ostatní analyzované parametry se mezi těmito dvěma skupinami nelišily, až na koncentraci β_2 -mikroglobulinu, které byly nižší u skupiny pod medián trvání HD programu ($15,3 \pm 2,4$ vs. $16,9 \pm 2,5$ mg/l; $p = 0,037$). Koncentrace TAG se nelišily ($2,3 \pm 1,0$ vs. $1,9 \pm 2,0$ mg/l; $p = 0,108$). Obsah cholesterolu v jednotlivých lipoproteinových subfrakcích neměl vztah k trvání HD programu na počátku studie jak v celé skupině HV-HDF, tak v podskupinách přeživších i nepřeživších. Navíc jsme nepozorovali ani souvislost profilu lipoproteinů s parametrem eGFR jak u HV-HDF skupiny, tak u kontrolních osob.

Tato retrospektivní 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 strukturální apolipoproteiny apoB100 a apoB48, a také aktivity enzymů měnících obsah lipoproteinů (lecitin-cholesterol acyltransferáza, lipoproteinová lipáza, protein přenášející cholesteryl estery nebo jaterní lipáza).

Změny pozorované v profilech lipoproteinů na konci sledovaného období ukazují na známky konvergence k lipoproteinovému fenotypu kontrolní skupiny. Zda-li 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.

8 ZÁVĚR

Pacienti s MS

V probíhající odborné diskusi o významu vícenenasycených mastných kyselin řady n-3 v léčbě poruch lipidového metabolismu a v prevenci kardiovaskulárních 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.

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 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.

9 LITERATURA

- 2016 ADR Reference Tables. [cit. 15.2.2017]. Dostupné z <https://www.usrds.org/reference.aspx>
- Agrawal N, Corradi PF, Gumaste N, Goldberg IJ. Triglyceride Treatment in the age of cholesterol reduction. *Progr Cardiovasc Dis* 2016; **59**(2): 107-118.
- Ahotupa M, Ruutu M, Mäntylä E. Simple methods of quantifying oxidation products and antioxidant potential of low density lipoproteins. *Clin Biochem* 1996; **29**(2): 139-144.
- Alberti KGMM, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, Fruchart JC, James WP, Loria CM, Smith SC Jr; International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; International Association for the Study of Obesity. Joint Interim Statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention, National Heart, Lung and Blood Institute, American Heart Association, World Heart Association for the study Obesity. *Circulation* 2009; **120**(16): 1640-1645.
- Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome – a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med* 2006, **23**(5), 469-480.
- Anders HJ. Chronic kidney disease. *Medizinische Klinik* 2005; **100**(11):714–721.
- Annema W, von Eckardstein A: Dysfunctional high-density lipoproteins in coronary heart diseases: implications for diagnostics and therapy. *Transl Res* 2016; **173**: 30-57.
- Appel GB, Appel AS. Dyslipidemia in Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease. A review. *Dialys Transpl* 2004; **33**(11): 714-723.
- 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.
- Arca M. Alterations of intestinal lipoprotein metabolism in diabetes mellitus and metabolic syndrome. *Atheroscler Suppl* 2015; **17**: 12-6.
- Asztalos BF, Tani M, Schaefer EJ. Metabolic and functional relevance of HDL subspecies. *Curr Opin Lipidol* 2011; **22**: 176-185.
- Austin MA, Breslow JL, Hennekens CH, Buring JE, Willett WC, Krauss RM. Low-density lipoprotein subclass pattern and risk of myocardial infarction. *JAMA* 1988; **260**: 1917-1921.

- Barter PJ, Puranik R, Rye KA. New insight into the role of HDL as an antiinflammatory agent in the prevention of cardiovascular disease. *Curr Cardiol Rep* 2007; **9**(6): 493-498.
- 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**(3): 391-409.
- Belcaro G, Nicolaides AN, Ramaswami G, Cesarone MR, De Sanctis M, Incandela L, Ferrari P, Geroulakos G, Barsotti A, Griffin M, Dhanjil S, Sabetai M, Bucci M, Martines G. Carotid and femoral ultrasound morphology screening and cardiovascular events in low risk subjects: a 10-year follow-up study (the CAFES-CAVE study). *Atherosclerosis* 2001; **156**(2): 379-387.
- Berneis KK, Krauss RM. Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity. *J Lipid Res* 2002; **43**(9): 1363-1379.
- Brahm A, Hegele RA. Hypertriglyceridemia. *Nutrients* 2013; **5**(3): 981-1001.
- Brahm AJ, Hegele RA. Combined hyperlipidemia: familial but not (usually) monogenic. *Curr Opin Lipidol* 2016; **27**(2): 131-140.
- Brewer Jr HB. High-density lipoprotein metabolisms. In: *Ballantyne CM (ed.) Clinical Lipidology: A Companion to Braunwald's Heart Disease. 2nd edition*, Philadelphia: Saunders Elsevier, 2015, s. 43-52.
- 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**(2): 387-396.
- Catapano AL, Reiner Z, De Backer G, Graham I, Taskinen MR, Wiklund O, Agewall S, Alegria E, Chapman MJ, Durrington P, Erdine S, Halcox J, Hobbs R, Kjekshus J, Perrone Filardi P, Riccardi G, Storey RF, Wood D; Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS); ESC Committee for Practice Guidelines 2008-2010 and 2010-2012 Committees. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias. The Task Force for the dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Atherosclerosis* 2011; **217**(Suppl 1): S1-S44.
- Catapano AL, Graham I, De Backer G, Wiklund O, Chapman MJ, Drexel H, Hoes AW, Jennings CS, Landmesser U, Pedersen TR, Reiner Ž, Riccardi G, Taskinen MR, Tokgozoglul L, Verschuren WM, Vlachopoulos C, Wood DA, Zamorano JL;

