

**Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové**



Role cholesterolu, prekursorů jeho biosyntézy a oxidačních produktů u klinicky závažných stavů

Pavel Vyroubal

Autoreferát disertační práce

Doktorský studijní program: vnitřní nemoci

Hradec Králové

2011

Disertační práce byla vypracována v rámci kombinovaného studia doktorského studijního programu vnitřní nemoci na Katedře interních oborů Lékařské fakulty UK v Hradci Králové.

Autor: MUDr. Pavel Vyroubal
Gerontologická a metabolická klinika
Lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Hradci Králové
Fakultní nemocnice Hradec Králové

Školitel: Prof. MUDr. Zdeněk Zadák, CSc.
Gerontologická a metabolická klinika
Centrum pro vývoj a výzkum
Lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Hradci Králové
Fakultní nemocnice Hradec Králové

Oponenti: Prof. MUDr. Martin Matějovič, Ph.D.
Lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Plzni
Interní klinika Fakultní nemocnice Plzeň

Prof. MUDr. Petr Dítě, DrSc.
Lékařská fakulta Masarykovy Univerzity Brno
Interní gastroenterologická klinika
Fakultní nemocnice Brno

Termín a místo obhajoby disertační práce: Hradec Králové

Tato práce vznikla za podpory grantu Interní grantové agentury Ministerstva zdravotnictví České republiky NR 8921-3

S disertační prací je možno se seznámit na studijním oddělení děkanátu Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy v Praze, Šimkova 870, 500 38 Hradec Králové (tel. 495 816 131).

.....
Jméno, příjmení, tituly

Předseda komise pro obhajoby disertačních prací
v doktorském studijním programu vnitřní nemoci

OBSAH

1. Souhrn	str. 4
2. Summary	str. 5
3. Úvod do problematiky	str. 6
4. Cíl disertační práce	str. 10
5. Materiál a metody	str. 10
5.1 Charakteristika souboru	str. 10
5.2 Vylučující kritéria	str. 11
5.3 Odběrový protokol	str. 11
5.4 Použité analytické metody	str. 12
5.5 Statistika	str. 13
6. Výsledky	str. 13
6.1 Skupina kardiochirurgická	str. 14
6.2 Skupina polytraumata	str. 16
7. Diskuse	str. 18
8. Závěr	str. 25
9. Seznam literatury	str. 26
10. Seznam publikační a přednáškové aktivity	str. 31

1. SOUHRN

Cíl studie: Cílem předkládané práce byla snaha o objasnění role a významu hypocholesterolemie vznikající u nemocných v klinicky závažných stavech. Jedná se o monocentrickou, prospektivní klinickou studii.

Materiál a metody: Do studie byly zařazeny dvě skupiny nemocných – jedna skupina pacientů s kardiovaskulárním onemocněním, u kterých byla plánována revaskularizační operace bez použití mimotělního oběhu (n=22) a druhá skupina nemocných, kteří utrpěli polytrauma (n=31). Celkem bylo do studie zařazeno 53 nemocných. Mimo standardní biochemická vyšetření (celkový cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, triglyceridy, C-reaktivní protein, total protein, albumin, prealbumin) bylo provedeno stanovení sterolů (β -sitosterol, campesterol, lathosterol, skvalen), interleukinu IL-6, inzulinu, C peptidu, kortizolu. Byl proveden ACTH test a dále stanovení funkční zdatnosti granulocytů pomocí testu oxidativního vzplanutí granulocytů. Odběry byly provedeny v den přijetí, první, čtvrtý a osmý den po výkonu či úrazu.

Výsledky: Ve sledovaných skupinách došlo k statisticky významnému poklesu plasmatických hladin celkového cholesterolu (TC) a LDL cholesterolu s úpravou do výchozích hodnot v průběhu sledovaného období. Společně s poklesem celkového cholesterolu byl zaznamenán pokles v oblasti jeho syntézy cholesterolu (lathosterol a poměr lathosterol/cholesterol). Byla pozorována vysoce signifikantní negativní korelace mezi IL-6 a celkovým cholesterolem. Ve studii nebyla zjištěna porucha funkce nadledvin. V závislosti na hladině cholesterolu byla prokázána statisticky významná porucha baktericidie leukocytů pomocí stimulovaného testu oxidativního vzplanutí granulocytů.

Závěr: U nemocných v akutních stavech dochází k poklesu endogenní syntézy cholesterolu. Míra syntézy cholesterolu negativně koreluje s plasmatickou hladinou IL-6. Intenzita endogenní syntézy cholesterolu je závislá na tíži onemocnění. Míra endogenní syntézy cholesterolu pozitivně koreluje s baktericidní schopností granulocytů.

Klíčová slova: hypocholesterolemie, hypolipoproteinemie, SIRS, cytokiny, revaskularizace

2. SUMMARY

The role of cholesterol, its precursors and oxidative products in clinically serious conditions

Objective: The aim of the study was to elucidate the role and importance of hypocholesterolemia in clinically serious conditions. It was a monocentric, prospective clinical study.

Material and Methods: Two groups of patients were recruited into the study – one group consisted of patients with coronary heart disease (CHD), who underwent miniinvasive cardiosurgical operation without extracorporeal circulation (n=22) and the other group of patients, who sustained polytrauma (n=31). Fifty three patients were recruited into the study. We performed the determination of sterols (total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, triacylglycerols) and their precursors (β -sitosterol, campesterol, lathosterol, skvalen), interleukin IL-6, insulin, C-peptid and cortisol in the blood serum. The short version of ACTH stimulation test was performed. The oxidative burst of granulocytes was evaluated. The blood samples were taken on the day of admission, the first, the fourth and the eighth post-operative and post-traumatic day.

Results: There was a significant early decline of total cholesterol (TC) and LDL cholesterol level followed by full recovery during observed period. There was a decline of cholesterol synthesis (lathosterol and lathosterol/cholesterol ratio) together with a decline of total cholesterol level. There was a significantly negative correlation between IL-6 level and total cholesterol. There was no confirmation of disturbance of adrenal function. There was a significant breakdown of bactericidal function of granulocytes along with a decline of cholesterol level.

Conclusion: There was a decline of endogenous cholesterol synthesis in clinically serious conditions. The cholesterol synthesis rate was in negative correlation with IL-6 level. The rate of endogenous cholesterol synthesis was dependent on severity of illness. The rate of endogenous cholesterol synthesis positively correlated with bactericidal function of granulocytes.

Key words: hypocholesterolemia, hypolipoproteinemia, SIRS, cytokine, cardiosurgery

3. ÚVOD DO PROBLEMATIKY

Cholesterol je esenciální komponentou prakticky všech fosfolipidových membrán lidského organismu. Jeho snížená dostupnost může vést k narušení reparačních procesů poškozených buněčných membrán, funkčním poruchám receptorů a buněčných kanálů. Cholesterol je zcela nezbytný pro zachování fluidity membrán, její sterické a chemické struktury a v neposlední řadě zachování její permeability. Kromě toho je cholesterol strukturální komponentou lipoproteinů a prekurzorem steroidních hormonů (glukokortikoidy, mineralokortikoidy, pohlavní hormony) a žlučových kyselin. Původ cholesterolu v organismu je dvojitý. Jednak z vnějšího prostředí vstřebáním ze zažívacího traktu a jednak je syntetizován de novo z acetyl CoA.

Absorbce cholesterolu je komplexní proces probíhající v tenkém střevě, který je zprostředkovaný specifickými přenašeči kartáčového lemu enterocytů v jejunu. Rozhodujícím transporterem pro cholesterol je Niemann-Pick C1 like 1 protein – NPC1L1 [1], který je přítomen v kartáčovém lemu enterocytů.

Syntéza cholesterolu za fyziologických okolností několikanásobně převyšuje absorpci cholesterolu z potravy. Cholesterol vytvářený pro plasmatické lipoproteiny je syntetizován de novo v játrech a v distální části tenkého střeva [2]. Klíčovým regulačním enzymem je 3-hydroxy-3-methylglutaryl koenzym A reduktáza (HMG CoA-reduktáza). Tento enzym je komplexně hormonálně regulován prostřednictvím fosforylace/defosforylace (zprostředkováno hormonem senzitivním cyklickým adenosinmonofosfátem - cAMP). Inzulin a hormony štítné žlázy jeho aktivitu zvyšují, glukagon a glukokortikoidy naopak jeho aktivitu snižují. Kompletní biosyntéza cholesterolu je velice komplikovaný děj čítající kolem 200 enzymatických reakcí. Cholesterolová syntéza se uskutečňuje mimo mitochondrie v cytoplasmě (až do skvalenu - uhlovodíkový prekurzor) a endoplasmatickém retikulu (cyklisace skvalenu a následující kroky cholesterolu). Maximální syntéza cholesterolu u zdravých lidí bývá v rozmezí 500 – 1000 mg/den.