- Authors/Task Force Members.;2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. *Eur Heart J* 2016; **37**(39): 2999-3058.
- Caulfield MP, Li S, Lee G, Blanche PJ, Salameh WA, Benner WH, Reitz RE, Krauss RM. Direct Determination of Lipoprotein Particle Sizes and Concentrations by Ion Mobility Analysis. *Clin Chem* 2008; **54**(8): 1307-1316.
- Creider JC, Hegele RA. Clinical evaluation for genetic and secondary causes of dyslipidemia. In: *Ballantyne CM (ed.) Clinical Lipidology: A Companion to Braunwald's Heart Disease. 2nd Ed.* Philadelphia: Saunders Elsevier, 2015 s. 128-134.
- Český Institut Metabolického Syndromu [cit. 15.2.2017]. Dostupné z <http://www.cims-ops.cz/>
- Češka R. Ateroskleróza. In: *Klener P (Ed.) Vnitřní lékařství.* 3.vydání, Praha: Galen 2006, s.874-876.
- Dallinga-Thie G, Kroon J, Borén J, Chapman MJ. Triglyceride-rich lipoproteins and remnants: targets for therapy? *Curr Cardiol Rep* 2016; **18**(7): 67.
- Desmons A, Jaisson S, Pietrement C, Rieu P, Wynckel A, Gillery P. Homocitrulline: a new marker for differentiationg acute from chronic renal failure. *Clin Chem Lab Med* 2016; **54**(1): 73-79.
- Dialyzační registr, ročenka 2015 [cit. 15.2.2017]. Dostupné z <http://www.nefrol.cz/odbornici/dialyzacni-statistika>
- Doi SAR, Abbas JMK, Parkinson L, Chakraborty J, Akanji AO. LDL species heterogeneity in the atherogenic dyslipidaemia of polycystic ovary syndrome. *Am J Clin Pathol* 2008; **129**: 802-810.
- Dodani S, Grice GD, Joshi S. Is HDL function as important as HDL quantity in the coronary artery disease risk assessment? *J Clin Lipidol* 2009; **3**(2): 70-77.
- Dušejevská M, Staňková B, Vecka M, Rychlíková J, Mokrejšová M, Rychlík I, Žák A. Lipids metabolism in patients with end-stage renal disease: a five year follow-up study. *Current Vascular Pharmacology* 2017; **10**: v tisku (doi: 10.2174/1570161115666 170530104143)
- El-Nahas EA, Bello AM. Chronic kidney disease: the global challenge. *Lancet* 2005; **365**(9456): 331–340.
- Epstein M, Vaziri ND: Statins in the management of dyslipidemia associated with chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol* 2012; **8**(4): 214-223.
- Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 1957; **226**(1): 497-509.
- Gaggini M, Saponaro C, Gastaldelli A. Not all fats are created equal: adipose vs. ectopic fat, implication in cardiometabolic diseases. *Horm Mol Biol Clin Investig* 2015; **22**(1): 7-18.

- Gazi I, Lourida ES, Filippatos T, Tsimihodimos V, Elisaf M, Tselepis AD. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity is a marker of small, dense LDL particles in human Plasma. *Clin Chem* 2005; **51**(12): 2264-2273.
- Gazi IF, Filippatos TD, Tsimihodimos V, Saougos VG, Liberopoulos EN, Mikhailidis DP, Tselepis AD, Elisaf M. The hypertriglyceridemic waist phenotype is a predictor of elevated levels of small, dense LDL cholesterol. *Lipids* 2006; 41(7): 647-654.
- GBD 2013 Mortality and Causes of Death collaborators. Global, regional, and national age–sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet* 2015; **385**: 117-171.
- Gluba-Brzózka A, Franczyk B, Banach M, Rysz-Górczyńska M. Do HDL and LDL subfractions play a role in atherosclerosis in end-stage renal disease (ESRD) patients? *Int Urol Nephrol* 2017b; **49**(1):155-164.
- Gluba-Brzózka A, Franczyk B, Bartnicki P, Rysz-Górczyńska M, Rysz J. Lipoprotein subfractions, uric acid and cardiovascular risk in end-stage renal disease (ESRD) patients. *Curr Vasc Pharmacol* 2017a; **15**(2): 1-12.
- Hahn, R. Oette K, Mondorf H, Finke K, Sieberth HG. Analysis of cardiovascular risk factors in chronic hemodialysis patients with special attention to the hyperlipoproteinemia. *Atherosclerosis* 1983; **48**(3): 279-288.
- 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.
- Harris WS, Jacobson TA. Omega-3 fatty acids. In: *Ballantyne CM (ed.) Clinical Lipidology: A Companion to Braunwald's Heart Disease*. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2009. s. 326-338.
- Havel RJ, Eder HA, Bragdon JH. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J Clin Invest* 1955; **34**(9): 1345–1353.
- Hegele RA, Ginsberg HN, Chapman MJ, Nordestgaard BG, Kuivenhoven JA, Averna M, Borén J, Bruckert E, Catapano AL, Descamps OS, Hovingh GK, Humphries SE, Kovanen PT, Masana L, Pajukanta P, Parhofer KG, Raal FJ, Ray KK, Santos RD, Stalenhoef AF, Stroes E, Taskinen MR, Tybjærg-Hansen A, Watts GF, Wiklund O; European Atherosclerosis Society Consensus Panel. The polygenic nature of hypertriglyceridaemia:

- implications for definition, Diagnosis, and management. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2014; **2**(8): 655-666.
- Heller G. Power calculations for preclinical studies using a K-sample rank test and the Lehmann alternative hypothesis. *Statist Med* 2006; **25**(5): 2543-2553.
- Hirano T, Yakusi I, Yoshino G. Measurement of small dense low-density lipoprotein particles. *J Atheroscler Tromb* 2005; **12**(2): 67-72.
- Hirowatari Y, Tsunoda Y, Ogura Y, Homma Y. Analyzing of high-density lipoprotein subfractions and low density lipoprotein subfractions in human serum with anion-exchange chromatography. *Atherosclerosis* 2009; **204**(2): E52-E57.
- Hoefner DM, Hodel SD, O'Brien JF, Branum EL, Sun D, Meissner I, McConnell JP. Development of a Rapid, Quantitative Method for LDL Subfractionation with Use of the Quantimetrix Lipoprint LDL System. *Clin Chem* 2001; **47**(2): 266-274.
- Hollenberg NK. Aldosterone in the development and progression of renal injury. *Kidney Int* 2004; **66**(1): 1-9.
- Chan DC, Barrett PH, Watts GF. Recent studies of lipoprotein kinetics in the metabolic syndrome and related disorders. *Curr Opin Lipidol* 2006a; **17**(1): 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* 2006b; **84**(1): 37-43.
- Chapman JM, Guerin M. CETP, a key player in atherogenic dyslipidemia of Type II diabetes. *Int Congress Series* 2004; **1262**: 503-506.
- 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**(11): 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**(2): 342-348.
- Jardine AG, Mark PB., Patel RK, Holdaas H, Folstrom B. Special patients populations: Chronic kidney disease. In: *Ballantyne CM (ed.) Clinical Lipidology: A Companion to Braunwald's Heart Disease. 2nd edition*, Philadelphia: Saunders Elsevier, 2015, s. 482-489