Stabilní hladiny cholesterolu v lidském těle a plasmě jsou za fyziologických podmínek udržovány díky důmyslnému systému regulace jeho syntézy v buňce a jeho vstupu do buňky z plasmy. Zpětnovazebná inhibice HMG-CoA reduktázy, genová exprese a rychlost její enzymatické degradace souvisí s intracelulárním obsahem sterolů. V celém zmíněném procesu regulace cholesterolu sehrávají klíčovou roli regulační proteiny endoplasmatického retikula SREBP (sterol regulatory element binding protein) a CSAP (SREBP cleavage activating protein) [3]. Existuje několik forem SREBP, forma 1 a 2. SREBP-1 je exprimovaný v játrech a tukové tkáni a jeho aktivita je regulována inzulinem. Aktivace SREBP-2 je regulována hladinou cholesterolu v buňce. Aktivace SREBP-2 při poklesu cytosolové koncentrace cholesterolu vede ke zvýšení exprese genu LDL-receptoru (ligandem jsou apoproteiny B-100 a E) a tvorbě enzymů nezbytných pro syntézu cholesterolu.

Nejvýznamnější vylučovací cestou cholesterolu z těla je tvorba žluči. Za jeden den tak může být odstraněno asi 500 mg cholesterolu, zbytek cholesterolu (přibližně stejné množství) je odstraněn cestou neutrálních steroidů.

Jako necholesterolové steroly jsou označovány prekurzory biosyntézy cholesterolu a rostlinné steroly (fytoosteroly). Prekurzory cholesterolu (lanosterol, 7-dehydrocholesterol, lathosterol), které jsou stanovovány v plasmě, jsou považovány za indikátory syntézy cholesterolu. Tyto prekurzory cholesterolu jsou uvolňovány z buněk v neesterifikované (volné) podobě a jejich uvolňování je proporcionální k rychlosti, s jakou dochází k jejich tvorbě v biosyntetické cestě cholesterolu. Pouze neesterifikované formy methylsteroidů jsou

považovány za markery reflektující syntézu cholesterolu, neboť k jejich esterifikaci dochází pouze v játrech cestou acyl cholesterol acyltransferázy (ACAT) a ne v plasmě cestou lecitin cholesterol acyltransferázy (LCAT) [4]. Inhibice biosyntézy cholesterolu je spojena s výskytem prekursorů sterolů v plasmě, zatímco inhibice cholesterolové konverze do žlučových kyselin je spojena s výskytem oxidovaných intermediálních produktů cholesterolu v plasmě.

Lathosterol (5α - 3β -cholest-7-en-3-ol) je v současné době nejuznávanějším markerem endogenní syntézy cholesterolu. Jeho poměr k cholesterolu (lathosterol/cholesterol) je stabilní ve VLDL, IDL, HDL i LDL lipoproteinech a je považován za nejpřesnější marker syntézy cholesterolu rovněž vzhledem ke své jednoduché kvantifikaci.

V lidské plasmě jsou přítomny také rostlinné steroly, které se nazývají fytosteroly. Fytosteroly, podobně jako cholesterol v živočišných buňkách, tvoří základní stavební kámen rostlinné buněčné stěny [5]. Svoji chemickou strukturou jsou podobné cholesterolu, odlišují se však strukturou postranního řetězce. V plasmě jsou detekovány v malém množství (< 1 mg/dL) [6] a jejich přítomnost reflektuje jejich absorpci z diety [7]. Stanovení hladin některých fytosterolů je využíváno ke kvantifikaci absorpce cholesterolu z potravy.

Stále není zcela jasné, jaká je normální hladina cholesterolu u zdravého člověka. Zdá se, že tato hodnota bude závislá na více činitelích, jako na etnické skupině, věku, geografické oblasti apod. U primitivních lidských populací, izolovaných od civilizovaného světa, se pohybuje koncentrace celkového cholesterolu v plasmě kolem 3,0 – 4,0 mmol/L [8].

Zcela odlišná situace však nastává v okamžiku, je-li organismus vystaven stresové zátěži. V minulosti bylo doloženo u řady závažných onemocnění, že v průběhu zvýšené zátěže organismu dochází k poklesu plasmatické hladiny cholesterolu [9-10]. Ukazuje se, že hypocholesterolemie je důležitým prognostickým ukazatelem zvýšené morbidity a mortality [11]. V situaci stresové zátěže organismu lze předpokládat zvýšené nároky na přísun lipidů obecně (cholesterolu, triacylglycerolů, fosfolipidů) a to jak z pohledu reparativních buněčných procesů, tak z pohledu produkce hormonů, cytokinů a jiných působků a v neposlední řadě i z pohledu potřeby nutričního substrátu.

Doposud však není detailně známo, jakými mechanismy dochází k poklesu plasmatické hladiny cholesterolu. Také otázka zda nízká hladina cholesterolu je pouze epifenomenem závažných stavů nebo sehrává aktivní roli ve vývoji onemocnění nebyla doposud přesvědčivě zodpovězena. K pochopení mechanismu změny hladin plasmatických lipidů je zapotřebí porozumět jejich metabolické cestě v organismu a také porozumět jejich funkci v organismu.

Podle výsledků studia života primátů a volně žijících populací (od civilizace izolované volně žijící lidské kmeny) je odhadována jako optimální plasmatická koncentrace celkového cholesterolu v rozmezí mezi 3,0 a 4,0 mmol/l a tomu odpovídající rozmezí LDL cholesterolu pod 1,8 mmol/l [8]. Není však zcela zřejmé, kde je v klinicky závažných stavech kritická hladina cholesterolu, pod kterou dochází k projevům jeho deficitu. Z řady prací vyplývá, že tato hranice je mezi 2,6 až 3,5 mmol/l celkového cholesterolu [12,13]. Nicméně literárně se jako hypocholesterolemie označuje stav, kdy sérová koncentrace celkového cholesterolu klesá pod 3,5 mmol/L.

Na vzniku hypocholesterolemie v klinicky závažných stavech se může podílet řada faktorů. V zásadě lze říci, že k rozvoji hypocholesterolemie u klinicky závažných stavů dochází v důsledku narušení rovnováhy mezi příjmem a syntézou cholesterolu (resp. nedostatečné schopnosti navýšit syntézu dle aktuálních potřeb organismu) na straně jedné a katabolismem cholesterolu na straně druhé.

Jednak je to zvýšená spotřeba cholesterolu, která je vyvolána reparačními procesy spojenými s rychlým buněčným dělením a tím také zvýšenou spotřebou cholesterolu. Za patologických procesů spojených s tvorbou hnisu dochází k enormním ztrátám cholesterolu,

který odchází z organismu ve formě rozpadlých bílých krvinek a tento cholesterol nemůže být ani reutilizován. Zvýšená spotřeba cholesterolu, vznikající při dělení buněk a v reparačních procesech poškozených buněčných membrán, může být podle experimentů 5 až 6x vyšší, než jsou možnosti maximální endogenní syntézy cholesterolu [14].

V důsledku zánětu nebo operačního traumatu dochází k uniformní cytokinové reakci organismu, která se nazývá SIRS (systemic inflammatory response syndrom). Přibývá důkazů, že zánětlivé cytokiny mohou ovlivňovat syntézu cholesterolu. Zánětlivé cytokiny jsou schopny up-regulace aktivity LDL receptorů a jsou schopny zvýšit periferní up-take cholesterolu [17]. Interleukin IL-6 stimuluje in vivo jaterní lipogenezi [18] cestou vzestupu aktivity lipogenetického enzymu acetyl-CoA karboxylázy a syntetasy mastných kyselin. Nicméně efekt cytokinů na lipoproteinový metabolismus je komplexní a všechny mechanismy vedoucí k poklesu koncentrace cholesterolu a jeho dostupnosti v plasmě nejsou do detailu prostudovány.

Na opačném konci příčin hypocholesterolemie je snížení přísunu cholesterolu. Pacienti v kritickém stavu nepřijímají perorální stravu, čímž dochází k omezení externího zdroje cholesterolu. Jedinou možností nutriční podpory těchto nemocných poté zůstává parenterální či enterální výživa. Pouze některé tukové emulze používané k parenterální výživě však obsahují stopové množství cholesterolu, což nepochybně nestačí pokrýt ani zlomek potřeby organismu kriticky nemocných. Nicméně existují práce které dokazují, že adekvátní přísun arteficiální nutriční podpory vede ke zvýšení hladin cholesterolu. Pravděpodobně se jedná o efekt indukce syntézy cholesterolu dostatečným přísunem energetického substrátu [19]. Obdobně byl dokumentován také příznivý vliv aplikované enterální výživy (byť také bezcholesterolové) na vzestup HDL cholesterolu u kriticky nemocných [20].

Hypocholesterolemie je také běžným jevem u nemocných s popáleninami. Je způsobena vlivem zánětlivých cytokinů na metabolismus cholesterolu, hemodilucí a současnými ztrátami apoproteinů rannými plochami [21].

Hypocholesterolemie má také vztah k poklesu některých plasmatických bílkovin. [22-23]. Tento vztah může být vysvětlen současně na cholesterol a na další proměnné působícím uvolněním mediátorů akutní fáze a cytokinů a narušením jaterní syntézy nebo nedostatkem substrátu. Je velmi dobře známý vztah mezi hypocholesterolemií a podvýživou. Experimentálně byla navozena hypocholesterolemie nízkobílkovinou dietou [24] a naopak byla zmírněna parenterální suplementací aminokyselin (AMK), zejména AMK s rozvětveným řetězcem [23,25].

Hypocholesterolemie je často pozorována u starších nemocných, a to dokonce za nepřítomnosti klinicky zjevné choroby. Může být způsobená různými kombinacemi malnutrice, funkčního zhoršení stavu, infekčních chorob, perzistující imunitní aktivací, chronickými a nádorovými chorobami a je považována za ukazatel lability, rizika neaterosklerotické nemoci a prediktor krátkého přežití [22, 26].

Pokles cholesterolu u klinicky závažných stavů bývá spojen se ztrátou krve a z toho rezultující anemií [27]. Ukazuje se, že v souvislosti s anemií může docházet k výměně cholesterolu mezi plasmou a membránou červených krvinek nebo mezi extravaskulárním a intravaskulárním prostorem.

Plasmatické hladiny cholesterolu mohou být ovlivněny i terapeutickými zásahy. Zcela klasickou situací je aplikace hypolipidemik, které ovlivňují aktivitu klíčového enzymu HMG CoA-reduktázy. Pokud je v terapii nemocného použit heparin, dochází k mobilitaci jaterní lipázy a lipoproteinové lipázy s jejich uvolněním z cévního endotelu do plasmy. Zároveň může docházet ke vzestupu internalizace LDL a VLDL lipoproteinů, který je následován poklesem v hladině sérového cholesterolu [28]. Navíc u klinicky závažných stavů, provázených hypoperfuzí orgánů dochází k redistribuci krevního toku ze splanchnické oblasti,

poškození jaterního parenchymu a k propadu v hladinách lipoproteinů narušením jejich syntézy a narušením produkce apoproteinů [29].

Hypocholesterolemie v akutních stavech bývá provázena změnou v hladinách triacylglycerolů (TAG). Kupodivu se v literatuře vyskytují informace jak o vzestupu hladin TAG [30] tak o poklesu hladin TAG [31]. Změny v hladinách TAG mají nepochybně souvislost se změnou hormonálního nastavení organismu v rámci stresové reakce a s vyplavením cytokinové kaskády v rámci univerzální SIRS reakce. Ve stresu dochází k aktivaci hormon senzitivní lipázy (HSL) jejímž působením dochází k mobilizaci volných mastných kyselin z tukové tkáně do krevního oběhu. Vlivem cytokinů (IL-1, IL – 6 a TNF- α) a vznikající inzulínové rezistence dochází k přeměrování metabolismu mastných kyselin, vzestupu malonyl CoA a inhibici karnitin-acyltransferázy I, která je nezbytná pro vstup vyšších mastných kyselin do mitochondrií [32]. Část mastných kyselin je reesterifikována za vzniku TAG, které jsou uvolňovány do krevního oběhu ve formě lipoproteinů, především VLDL [33]. Na vzestupu TAG v plasmě se může navíc spolupodílet inhibiční vliv prozánětlivých cytokinů na lipoproteinovou lipázu (LPL) [34].

Důležitým klinickým zjištěním je fakt, že u nemocných s hypocholesterolemií dochází ke zvyšování cholesterolu současně s všeobecným zlepšením klinického stavu, takže opakovaná stanovení cholesterolu poskytují informace o vývoji nemoci resp. o úzdravě [12-13,35].

Ukazuje se, že lipidy mohou sehrávat důležitou roli v reakci organismu na zánět. Obzvláště důležitá je jejich role v neutralizaci endotoxinů a bakteriálních lipopolysacharidů [37]. V experimentu na zdravých dobrovolnících došlo po aplikaci jedné intravenózní dávky endotoxinu k vyplavení cytokinů a stresových hormonů, zároveň byly pozorovány změny v metabolismu lipidů včetně poklesu hladin HDL [38]. A právě endotoxin se může vázat i s lipoproteinem HDL a je pak při vstupu do buňky neutralizován [39], čímž dochází k redukci intenzity uvolňovaných zánětlivých mediátorů [40]. Vazba LPS na lipoproteiny usnadňuje dodání LPS do hepatocytů k detoxikaci [37]. Aplikace rekonstituovaného HDL v experimentu na zvířecím modelu snížila produkci TNF- α po podání LPS [41]. Podobné výsledky byly i v humánních experimentech sledujících protizánětlivý efekt a vybrané koagulační parametry [42]. Není však doposud známo, zda výše zmíněné pozitivní efekty rekonstituovaného HDL povedou ke zlepšení prognózy nemocných a snížení mortality.

Cholesterol je základním stavebním kamenem v tvorbě stresových hormonů (kortizolu). Steroidní hormony jsou skladovány v místech své produkce (kůra nadledvin) pouze v malém množství, tzn. že při vzniku potřeby musí být nejprve syntetizovány ze zásob cholesterolu v organismu. Během stresu je cholesterol z 80% dominantním donorem substrátu pro tvorbu kortizolu, zbývajících 20% je syntetizováno in situ z acetátu a ostatních prekurzorů [43]. Nadledvinková insuficience byla pozorována až u 61% nemocných se septickým šokem [44-45]. HDL je preferovaným cholesterolovým zdrojem steroidogenního substrátu v nadledvinkách [46]. Předpokládá se, že pokles substrátu pro syntézu kortizolu by mohl vést k rozvoji nadledvinkové insuficience

4. CÍL DISERTAČNÍ PRÁCE

1. sledovat trend vývoje závažných hypocholesterolemií v závislosti na charakteru metabolismu cholesterolu rozdílných skupin pacientů v akutních stavech
2. sledovat trend hypocholesterolemie u nemocných s a bez konkomitantní terapie ovlivňující jeho metabolismus
3. ozřejmit vztah předpokládané hypocholesterolemie na funkci nadledvin ve smyslu syntézy stresových hormonů (kortizolu)
4. ozřejmit vztah předpokládané hypocholesterolemie na baktericidní funkci granulocytů

5. SOUBOR A METODA

5.1 Charakteristika souboru

Jedná se o monocentrickou prospektivní studii, do které bylo celkem zařazeno 53 konsekutivně přicházejících pacientů a sledovány byly dvě předem vybrané skupiny nemocných. První skupinu tvořili pacienti s koronární aterosklerózou, kteří podstoupili miniinvazivní revaskularizační kardiologický výkon bez použití mimotělního oběhu. Stresovou zátěž představoval jednorázový chirurgický výkon, u kterého bylo možné jasně stanovit začátek. Stres byl dostatečně veliký a bylo možné předpokládat, že byl pro všechny pacienty stejně definovaný. Celkem bylo zařazeno 22 kardiologických nemocných, kteří byli po celou dobu studie hospitalizováni. Druhou skupinu tvořilo 31 pacientů, kteří utrpěli polytrauma v rámci dopravní nehody. Také zde bylo možné přesně stanovit začátek stresové zátěže. Stres byl dostatečně veliký (v této skupině bylo kromě APACHE skóre stanoveno i NISS skóre - New Injury Severity Score). Skupina polytraumat byla tedy dostatečně homogenní z hlediska velikosti stresové zátěže.

Pacienti byli hospitalizováni na JIP Kardiologické kliniky FN Hradec Králové a na JIP Chirurgické kliniky FN Hradec Králové. Charakteristika jednotlivých skupin je uvedena v tab.č.1.