- Kalousová M, Sulková S, Fialová L, Soukupová J, Malbohan IM, Špaček P, Braun M, Mikulíková L, Fořtová M, Hořejší M, Tesař V, Zima T. Glycooxidation and inflammation in chronic hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2003a; **18**(12): 2577-2581.
- Kalousová M, Zima T, Tesař V, Sulková S, Fialová L. Relationship between advanced glycooxidation end products, inflammatory markers acute/phase reactants and some autoantibodies in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int Suppl* 2003b; **64**(Suppl 84): S62-64.
- Kalousová M, Zima T, Krane V, März W, Wanner C, Tesař V, Drechsler C; German Diabetes and Dialysis Study Investigators. Pregnancy-associated plasma protein A associates with cardiovascular events in diabetic hemodialysis patients. *Atherosclerosis* 2014; **236**(2): 263-269.
- Kalupahana NS, Claycombe KJ, Moustaid-Moussa N. (n-3) Fatty acids alleviate adipose tissue inflammation and insulin resistance: mechanistic insight. *Adv Nutr* 2011; **2**(4): 304-316.
- Kalupahana NS, Moustaid-Moussa N, Claycombe KJ. Immunity as a link between obesity and insulin resistance. *Mol Aspects Med* 2012; **33**(1): 26-34.
- Karastergiou K, Mohamed-Ali V. The autocrine and paracrine roles of adipokines. *Mol Cell Endocrinol* 2010; **318**(1-2): 69-78.
- Kodyčková J, Vávrová L, Zeman M, Jiráček R, Macásek J, Staňková B, Tvrzická E, Žák A. Antioxidative enzymes and increased oxidative stress in depressive women. *Clin Biochem* 2009; **42**(13-14): 1368-1374.
- Kraml P. *Hyperlipoproteinémie v klinické praxi*. Praha: Tigris 2008, 128 s.
- Krauss RM, Burke DJ. Identification of multiple subclasses of plasma low density lipoproteins in normal humans. *J Lipid Res* 1982; **23**(1): 97-104.
- Kulkarni KR. Cholesterol Profile Measurement by Vertical Auto Profile Method. *Clin Lab Med* 2006; **26**(4): 787-802.
- Kunešová M (ed.) *Základy obezitologie*, Praha: Galén, 2016. 172 s.
- Larifla L, Rambhajan C, Joannes M-O., Maimaitiming-Madani S, Donnet JP, Marianne-Pépin T, Chout R, Roussel R, Foucan L. Gene polymorphisms of FABP2, ADIPOQ and risk of hypertriglyceridemia and metabolic syndrome in Afro-Caribbeans. *PLoS One* 2016; **11**(9): e0163421
- Ledebo I, Blankestijn PJ. Haemodiafiltration – optimal efficiency and safety. *NDT Plus* 2010; **3**: 8-16.

- Levin A, Stevens PE, Bilous RW, Coresh J, De Francisco ALM, De Jong PE, Griffith KE, Hemmelgarn BR, Iseki K, Lamb EJ, Levey AS, Riella MC, Shlipak MG, Wang H, White CT, Winearls CG. Kidney disease: Improving global outcomes (KDIGO) CKD work group. KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int Supplements* 2013; **3**(1): 1-150.
- Lewis GF, Xiao C, Hegele RA. Hypertriglyceridemia in the genomic Era: A New Paradigm. *Endocr Rev* 2015, **36**(1): 131-147.
- Li JJ, Zhang Y, Li S Cui CJ, Zhu CG, Guo YL, Wu NQ, Xu RX, Liu G, Dong Q, Sun J. Large HDL Subfraction But Not HDL-C Is Closely Linked With Risk Factors, Coronary Severity and Outcomes in a Cohort of Nontreated Patients With Stable Coronary Artery Disease: A Prospective Observational Study. *Medicine (Baltimore)* 2016; **95**(4): e2600.
- Locatelli F, Buoncristiani U, Canaud B, Köhler H, Petittlerc T, Zucchelli P. Haemodialysis with on-line monitoring equipment: tools or toys? *Nephrol Dial Transplant* 2005; **20**(1): 22-33.
- Loh NY, Neville MJ, Marinou K, Hardcastle SA, Fielding BA, Duncan EL, McCarthy MI, Tobias JH, Gregson CL, Karpe F, Christodoulides C. LRP5 regulates human body fat distribution by modulating adipose progenitor biology in a dose- and depot-specific fashion. *Cell Metab* 2015; **21**(2): 262-72.
- Maduell F, Moreso F, Pons M, Ramos R, Mora-Macià J, Carreras J, Soler J, Torres F, Campistol JM, Martinez-Castelao A, ESHOL Study Group. ESHOL Study Group. High-efficiency postdilution online hemodiafiltration reduces all-cause mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2013; **24**(3): 487-497.
- Maisel AS, Katz N, Hillege HL, Shaw A, Zanco P, Bellomo R, Anand I, Anker SD, Aspromonte N, Bagshaw SM, Berl T, Bobek I, Cruz DN, Daliento L, Davenport A, Haapio M, House AA, Mankad S, McCullough P, Mebazaa A, Palazzuoli A, Ponikowski P, Ronco F, Sheinfeld G, Soni S, Vescovo G, Zamperetti N, Ronco C; Acute Dialysis Quality Initiative consensus group. Biomarkers in kidney and heart disease. *Nephrol Dial Transplant* 2011; **26**(1): 62-74.
- Mallol R, Amigó N, Rodríguez MA, Heras M, Vinaixa M, Plana N, Rock E, Ribalta J, Yanes O, Masana L, Correig X. Liposcale: a novel advanced lipoprotein test based on 2D diffusion-ordered 1H NMR spectroscopy. *J Lipid Res* 2015; **56**(3): 737-746.
- Martin SS, Jones SR, Toth PP. High-density lipoprotein subfractions: current views and clinical practice applications. *Trends Endocrinol Metab* 2014; **25**(7): 329-336.