	Skupina traumat	Skupina kardiologie
Počet pacientů	31	22
Muži	24	19
Ženy	7	3
Věk	36 ± 17	66,5 ± 8,8
ICHS	0	22
HTN	0	17
DM II. typu	0	8
HLP	0	22
HLP terapie	0	22
BMI	24,8 ± 2,2	26,7 ± 2,5
APACHE II	20 ± 6	14 ± 2,4
NISS	39,2 ± 9,1	0

Tab.č. 1 Charakteristika skupin (data jsou prezentována jako průměr $a \pm SD$ – standardní odchylka)
ICHS – ischemická choroba srdeční; HTN – arteriální hypertenze; DM II. typu – diabetes mellitus II. typu; HLP – hyperlipoproteinemie; HLP terapie – hypolipidická terapie; BMI – body mass index; APACHE II - Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II; NISS – New Injury Severity Score)

Základním předpokladem bylo, že se nemocní uvedených skupin budou chovat z hlediska vývoje trendů parametrů metabolismu cholesterolu podobně. Ve skupině kardiologických nemocných byl předpoklad, že u nemocných bude zajištěna nutriční p.o. příjmem stravy následující den po operaci (tohoto bylo ve 100% případů dosaženo aplikací diety s regulovaným příjmem cholesterolu – dieta č. 9 diabetická), u nemocných ve skupině polytraumat nebylo možné dopředu stanovit způsob zajištění nutriční, když tento byl zajištěn kombinovaným způsobem parenterálně a enterálně [v průměru byla většina nemocných od 2 dne ($2,1 \pm 0,74$ dne) zajištěna parenterální výživou s tukovou emulzí, od 4 dne ($4,36 \pm 1,61$ dne) pak byla k této postupně přidávána p.o. strava s následným přechodem na plný p.o. příjem].

K porovnání obvyklých koncentrací sterolů za tzv. „normálních“ okolností, tj. bez stresové zátěže, byla jednorázově odebrána skupina dárců krve bez kardiovaskulárního onemocnění (celkem 100 probandů).

U pacientů kardiochirurgické skupiny bylo již vstupně počítáno s konkomitantní terapií ovlivňující metabolismus cholesterolu (statiny) a podle protokolu tuto terapii nemocní užívali do posledního dne před operací a následně byla tato terapie navrácena do chronické medikace druhý pooperační den. Z tohoto pohledu se jevila zvláště zajímavou otázka, zda užívání hypolipidemické terapie ve skupině kardiochirurgických nemocných ovlivní trend změn parametrů metabolismu cholesterolu. Všichni kardiochirurgičtí nemocní bez výjimky užívali statiny (terapie byla nasazena odborným kardiologem řádově několik týdnů před přijetím do nemocnice a nebyla měněna v průběhu studie), a to atorvastatin v průměrné dávce 20 mg/den nebo simvastatin v průměrné dávce 25 mg/den.

Všichni nemocní udělili s účastí ve studii písemný informovaný souhlas. Ve skupině polytraumatizovaných nemocných nebylo možné získat u části nemocných souhlas bezprostředně při přijetí do nemocnice vzhledem k závažnosti zdravotního stavu. Nemocným byly odebrány vzorky krve v rámci plánovaných odběrů, tyto byly hluboce zamrazeny na – 80 stC a až po dodatečném získání informovaného souhlasu byly dále zpracovány. Nikdo z nemocných neodmítl účast ve studii. Protokol studie byl schválen etickou komisí FN Hradec Králové.

5.2 Vylučující kritéria studie:

- plánovaná další operace po dobu 8 dnů od zařazení nemocného do studie
- předoperační jaterní dysfunkce (více jak trojnásobný vzestup jaterního souboru)
- verze miniinvasivního výkonu na operaci v mimotělním oběhu
- diabetes mellitus I. typu na inzulínové terapii
- šokový stav vyžadující kardiopulmonální resuscitaci

5.3 Odběrový protokol

Den 0 - příjem na kardiochirurgickou kliniku

- den traumatu – (odběry byly provedeny bezprostředně po přijetí do nemocnice, t.j. do 60 min od vzniku úrazu) – zde byl předpoklad, že poměry koncentrací sterolů budou odpovídat normální situaci pacienta (u traumatu vzhledem ke krátké době od vzniku nebyl předpoklad ovlivnění plasmatických hladin sterolů stresovou zátěží)

Den 1 - první pooperační a potraumatický den

Den 4 - čtvrtý pooperační a potraumatický den

Den 8 - osmý pooperační a potraumatický den

Laboratorně byla provedena následující vyšetření: celkový cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, TAG, markery syntézy cholesterolu (skvalen, lathosterol) a markery absorpce cholesterolu (campesterol, sitosterol), koncentrace C-reaktivního proteinu (CRP), celkový protein (TP), albumin, prealbumin, stanovení interleukinu IL-6, inzulínu, C paptidu, test funkční zdatnosti nadledvin bez stimulace a 60 min po stimulaci 0,250 ug ACTH, test funkční zdatnosti granulocytů „oxidative burst test“.

V den 0 byl analyzován vzorek na koncentrace sterolů, C reaktivního proteinu, albuminu, total proteinu, prealbuminu, hladina IL-6. V den 1 byly provedeny odběry stejně jako v den 0 a navíc bylo provedeno stanovení hladin inzulínu a byl proveden test oxidativního vzplanutí leukocytů. V den 4 byl proveden odběr ve stejném rozsahu jako den 1 a navíc byl proveden test funkce nadledvin za pomoci synactenového testu. V den 8 byly provedeny stejné odběry jako v den 1. U nemocných na totální parenterální výživě byly odběry provedeny 1 hod po přerušení aplikace výživy.

5.4 Použité analytické metody

1. hladiny celkového cholesterolu byly stanovovány na principu enzymatického stanovení s fotometrickým měřením barevného reakčního produktu K měření se používala firemní souprava Cholesterol OSR 6216 a biochemický fotometrický analyzátor (F.Hoffmann-La Roche Ltd, Basilej, Švýcarsko).
2. kvantitativní stanovení LDL cholesterolu a HDL cholesterolu byla prováděna taktéž na principu enzymatického stanovení s fotometrickým měřením barevného reakčního produktu. Byly použity firemní soupravy LDL-Cholesterol OSR 6283 a HDL-Cholesterol OSR 6287. Absorbance byla následně změřena fotometrickým analyzátozem (F.Hoffmann-La Roche Ltd, Basilej, Švýcarsko)
3. kvantitativní stanovení triacylglyceridů v plasmě se provádělo principem enzymatického stanovení s fotometrickým měřením barevného reakčního produktu. Tento je analyzován fotometricky analyzátozem (F.Hoffmann-La Roche Ltd, Basilej, Švýcarsko)
4. analýza markerů syntézy cholesterolu (skvalen, lathosterol) a markerů absorpce cholesterolu (campesterol, sitosterol) v krevní plasmě probíhala pomocí extrakce Abell-Kendallovou metodou, saponifikací séra roztokem hydroxidu draselného v ethanolu. Separace vzniklých derivátů byla provedena plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí (GS-MS přístroj TurboMass, Perkin Elmer, Waltham, USA).
5. koncentrace C-reaktivního proteinu, celkového proteinu, albuminu a prealbuminu byly vyšetřeny na přístroji Modular (F.Hoffmann-La Roche Ltd, Basilej, Švýcarsko) a koncentrace C peptidu byly stanoveny na přístroji Immulite 2000 (Siemens Healthcare Diagnostics, Deerfield, USA)
6. stanovení inzulínu bylo provedeno radioimunoanalýzou (Imunotech, Praha, Česká republika)
7. stanovení interleukinu IL-6 pomocí ELISA metody (Quantikine HS Heman IL-6)
8. test funkční zdatnosti nadledvin byl proveden tzv. zkráceným ACTH stimulačním testem. Byl proveden stanovením hladiny kortizolu v séru (Immulite 2000) bez stimulace v ranních hodinách (7:00 hod). Následně byla provedena aplikace ACTH intravenózně (Synacthen, Novartis, Švýcarsko, amp. 1 ml/0,25 mg v 50 ml Glc 5% perfuzorem na 30 min) a poté za 60 min po stimulaci byl proveden druhý odběr na hladinu kortizolu v séru.
Hodnocení: pro hodnocení nadledvinkové insuficience jsme použili jako kritéria hladinu kortizolu v séru bez stimulace < než 250 µg/L, a vzestup kortizolu po stimulaci < než 2-násobek basální hladiny kortizolu. Test možno provést kdykoliv během dne, pacient nemusí být nalačno.
9. funkční zdatnost granulocytů byla sledována pomocí „oxidative burst“ testu schopnosti oxidativního vzplanutí. Oxidativní vzplanutí je odpovědí fagocytárních buněk na stimulaci. Je základem nespecifického obranného mechanismu proti bakteriím. Jedná se o řadu reakcí, při nichž jsou za spoluúčasti NADPH oxidázy tvořeny superoxidové ionty, které přechází na peroxid vodíku a jiné reaktivní radikály. Konečné produkty tohoto procesu jsou vysoce toxické pro mikroorganismy a jsou podstatou baktericidie. Test oxidativního vzplanutí je založen na stimulaci granulocytů solubilním stimulans phorbol-myristat acetátem (PMA). Vznik oxidativních produktů je detekován dihydrorhodaminem 123 (DHR 123), který se oxiduje z nefluorescentní formy na rhodamin 123, který vykazuje fluorescenci detekovatelnou při 530 nm (měřeno průtokovým cytometrem Beckman Coulter, Mnichov Německo). Výsledkem je procento buněk, které je schopno odpovídat na stimulaci tvorbou kyslíkových radikálů.

5.5 Statistika

Výsledky byly zpracovány statistickým programem Sigmastat 3.1 (Systat software, USA). Ke zpracování dat byla použita One Way Anova repeated measures (Holm-Sidak test), dále test lineární regrese se stanovením koeficientu determinace. Za statisticky významnou byla považována hodnota $p < 0,05$. Grafická zobrazení jsou prezentována formou krabicových grafů.

6. VÝSLEDKY

Vstupní profil celkového cholesterolu a cholesterolových prekurzorů byly porovnány se stejným profilem skupiny kardiologicky i jinak zdravých dobrovolných dárců krve. V naměřených plasmatických hladinách byl nalezen statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$) mezi jednotlivými skupinami. Výsledky shrnuje tab. č.2.

	Dárci krve		Skupina kardiologie		Skupina traumat	
	průměr	± SD	průměr	± SD	průměr	± SD
TC (mmol/l)	4,921	1,094	3,559	1,130	2,960	0,963
Skvalen (μmol/l)	1,162	0,906	1,993	0,95	1,962	1,189
Lathosterol (μmol/l)	7,769	4,896	2,994	1,738	4,300	1,982
campesterol (μmol/l)	10,254	4,249	4,514	1,861	3,706	1,544
β-sitosterol (μmol/l)	5,044	2,553	3,404	1,388	2,915	1,517
poměr skvalen/TC (· 10 ⁻³)	0,236	0,174	0,612	0,369	0,627	0,392
poměr lathosterol/TC (· 10 ⁻³)	1,623	1,024	0,867	0,408	1,423	0,652
poměr campesterol/TC (· 10 ⁻³)	2,142	0,905	1,331	0,588	1,250	0,519
poměr β-sitosterol/TC (· 10 ⁻³)	1,043	0,527	1,023	0,483	0,970	0,417

Tab. č.2. Výchozí koncentrace cholesterolu a prekurzorů cholesterolu - deskriptivní statistika (data jsou prezentována jako průměr a ±SD – standardní odchylka); TC – celkový cholesterol

6.1 Kardiochirurgická skupina

Souhrn výsledků (deskriptivní statistika) je uveden v tabulkách 3 a 4.

	0 den		1 den		4 den		8 den	
	průměr	± SD	průměr	± SD	průměr	± SD	průměr	± SD
TC (mmol/l)	3,559	1,130	2,687	0,785	3,527	0,704	4,094	0,559
HDL (mmol/l)	0,853	0,316	0,879	0,226	0,805	0,229	0,689	0,145
LDL (mmol/l)	2,171	0,681	1,400	0,703	1,900	0,681	2,652	0,573
TAG (mmol/l)	1,575	0,779	0,998	0,419	1,519	0,358	1,809	0,660
Skvalen (μmol/l)	1,993	0,95	1,895	0,631	1,925	0,726	1,833	0,94
Lathosterol (μmol/l)	2,994	1,738	2,897	1,185	3,967	1,947	5,962	3,712
campesterol (μmol/l)	4,514	1,861	3,658	1,594	4,062	1,533	4,504	1,789
β-sitosterol (μmol/l)	3,404	1,388	3,079	1,239	3,305	1,280	3,247	1,482
poměr skvalen/TC (· 10 ⁻³)	0,612	0,369	0,728	0,220	0,554	0,193	0,455	0,225
poměr lathosterol/TC (· 10 ⁻³)	0,867	0,408	1,115	0,422	1,110	0,481	1,436	0,927
poměr campesterol/TC (· 10 ⁻³)	1,331	0,588	1,424	0,706	1,189	0,516	1,113	0,462
Poměr β-sitosterol/TC (· 10 ⁻³)	1,023	0,483	1,229	0,608	0,968	0,451	0,800	0,372

Tab. č.3. Koncentrace cholesterolu a prekurzorů cholesterolu v kardiochirurgické skupině (data jsou prezentována jako průměr a ± SD – standardní odchylka); TC – celkový cholesterol; TAG – triacylglyceroly

	0 den		1 den		4 den		8 den	
	průměr	± SD	průměr	± SD	průměr	± SD	průměr	± SD
IL - 6 (ng/l)	8,831	13,017	130,194	65,069	70,318	64,081	16,265	19,686
Kortizol I (nmol/l)					671,091	186,326		
Kortizol II (nmol/l)					515,556	234,292		
CRP (mg/l)	6,75	18,524	90,00	42,773	145,706	92,536	36,765	21,542
TP (g/l)	60,438	9,250	56,871	4,530	62,253	5,215	67,041	5,010
Albumin (g/l)	37,250	5,125	33,335	2,946	35,024	3,614	37,371	4,259
prealbumin (g/l)	0,241	0,067	0,211	0,051	0,209	0,259	0,216	0,067
stimulovaný burst test (%)	96,3	0,001	93,753	3,173	89,3	7,908	82,6	6,207

Tab. č. 4 Koncentrace markerů nutriční a zánětlivé v kardiochirurgické skupině (data jsou prezentována jako průměr a ± SD – standardní odchylka); TP – celkový protein

V kardiologické skupině došlo ke statisticky významné ($p < 0,001$) změně v koncentraci celkového cholesterolu (TC) a to tak, že v D1 došlo k prudkému poklesu hladiny TC s postupnou úpravou hladin v průběhu 8 sledovaných dnů. Statisticky signifikantní byl rozdíl v hladinách TC mezi D0 vs D1, D0 vs D8, D1 vs D4, D1 vs D8 a D4 vs D8. Obdobná situace byla zaznamenána také v měřených koncentracích LDL. I zde došlo ke statisticky významné ($p < 0,001$) změně plasmatických hladin s prudkým poklesem v prvním dnu a následným vzestupem během sledovaného období 8 dnů. Statisticky významné byly změny mezi D0 vs D1, D0 vs D8, D1 vs D4, D1 vs D8 a D4 vs D8. V koncentracích HDL cholesterolu byl zaznamenán zřetelný sestupný trend během celé doby sledování. Statisticky významné změny ($p < 0,05$) byly nalezeny mezi D0 vs D8 a D1 vs D8. V koncentracích triacylglyceridů (TAG) došlo ke statisticky významným změnám ($p < 0,001$) mezi D0 vs D1, D1 vs D4 a D1 vs D8. Trendově změna v TAG kopírovala změny v TC a LDL cholesterolu. Maximální hladiny TAG v průměru nepřekročily arbitrárně stanovené rozmezí. V oblasti prekurzorů endogenní syntézy cholesterolu byl zaznamenán přechodný pokles 1 den sledování s následným vzestupným trendem v koncentracích lathosterolu. Statisticky signifikantní ($p < 0,001$) byly změny mezi D0 vs D4, D0 vs D8, D1 vs D4 a D1 vs D8. V poměru skvalen/TC dosáhly změny statistické významnosti ($p < 0,001$) mezi D1 vs D4 a D1 vs D8. V markrech absorpce cholesterolu, vyjádřené koncentracemi campesterolu, byl zaznamenán pokles první den po operaci s postupným vzestupem k původním hodnotám během sledovaného období s tím, že statisticky významná ($p < 0,05$) byla změna mezi D0 vs D1 a D1 vs D8. V poměru campesterol/TC byly statisticky významné ($p < 0,001$) změny mezi D0 vs D8 a D1 vs D8. V koncentraci β -sitosterolu byl zaznamenán vzestup v období D1 a D4, změny však nedosáhly statistické významnosti. Zato v poměru β -sitosterol/TC bylo dosaženo statisticky významných ($p < 0,001$) změn mezi D0 vs D1, D0 vs D8, D1 vs D4, D1 vs D8 a D4 vs D8.