- Masaratana P. Lipoprotein metabolism. [cit. 20.3.2017]. Dostupné z <http://slideplayer.com/slide/2071777/>
- McLeod RS, Yao Z. Assembly and Secretion of Triglyceride-rich Lipoproteins. In: *Ridgway ND, McLeod RS (Eds) Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*. 6. vydání, Amsterdam: Elsevier 2016, s. 459- 488.
- Merino DM, Ma DW, Mutch DM. Genetic variation in lipid desaturases and its impact on the development of human disease. *Lipids Health Dis* 2010; **9**: 63.
- Micallef MA, Munro IA, Garg ML. An inverse relationship between plasma n-3 fatty acids and C-reactive protein in healthy individuals. *Eur J Clin Nutr* 2009; **63**(9): 1154-1156.
- Miller M. High-density lipoprotein cholesterol and triglycerides in coronary heart disease assessment. In: *Ballantyne CM (ed.) Clinical Lipidology: A Companion to Braunwald's Heart Disease. 2nd edition*, Philadelphia: Saunders Elsevier, 2015, s. 100-108.
- Moreno-Gordaliza E, van der Lee SJ, Demirkan A, van Duijn CM, Kuiper J, Lindenburg PW, Hankemeier T. A novel method for serum lipoprotein profiling using high performance capillary isotachopheresis. *Anal Chim Acta* 2016; **944**: 57-69.
- Movva R, Rader DJ. Laboratory assessment of HDL heterogeneity and function. *Clin Chem* 2008; **54**(5): 788-800.
- Nakamura MT, Cheon Y, Li Y, Nara TY. Mechanisms of regulation of gene expression by fatty acids. *Lipids* 2004; **39**(11): 1077-1083.
- National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002; **39**(2 Suppl 1): S1-S266.
- Nishizawa Y, Shoji T, Kawagishi T, Morii H. Atherosclerosis in uremia: possible roles of hyperparathyroidism and intermediate density lipoprotein accumulation. *Kidney Int Suppl* 1997; **62**: S90-S92.
- 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, Tybjaerg-Hansen A; European Atherosclerosis Society Consensus Panel. Lipoprotein(a) as a cardiovascular risk factor: current status. *Eur Heart J* 2010; **31**(23): 2844-2853.
- Nordestgaard BG. Triglyceride-rich lipoproteins and atherosclerotic cardiovascular disease: New insight from epidemiology, genetics, and biology. *Circ Res* 2016; **118**(4): 547-563.

- Okazaki M, Yamashita S. Recent Advances in analytical Methods on Lipoprotein Subclasses: Calculation of Particle Numbers from Lipid Levels by Gel Permeation HPLC Using "Spherical Particle Model". *J Oleo Sci* 2016; **65**(4): 265-282.
- Oravec S, Dostal E, Gruber K: Lipoprotein Lp(a) in lipoprotein spectrum identified by Lipoprint LDL system. *Neuroendocrinol Lett* 2013; **34**(4): 309-313.
- Pacovský, V (Ed.) *Onemocnění ledvin*, Praha: Vnitřní lékařství, Avicenum 1986, 505 s.
- Pelikánova T. The metabolic syndrome. *Vnitr Lek* 2003; **49**(12): 900–906.
- Perušičová J (Ed). *Prediabetes, prehypertenze, dyslipidémie a metabolický syndrom*. Praha: Maxdorf Jesenius 2012, 316 s.
- Planet G. Comparison of creatinine clearance estimates with routine measured clearance. *Clin Biochem* 2007; **40**(1-2): 124-7.
- Pokharel Y, Negi S, Virani SS. Cholesterol: Concentration, ratio, and particle number. In: *Ballantyne CM (ed.) Clinical Lipidology: A Companion to Braunwald's Heart Disease. 2nd edition*, Philadelphia: Saunders Elsevier, 2015, s. 91-108.
- Popolo A, Autore A, Pinto A, Marzocco S. Oxidative stress in patients with cardiovascular diseases and chronic renal failure. *Free Radic Res* 2013; **47**(5): 346-356.
- 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**(4): 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.
- Rabe K, Lehrke M, Parhofer KG, Broedl UC. Adipokines and insulin resistance. *Mol Med* 2008; **14**(11-12): 741-751.
- Ramasamy I. Update on the molecular biology of dyslipidemias. *Clin Chim Acta* 2016; **454**: 143-185.
- Reiss AB, Voloshyna I, DeLeon J, Miyawaki N, Mattana J. Cholesterol metabolism in CKD. *Am J Kidney Dis* 2015; **66**(6): 1071 – 1082.
- Reyes-Soffer G, Ginsberg HN: Lipid and lipoprotein metabolism, hypolipidemic agents, and therapeutic goals. In: *DeFronzo RA, Ferrannini E, Zimmet P, Alberti GMM (Eds.) International Textbook of Diabetes Mellitus 4th edition*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd., 2015. s. 262-274.
- Rizzo M, Berneis K. Low-density lipoprotein size and cardiovascular risk assessment. *Q J Med* 2006; **99**: 1-14.

- Robinson JG, Stone NJ. Antiatherosclerotic and antithrombotic effects of omega-3 fatty acids. *Am J Cardiol* 2006; **98**(4A): 39i-49i.
- Rodriguez-Iturbe B, Pons H, Herrera-Acosta J, Johnson RJ. Role of immunocompetent cell in nonimmune renal diseases. *Kidney Int* 2001; **59**(5): 1626-1640.
- 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* 2017; **15**(2): 144-151.
- Rysz J, Gluba-Brzózka A, Banach M, Wiecek A. Should we use statins in all patients with chronic kidney disease without dialysis therapy? The current state of knowledge. *Int Urol Nephrol* 2015; **47**(5): 805–813.
- Ryšavá R. Chronická onemocnění ledvin – role nefrologa a praktického lékaře. *Med praxi* 2014; **11**(3): 106–108.
- Sahebkar A, Chew GT, Watts GF. Recent advances in pharmacotherapy for hypertriglyceridemia. *Prog Lip Res* 2014; **56**: 47-66.
- Sakurai T, Trirongjitmoah S, Nishibata Y, Namita T, Tsuji M, Hui S-P, Jin S, Shimizu K, Chiba H. Measurement of lipoprotein particle sizes using dynamic light scattering. *Ann Clin Biochem* 2010; **47**(Pt5): 476–481.
- Saland JM, Parekh RS. Chapter 11 – Dyslipidemia in Renal Disease. In: *Kwiterovich PO Jr (Ed). The Johns Hopkins textbook of dyslipidemia*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2010. s. 132-142.
- Saponaro C, Gaggini M, Gastaldelli A. Nonalcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes: common pathophysiological mechanisms. *Curr Diab Rep* 2015; **15**(6): 34.
- Sethi AA, Sampson M, Warnick R, Muniz N, Vaisman B, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A, Remaley AT. High pre-β1 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**(7): 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**(2): 110-121.
- Shinozaki K, Kambayashi J, Kawasaki T, Uemura Y, Sakon M, Shiba E, Shibuya T, Nakamura T, Mori T. The long-term effect of eicosapentaenoic acid on serum levels of lipoprotein (a) and lipids in patients with vascular disease. *J Atheroscler Thromb* 1996; **2**(2): 107-109.

- 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**(7): 1277-1284.
- Soran H, Younis NN, Charlton-Menys V, Durrington P. Variation of paraoxonase-1 activity and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 2009; **20**(4): 265-274.
- Sorensen GV, Svensson M, Strandhave C, Schmidt EB, Jørgensen KA, Christensen J. The effect of n-3 fatty acids on small dense low-density lipoproteins in patients with end-stage renal disease: a randomized placebo-controlled intervention study. *Ren Nutr* 2015; **25**(4): 376-380.
- Teplan V. *Metabolismus a ledviny*. Praha: Grada Publishing, 2000, 59 s.
- Toth PP. Triglyceride-rich lipoprotein as a causal factor for cardiovascular disease. *Vasc Health Risk Manag* 2016, **12**: 171-183.
- Trivedi HS, Pang MM, Campbell A, Saab P. Slowing the progression of chronic renal failure: economic benefits and patients' perspectives. *Am J Kidney Dis* 2002; **39**(4): 721–729.
- Tvrzická E, Vecka M, Staňková B, Žák A. Analysis of fatty acids in plasma lipoproteins by gas chromatography–flame ionization detection: Quantitative aspects. *Anal Chim Acta* 2002; **465**(1–2): 337-350.
- ÚZIS ČR 2016: Zdravotnická ročenka České republiky 2015, [cit. 15.2.2017]. Dostupné z <http://www.uzis.cz/node/7693>
- Vachek J, Zakiyanov O, Tesař V. Chronické onemocnění ledvin. *Interní Med* 2012; **14**(3): 107-110.
- van den Akker JM, Bredie SJ, Diepenveen SH, van Tits LJ, Stalenhoef AF, van Leusen R. Atorvastatin and simvastatin in patients on hemodialysis: effects on lipoproteins, C-reactive protein and in vivo oxidized LDL. *J Nephrol* 2003; **16**(2): 238-244.
- 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**(2): 265-268.
- Vaziri ND: HDL abnormalities in nephrotic syndrome and chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol* 2016; **12**(1): 37-47.
- Vecka M, Dušejovská M, Staňková B, Vávrová L, Kodydková J, Slabý A, Žák A. N-3 polyunsaturated fatty acids in the treatment of atherogenic dyslipidemia. *Neuroendocrinol Lett* 2012; **33**(Suppl 2): 87-92.
- Vecka M. Lipoproteins. [cit. 20.3.2017]. Dostupné z <http://ulbld.lf1.cuni.cz/en/lecture-presentations-and-hand-outs-generalmedicine2r>