Dynamika změn v koncentracích interleukinu IL-6 korespondovala se stresovou zátěží a bylo dosaženo statistické významnosti ($p < 0,001$) mezi D0 vs D1 a D4, D1 vs D4 a D8, D4 vs D8 s tím, že nejvyšší koncentrace IL-6 kulminovala první pooperační den a následně docházelo k poklesu. V syntéze bílkovin akutní fáze (CRP) došlo k identickým změnám jako v produkci IL-6 s tím, že CRP stoupalo první 4 dny s následným postupným poklesem. Změny byly vysoce ($p < 0,001$) statisticky významné mezi D0 vs D1, D4, D8; D1 vs D4, D8; D4 vs D8. Statisticky signifikantních změn ($p < 0,001$) bylo dosaženo i v tzv. negativních reaktantech akutní fáze, tj v celkové bílkovině (TP) došlo první den k poklesu s následným postupným vzestupem během sledovaného období a statistické významnosti změny bylo dosaženo mezi D0 vs D1 a D4, dále pak mezi D1 vs D8 a D4 vs D8. V plasmatických koncentracích albuminu bylo dosaženo statisticky významných změn mezi D0 vs D1, D1 vs D8. V plasmatických koncentracích imunoreaktivního inzulínu došlo během sledovaného období u nemocných k vysokému peaku první pooperační den, následně trendově docházelo k mírnému vzestupu oproti výchozím hodnotám. K odlišení externě podaného inzulínu (ve skupině kardiologické bylo 8 diabetiků II. typu na PAD) byl stanoven také C peptid, kde během 4 pooperačních dnů dosáhly hodnoty maxima s následným poklesem na konci sledovaného období. V koncentraci inzulínu bylo dosaženo statisticky významných změn ($p < 0,001$) mezi D0 vs D1, D1 vs D4 a D8. V C peptidu bylo dosaženo statisticky významných změn mezi D0 vs D4 a D0 vs D8.

Ve sledování baktericidní schopnosti leukocytů bylo pomocí stimulovaného burst testu nalezeno statisticky signifikantní ($p < 0,001$) snížení schopnosti tvorby kyslíkových radikálů mezi D1 vs D4, D1 vs D8 a D4 vs D8, což naznačuje poruchu iniciální fáze nespecifické imunitní reakce na bakteriální infekci.

Jedním z cílů studie bylo prokázat absolutní nebo relativní nadledvinkovou insuficienci ve vztahu k syntéze cholesterolu. V provedeném sledování kortizolu bez a po stimulaci došlo ke statisticky významnému vzestupu kortizolu po stimulaci. V absolutních číslech byly hladiny

kortizolu nad stanovenými diskriminačními hladinami pro průkaz nadledvinkové insuficience, t.j. nadledvinková insuficience nebyla prokázána. Nicméně byla nalezena statisticky významná negativní korelace mezi změnou hladiny kortizolu po stimulaci ACTH a hladinou TAG ($p = 0,017$).

6.2 Skupina polytraumat

Souhrn výsledků (deskriptivní statistika) je uveden v tabulkách 5 a 6.

	Den 0		Den 1		Den 4		Den 8	
	průměr	± SD	průměr	± SD	průměr	± SD	průměr	± SD
TC (mmol/l)	2,960	0,963	2,428	0,644	3,035	0,703	3,664	0,727
HDL (mmol/l)	0,749	0,252	0,783	0,302	0,572	0,233	0,489	0,254
LDL (mmol/l)	1,789	0,712	1,228	0,661	1,473	0,557	2,136	1,028
TAG (mmol/l)	1,069	0,458	1,139	0,543	1,575	0,848	2,003	1,167
Skvalen (μmol/l)	1,962	1,189	1,471	0,832	1,446	0,596	1,321	0,549
Lathosterol (μmol/l)	4,300	1,982	3,154	1,201	4,057	1,758	4,269	1,615
campesterol (μmol/l)	3,706	1,544	3,416	0,813	4,347	1,551	5,026	2,162
β-sitosterol (μmol/l)	2,915	1,517	3,385	1,402	7,415	5,470	10,421	7,454
Poměr skvalen/TC ($\cdot 10^{-3}$)	0,627	0,392	0,605	0,316	0,494	0,232	0,392	0,233
Poměr lathosterol/TC ($\cdot 10^{-3}$)	1,423	0,652	1,317	0,47	1,338	0,534	1,181	0,452
Poměr campesterol/TC ($\cdot 10^{-3}$)	1,250	0,519	1,456	0,396	1,459	0,479	1,422	0,609
Poměr β-sitosterol/TC ($\cdot 10^{-3}$)	0,970	0,417	1,479	0,772	2,434	1,566	3,025	2,108

Tab. č. 5 Koncentrace cholesterolu a prekurzorů cholesterolu ve skupině polytraumat (data jsou prezentována jako průměr a ± SD – standardní odchylka); TC – celkový cholesterol; TAG - triacylglyceroly

	Den 0		Den 1		Den 4		Den 8	
	průměr	± SD	průměr	± SD	průměr	± SD	průměr	± SD
IL - 6 (ng/l)			118,976	64,118	88,021	42,833	45,626	35,292
Kortizol I (nmol/l)					515,556	234,292		
Kortizol II (nmol/l)					927,389	229,108		
CRP (mg/l)	20,375	65,151	111,211	78,969	149,895	70,784	102,833	74,577
TP (g/l)	51,519	14,779	46,8	8,784	49,653	8,942	57,511	9,512
Albumin (g/l)	31,050	9,595	28,453	5,324	27,453	5,719	30,478	6,981
prealbumin (g/l)	0,216	0,105	0,189	0,049	0,129	0,058	0,193	0,084
stimulovaný burst test (%)			95,5	3,506	84,1	15,747	80,306	15,492

Tab. č.6 Koncentrace markerů nutrice a zánětu ve skupině polytraumat (data jsou prezentována jako průměr a ± SD – standardní odchylka); TP – celkový protein; CRP – C reaktivní protein

I v této skupině nemocných, u nichž byl stres definován jako dopravní polytrauma, byla nalezena vysoce statisticky významná změna ($p < 0,001$) v sérové koncentraci cholesterolu. Po dobu sledování došlo k prudkému poklesu první den po úrazu s postupným vzestupem hladin téměř k výchozím hodnotám na konci sledovaného období. Statistické významnosti bylo dosaženo mezi D0 vs D1, D0 vs D8, D1 vs D4, D1 vs D8 a D4 vs D8. Zároveň došlo k poklesu LDL cholesterolu, který kopíroval počáteční propad a následný vzestup celkového cholesterolu. Statistické významnosti ($p < 0,001$) bylo dosaženo mezi D0 vs D1, D1 vs D8 a D4 vs D8. V HDL cholesterolu došlo ke statisticky významnému ($p < 0,001$) poklesu mezi D0 vs D4, D0 vs D8, D1 vs D4 a D1 vs D8. HDL po mírném vzestupu první den trendově klesal po celou dobu sledování. V TAG byl nalezen vzestupný trend sérových koncentrací s tím, že statisticky významné ($p < 0,05$) byly změny mezi D0 vs D4 a D8, D1 vs D4 a D8. V sérových koncentracích skvalenu byl zaznamenán klesající trend, změny byly statisticky signifikantní ($p < 0,05$) mezi D0 vs D8. V lathosterolu došlo první den k poklesu s následným vzestupem a bylo dosaženo statistické významnosti ($p < 0,05$) změny v plasmatických koncentracích mezi D1 vs D8. Podobný trend změn s klesající tendencí v celém sledovaném období měl poměr skvalen/TC, kde byla zaznamenána statisticky významná ($p < 0,05$) změna mezi D0 vs D4 a D8, D1 vs D8. V markerech absorpce cholesterolu, vyjádřené jako β -sitosterol, byl zaznamenán statisticky významný ($p < 0,001$) vzestupný trend mezi D0 vs D4, D0 vs D8, D1 vs D4 a D1 vs D8. Plasmatické koncentrace v průběhu sledovaného období rostly s maximálním urychlením od 4 dne sledování. V poměru β -sitosterol/TC byla identická změna s β -sitosterolem a statistické významnosti ($p < 0,001$) bylo dosaženo mezi D0 vs D4 a D8, D1 vs D4 a D8. V campesterolu došlo první den po traumatu k mírnému poklesu s následným vzestupným trendem během celého sledovaného období. Změny dosáhly statistické významnosti ($p < 0,05$) mezi D0 vs D8, D1 vs D8. V poměru campesterol/TC byla nalezena statistická významnost změn ($p < 0,05$) mezi D0 vs D4.

Také u skupiny nemocných s polytraumatem došlo k vzestupu plasmatických koncentrací IL-6 s dosaženým maximem první potraumatický den s postupným poklesem během sledovaného období. Statisticky významných změn ($p < 0,001$) bylo dosaženo mezi D1 vs D4, D1 vs D8 a D4 vs D8. V plasmatických koncentracích CRP byl zaznamenán vzestup v první polovině sledovaného období s kulminací hladiny 4 den sledování a s následným poklesem. Statistické významnosti ($p < 0,001$) bylo dosaženo mezi D0 vs D1, D4, D8. V koncentracích TP došlo k poklesu první potraumatický den s následným vzestupem během sledovaného období. Statistické významnosti změn ($p < 0,05$) bylo dosaženo mezi D1 vs D8. V bílkovině s velmi krátkým poločasem, prealbuminu, byla nalezena statisticky významná ($p < 0,05$) změna mezi D0 vs D4, D1 vs D4 a D4 vs D8. V plasmatických koncentracích imunoreaktivního inzulínu a C peptidu došlo během sledovaného období k vzestupu s maximem naměřených hladin 4 potraumatický den. U inzulínu nebyly zaznamenány statisticky významné změny. U C peptidu byla zaznamenána statisticky významná ($p < 0,05$) změna mezi D1 vs D4 a D4 vs D8.

Baktericidní schopnost leukocytů tvořit kyslíkové radikály statisticky významně ($p < 0,001$) poklesla v průběhu sledovaného období mezi D1 vs D4 a D1 vs D8. V plasmatických koncentracích kortizolu byla zaznamenána statisticky významná změna mezi nestimulovanou a ACTH stimulovanou hladinou kortizolu. Absolutní koncentrace kortizolu vysoce přesahovaly arbitrálně stanovené hladiny kortizolu svědčící pro nadledvinkovou insuficienci. Také ve skupině polytraumat byla nalezena statisticky významná negativní korelace mezi změnou hladiny kortizolu po stimulaci ACTH a koncentrací TAG. Ve skupině polytraumat byla nalezena statisticky významně ($P 0,045$) nižší vstupní hladina HDL cholesterolu ve skupině s infekčními komplikacemi než ve skupině bez infekčních komplikací. Při korelaci markeru endogenní syntézy cholesterolu (lathosterolu) s závažností zdravotního stavu při přijetí

polytraumatizovaných nemocných (vyjádřeno jako APACHE II score) byla nalezena statisticky významná ($p 0,023$) negativní korelace.

7. DISKUSE

V průběhu 20 století se výzkum v medicíně soustředil především na vztah cholesterolu a akcelerované aterosklerozy a jednoznačně prokázal, že vysoké sérové hladiny cholesterolu jsou škodlivé. U řady akutních klinicky závažných stavů ale dochází k významným změnám vnitřního prostředí a metabolismu. Jednou z pozorovaných změn je změna v sérových koncentracích cholesterolu a jeho prekurzorů. Ukázalo se, že hypocholesterolemie v období akutního onemocnění má své nežádoucí efekty, že nízká koncentrace cholesterolu může predikovat nepříznivý osud nemocného [12-13,35].

Ve studii došlo u všech nemocných k poklesu plasmatických koncentrací celkového cholesterolu v prvních 24 hodinách s postupnou úpravou hladin v průběhu 8 denního sledování. LDL cholesterol trendově kopíroval vývoj celkového cholesterolu. Tento nálezní potvrzuje a zvláště pak rozšiřuje nálezy dříve referovaných hypocholesterolemií u klinicky závažných stavů [9-11,21]. Přestože se obě sledované skupiny zásadně lišily věkovou strukturou, byl zaznamenán stejný výše zmíněný trend ve vývoji jednotlivých parametrů. Tento fakt dokládá univerzálnost této reakce bez ohledu na úroveň vstupních hodnot a s tím spojených věkově závislých rozdílů v metabolismu cholesterolu. Studie ukázala, že příčinou prudkého propadu v TC a LDL cholesterolu byla mimo jiné nízká resp. snížená endogenní syntéza cholesterolu, která byla vyjádřena v plasmatických koncentracích lathosterolu a poměru lathosterol/cholesterol. Tak jak docházelo ke stabilizaci nemocných, docházelo i k urychlení endogenní syntézy cholesterolu.

Při testování vztahu cholesterolu s tíží onemocnění (vyjádřeno jako APACHE II) nebyla nalezena statisticky signifikantní závislost. Nicméně byla-li srovnána tíže onemocnění (vyjádřena jako APACHE II) s markery endogenní syntézy cholesterolu (vyjádřeno jako lathosterol), byla nalezena statisticky signifikantní závislost. Můžeme proto konstatovat, že čím těžší vstupní klinický stav, tím pomalejší syntéza cholesterolu a opačně, z úrovně endogenní syntézy cholesterolu lze předpovědět závažnost klinického stavu. Tento pohled se zdá být novým, neboť dosud byla srovnávána pouze hladina celkového cholesterolu k pozitivní nebo negativní prognóze nemocného.

Vstupní plasmatické koncentrace TC, LDL a HDL byly v obou sledovaných skupinách nízké ve srovnání s běžnými plasmatickými koncentracemi v české populaci a kontrolní skupině (k tomuto účelu byly pro srovnání stanoveny hladiny u 100 zdravých dárců krve). Ve skupině kardiochirurgických nemocných může být vysvětlením nízkých vstupních hodnot současná terapie hypolipidemiky - statiny (100% konsekutivně přijatých nemocných bylo léčeno hypolipidemikem). Ve srovnání s daty sledování kardiovaskulární farmakoterapie v České republice lze odvodit, že došlo k zlepšení adherence k hypolipidemické terapii jak nemocných, tak spádových internistů nebo kardiologů [47]. Jedním z možných faktorů ovlivňujících nízké vstupní plasmatické koncentrace TC, LDL a HDL cholesterolu ve skupině polytraumatizovaných, může být hemodiluce, vznikající v důsledku volumexpanze náhradními roztoky u hemodynamicky nestabilních nemocných v přednemocniční péči, a také posthemoragická anemie. V literatuře již byla popsána hypocholesterolemie u nemocných s anemií [12,27]. Ukazuje se, že kromě zvýšené potřeby cholesterolu jako stavebního kamene buněčné (a tedy i erytrocytární) stěny v době vystupňované produkce v kostní dřeni, může v souvislosti s anemií docházet také k výměně cholesterolu mezi plasmou a membránou červených krvinek nebo mezi extravaskulárním a intravaskulárním prostorem. Hodnoty hematokritu (HKT) v den přijetí ve skupině polytraumat byly u mužů v průměru $0,315 \pm 0,08$, což představovalo 67% fyziologických hodnot HKT (tj. průměr 0,47) a u žen byl hematokrit v

průměru $0,254 \pm 0,07$, což představovalo 60,4 % z fyziologického rozmezí (tj. 0,42). Při kompenzaci cholesterolemie na normální hodnoty hematokritu (tj. celkový cholesterol by byl ve skupině polytraumat u mužů 4,8 mmol/l a žen 3,8 mmol/l) lze konstatovat, že na vstupní hypocholesterolemii ve skupině polytraumat se spolupodílela hemodiluce. Nicméně při objasnění příčin prudkého poklesu hladiny celkového cholesterolu první den po operaci nebo úrazu jsme testovali závislost na množství podaných tekutin a nebyla nalezena statisticky významná závislost v hladinách cholesterolu a jeho prekurzorů na kumulativní dávce podaných tekutin. Vysvětlení rozvoje hypocholesterolemie se tedy jeví jako multifaktoriální.

Ve skupině kardiochirurgických nemocných jistě bylo jednou z možných příčin poklesu cholesterolu na začátku sledovaného období přerušení p.o.příjmu stravy a tím také dodávky exogenního cholesterolu (toto bylo v den operace a jeden den následující bezprostředně po operaci). Tomuto vysvětlení by odpovídaly i nálezy v oblasti markerů absorbce sterolů, kde v hladinách campesterolu a β -sitosterolu došlo první den po operaci k poklesu s následným zvyšováním hladin v průběhu celého sledovaného období až na původní (výchozí) hodnoty. Skupina polytraumatizovaných nemocných již nebyla tak homogenní a kromě přerušení p.o. příjmu na více jak 4 dny mohla sehrát svoji roli také aplikace parenterální výživy s nízkým obsahem cholesterolu (0,1 %) [48]. Na rozdíl od chylomikronů nejsou v tukové emulzi parenterální výživy, kromě zanedbatelného množství cholesterolu, také žádné estery cholesterolu a navíc je v tukové emulzi signifikantní příměs fytoosterolů (především sitosterolu). A právě mezi tukovými částicemi parenterální výživy a lipoproteiny dochází záhy po aplikaci (řádově v desítkách minut) k řadě metabolických pochodů (přechod apoproteinů z lipoproteinových částic do lipidových částic parenterální výživy, přechod esterů cholesterolu z HDL částic do tukových částic parenterální výživy atp), které zásadním způsobem mění charakter částic, ale i lipoproteinů. Z tohoto pohledu lze vnímat myšlenku dodání cholesterolu v obohacených tukových emulzích jako možné řešení korekce hypocholesterolemie u kriticky nemocných. A skutečně v tomto směru také byla provedena experimentální práce, kde byla podávána parenterální výživa s tukovou emulzí obohacenou o volný cholesterol (4g/L) [49]. Přestože nedošlo ke vzestupu v plasmatických koncentracích celkového cholesterolu, měly obohacené tukové emulze příznivý vliv na celkovou clearans triacylglyceridů, umělé částice tukové emulze byly více podobny nativním chylomikronům a tyto částice byly rychleji odstraňovány z plasmy. Zároveň došlo ke zvýšení oxidace mastých kyselin a zvýšené tvorbě ketolátek.