- 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): 635-641.
- Viklický O. Chronické selhání ledvin a uremický syndrom. In: *Tesař V (Ed.). Klinická nefrologie*. Praha: Grada, 2006. 477 s.
- Yeo Y, Byun SW, Lee JY, Min W-K, Park JS, Bae KS. Lack of association between small dense low-density lipoprotein levels and coronary artery diseases in chronic hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 2009; **30**(3): 310-314.
- 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**(6): 379-384.
- Zhang L, Tong M, Garewal M, Ren G. Optimized negative-staining electron microscopy for lipoprotein studies. *Bioch Biophys Acta* 2013; **1830**(1): 2150–2159.
- Žák A, Tvrzická E, Vecka M, Jáchymová M, Duffková L, Staňková B, Vávrová L, Kodydková J, Zeman M. Severity of metabolic syndrome unfavorably influences oxidative stress and fatty acid metabolism in men. *Tohoku J Exp Med* 2007; **212**(4): 359-371.
- Žák A, Jáchymová M, Tvrzická E, Vecka M, Duffková L, Zeman M, Slabý A, Staňková B. The influence of polymorphisms of -493G/T MTP promoter and metabolic syndrome on lipids, fatty acids and oxidative stress. *J Nutr Biochem* 2008a; **19**(9): 634-641.
- Žák A, Slabý A. Aterogenní dyslipidémie a metabolický syndrom: patofyziologické mechanismy. *Čas Lék čes* 2008b; **147**: 459-470.
- Žák A, Slabý A. Ke koncepci metabolického syndromu. *Čas Lék čes* 2009; **148**: 536-543.
- Žák A, Zeman M Sekundární dyslipidémie (dyslipoproteinémie). In: *Svačina Š (Ed.). Poruchy metabolismu a výživy*. Praha: Galén 2010, s.147-176.
- Žák A, Zeman M, Tvrzická E, Vecka N, Slabý A. Metabolický syndrom: novější aspekty etiopatogeneze. In: *Žák A (Ed.) Ateroskleróza. Nové pohledy*. Praha: Grada 2011, s. 83-92.
- Žák A. Obezita a poruchy lipidového metabolismu. In: *Kunešová M (Ed.) Základy obezitologie* Praha: Galén 2016, s. 31-47.

10 PŘÍLOHY

Příloha 1

Vecka M, **Dušejská 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 = 0.932

Příloha 2

Dušejská M, Staňková B, Vecka M, Rychlíková J, Mokrejšová M, Rychlík I, Žák A. Lipids metabolism in patients with end-stage renal disease: a five year follow-up study. *Current Vascular Pharmacology* 2017, v tisku; IF=2,374 (doi: 10.2174/1570161115666170530104143)

11 SEZNAM PUBLIKACÍ

1. Publikace in extenso, které jsou podkladem dizertace

a) s IF

Vecka M, **Dušejevská 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 = 0.932

Dušejevská M, Staňková B, Vecka M, Rychlíková J, Mokrejšová M, Rychlík I, Žák A. Lipids metabolism in patients with end-stage renal disease: a five year follow-up study. *Current Vascular Pharmacology* 2017, v tisku; IF=2,374 (doi: 10.2174/1570161115666170530104143)

2. Publikace in extenso bez vztahu k tématu dizertace

a) s IF

Vávrová L, Kodydková J, Zeman M, **Dušejevská 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

Dušejevská 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, **Dušejevská M**. Metabolický syndrom a deprese - klinické vztahy. *Časopis lékařů českých* 147(2), 2008, 75-80.

SEZNAM ZKRATEK

ABCA1	ATP-dependentní kazetový transportér A1 (ATP-binding cassette transporter A1)
ABCG1	ATP-dependentní kazetový transportér G1 (ATP-binding cassette transporter G1)
ACE	acetylcholin esteráza
ADL	aterogenní dyslipidémie
AIP	aterogenní index plazmy
AKI	akutní renální selhání (acute kidney injury)
ALP	alkalická fosfatáza
ALT	alaninaminotransferáza
Apo	apolipoprotein
AST	aspartátaminotransferáza
AVF	arteriovenózní fistula
BMI	index tělesné hmotnosti (body mass index)
CAT	kataláza
CD	konjugované dieny (conjugated dienes)
CHOD	cholesterol oxidáza (cholesterol oxidase)
CE	estery cholesterolu (cholesterol esters)
CETP	protein transportující estery cholesterolu (cholesterol ester transfer protein)
CKD	chronické onemocnění ledvin (chronic kidney diseases)
CM	chylomikrony
CRF	chronické renální selhání (chronic renal failure)
CRP	C-reaktivní protein
CVD	kardiovaskulární onemocnění (cardiovascular disease)
DHA	kyselina dokosahexaenová (docosahexaenoic acid)
DGE	diskontinuální gelová elektroforéza
DLS	dynamický rozptyl světla (dynamic light scattering)
DM	diabetes mellitus
DM 2T	diabetes mellitus 2. typu
DLP	dyslipidémie
ECLIA	elektroluminiscenční imunoanalýza (electrochemiluminescence immunoassay)
EDTA	ethylendiamintetraoctová kyselina
eGFR	odhad glomerulární filtrace (estimated glomerular filtration rate)
EM	elektronová mikroskopie
EPA	kyselina eikosapentaenová (eicosapentaenoic acid)
ESRD	terminální renální selhání (end-stage renal disease)
FA	mastná (-é) kyselina (-y) (fatty acids)
FADS	desaturázy mastných kyselin (fatty acids desaturases)
FC	volný cholesterol (free cholesterol)

GF	glomerulární filtrace
GGE	diskontinuální (segmentovaná) gradientová gelová elektroforéza (gradient gel electrophoresis)
GMT	γ -glutamyl transferáza
GP	gelově permeační
GPO	glycerol-3-fosfát oxidáza (glycerol-3-phosphate oxidase)
GPx	glutathion peroxidáza
GR	glutathion reduktáza
HD	hemodialýza
HDF	hemodiafiltrace
HDL	lipoproteiny o vysoké hustotě (high density lipoproteins)
HDL-C	cholesterol obsažený v HDL
HNF	játerní jaderný transkripční faktor (hepatic nuclear transcriptional factor)
HL	játerní lipáza (hepatic lipase)
HOMA	homeostatic model assessment
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie (high performance liquid chromatography)
hs	s vysokoou citlivostí (high sensitive)
HTAG	hypertriacylglycerolémie
HV-HDF	vysokoobjemová HDF (high volume)
IDL	lipoproteiny o střední hustotě (intermediary density lipoprotein)
IE	iontově výměnná
ICHS	ischemická choroba srdeční
IL	interleukin
IMT	tloušťka intima/medie (intima-media thickness)
IR	inzulínová rezistence
ITP	izotachoforéza (isotachopheresis)
KON	kontrolní skupina
LCAT	lecitin:cholesterol acyltransferáza
LDL	lipoproteiny o nízké hustotě (low density lipoproteins)
LDL-C	LDL-cholesterol
LP	lipoprotein (-y)
Lp(a)	lipoprotein(a)
LPL	lipoproteinová lipáza
LRP	LDL- receptor (LDL - receptor related protein)
LXR	játerní X-receptory (liver x receptors)
MS	metabolický syndrom
MUFA	mononenasyčené mastné kyseliny (monounsaturated fatty acids)
NAFLD	nealkoholová steatóza (non-alcoholic fatty liver disease)
NEFA	neesterifikované mastné kyseliny (non-esterified fatty acids)

NMR	nukleární magnetická rezonance
OCM	on-line měření clearance (on-line clearance monitoring)
PAP	fenol + aminofenazon (phenol + aminophenazone)
PD	peritoneální dialýza
PL	fosfolipidy (phospholipids)
PPAR	receptory aktivované peroxizomovými proliferátory (peroxisome proliferator activated receptor)
PON	paraaxonáza
PUFA	polynenasycené mastné kyseliny (polyunsaturated fatty acids)
RCT	reverzní transport cholesterolu (reverse cholesterol transport)
RF	rizikový faktor
RONS	reaktivní formy kyslíku a dusíku (reactive oxygen and nitrogen species)
RPM	otáčky za minutu (revolution per minute)
RRT	náhrada funkce ledvin (renal replacement therapy)
SD	směrodatná odchylka (standard deviation)
SFA	nasycené mastné kyseliny (saturated fatty acids)
sdLDL	malé denzní LDL (small dense LDL)
SR-B1	zametací receptor třídy B1 (scavenger receptor class B1)
SREBP	protein vázající sterolový regulační element (sterol regulatory element binding protein)
TAG	triacylglyceroly
TC	celkový cholesterol (total cholesterol)
TGE	gelová elektroforéza v trubičkách (tube gel electrophoresis)
TK	krevní tlak
TNF α	tumor nekrotizující faktor α (tumour necrosis factor α)
TRL	lipoproteiny bohaté na TAG (triglyceride rich lipoproteins)
UC	ultracentrifugace
UV	ultrafialové (ultraviolet)
VAP	vertikální jednostupňová gradientová ultracentrifugace (vertical auto profile)
VLDL	lipoproteiny o velmi nízké hustotě (very low density lipoproteins)