Ve skupině polytraumat byl zaznamenán silný vzestup v koncentraci β -sitosterolu, což si vysvětlujeme právě výše zmíněným mechanismem arteficiální dodávky tukových emulzí v parenterální výživě. Tento nálezy nelze hodnotit jako vystupňování absorbce cholesterolu. Nicméně i při respektování výše zmíněného faktu ve skupině polytraumatizovaných nemocných došlo po přechodném poklesu v koncentracích campesterolu v období vystavení akutnímu stresu k jeho postupnému zvýšení, což lze hodnotit jako urychlení absorbce cholesterolu v období zlepšování celkového stavu.

V době působení infekce, velkého traumatu nebo operace dochází k vyplavení celé kaskády zánětlivých působků, které jsou obecně nazývány jako systémová zánětlivá odpověď organismu. Ve studii byl zaznamenán statisticky významný vzestup interleukinu 6 (IL-6), a to bezprostředně po vzniku úrazového nebo operačního inzultu. U nekomplikovaných stavů vrcholila tato cytokinová aktivita 1 den sledování s postupným poklesem směrem k normálním hodnotám na konci sledovaného období. Na poklesu TC a LDL cholesterolu se podílel právě efekt těchto zánětlivých cytokinů. Zároveň byla snižená endogenní syntéza cholesterolu, která byla vyjádřena v hladinách lathosterolu a poměru lathosterol/cholesterol. Ve skupině polytraumatizovaných nemocných byla nalezena statisticky významná závislost IL-6 a poměru lathosterol/TC. Později, tak jak docházelo ke stabilizaci nemocných, docházelo k poklesu plasmatických koncentrací IL-6 a zároveň k urychlení endogenní syntézy

cholesterolu. Tyto nálezy korespondují s literárními údaji. Při porovnání plasmatických koncentrací IL – 6 a celkového cholesterolu byla nalezena statisticky významná negativní korelace. Čím byla cytokinová reakce organismu bouřlivější, tím byla hladina celkového cholesterolu nižší. Zánětlivé cytokiny jsou schopny up-regulace aktivity LDL receptorů na hepatocytech, což vede ke snížení koncentrace LDL lipoproteinů v důsledku zvýšeného katabolismu LDL částic [17]. IL-6 stimuluje in vivo jaterní lipogenezi [18,50], a to cestou vzestupu aktivity lipogenetického enzymu acetyl-CoA karboxylasy a syntetasy mastných kyselin. Existují literární údaje které dokládají, že v počátečních fázích kritického stavu je syntéza prekurzorů cholesterolu zřejmě zvýšena, a to až po úroveň farnesyly nebo skvalenu. Tyto prekurzory jsou ale v kritickém stavu zvýšeně spotřebovávány. Navíc dochází pravděpodobně k blokadě enzymů podílejících se na dalším kroku přeměny isoprenoidů na cholesterol, a to buď v oblasti skvalen syntetázy, nebo v počátečních krocích syntézy steroidního nukleu ze skvalenu, případně v prvních enzymatických procesech přeměny steroidního nukleolu –cyklo pentano perhydro fenantrenového jádra cestou přes lathosterol a lanosterol na cholesterol [15-16]. Nicméně efekt cytokinů na lipoproteinový metabolismus je komplexní a mechanismy vedoucí k poklesu koncentrace cholesterolu a jeho dostupnosti v plasmě nejsou stále do detailu prostudovány.

Ve studii byl také sledován vývoj markerů syntézy cholesterolu (skvalen, lathosterol). V plasmatických koncentracích skvalenu nebyla v obou skupinách nalezena statisticky významná změna. Ukazuje se, že interpretace výsledků skvalenu, jako markeru endogenní syntézy cholesterolu, je velice obtížná. Skvalen se totiž nachází v různých poolech v organismu (játra, tuková tkáň, lipoproteiny), odkud může být v případě potřeby uvolňován. K uvolnění ze zásob dochází v případě zvýšené zátěže organismu (například při stresu), kdy se skvalen stává rychle dostupným prekurzorem syntézy cholesterolu [51-52]. Z tohoto pohledu je jeho hodnocení jako markeru syntézy cholesterolu problematické. Nicméně v lathosterolu (jako druhého testovaného markeru syntézy cholesterolu) došlo již první den k poklesu s následným postupným vzestupem během sledovaného období. Lze tedy konstatovat, že k přechodnému poklesu v syntéze cholesterolu krátce po zátěžovém stavu došlo, a že s postupnou stabilizací a úpravou stavu došlo ke zvýšení endogenní syntézy. Vysvětlením rozdílných vstupních hladin lathosterolu (u kardiochirurgické skupiny byla o 30% nižší hladina) se zdá být konkomitantní hypolipidemická terapie kardiochirurgické skupiny.

Jednou z významných patofyziologických cest rozvoje hypocholesterolemie u akutně nemocných může být snížení proteosyntézy bílkovin, resp. proteosyntézy apoproteinů. Pokles syntézy apoproteinů byl prokázán na populaci jaterních buněk, které byly vystaveny působení TNF- α , IL-1 a IL-6 [53]. V klinické studii byla prokázána, u kriticky nemocných na chirurgické JIP, nepřímá korelace mezi IL-6 a apolipoproteinem A1 (APO-A1) [54].

Ukazuje se, že hypocholesterolemie může být součástí negativní odpovědi akutní fáze onemocnění. Ve studii byly pozorovány významné změny C reaktivního proteinu (CRP), celkového proteinu (TP – total protein), albuminu a prealbuminu. Vzestup zánětlivých markerů (CRP) a naopak pokles negativních markerů zánětu (TP, albumin, prealbumin) jsou vysvětlovány poklesem syntézy jaterních a plasmatických bílkovin a přesmykem proteosyntetické aktivity ve prospěch zánětlivých bílkovin v důsledku cytokiny zprostředkované zánětlivé odpovědi organismu [12,13,55]. Při porovnání IL-6 a bílkoviny s dlouhým, středním a krátkým biologickým poločasem (TP, albumin, prealbumin), byla nalezena statisticky významná korelace v den 8 u obou sledovaných skupin. Z tohoto nálezu lze vyvozovat, že efekt cytokinů na tvorbu bílkovin má jisté zpoždění vzhledem k nutnosti kalkulace biologického poločasu bílkovin.

Jedním z předpokládaných jevů ve studii bylo, že vstupní koncentrace lipidů budou v kardiochirurgické skupině ovlivněny současnou terapií hypolipidemiky. Z tohoto pohledu se

zdálo jako velice zajímavé srovnání dvou odlišných skupin, srovnání trendového vývoje lipidového spektra a prekurzorů lipidů v odlišných podmínkách. Hypolipidemika užívalo 100% kardiologických nemocných a to do posledního dne před prvním měřením v D0 a podle protokolu se tato terapie vracela 2 pooperační den. Pacienti užívali bez výjimky statiny, z toho 82% byl atorvastatin v průměrné dávce 20 mg/den a 18% byl simvastatin v průměrné dávce 25 mg/den. Nicméně z pohledu dynamiky změn v koncentracích TC, HDL, LDL a v markerech endogenní syntézy cholesterolu nebyl statisticky významný rozdíl v jednotlivých dnech mezi kardiologickou skupinou a skupinou s polytraumaty. Prudký pokles první den s postupným vzestupem k výchozím hodnotám byl zaznamenán bez výjimky u všech nemocných bez ohledu na užívání hypolipidemické terapie. Vzhledem ke krátké době vysazení hypolipidemika a biologickému poločas statinů (biologický poločas atorvastatinu je přibližně 14 hod, biologický poločas simvastatinu jsou přibližně 3,0 hod) [56] není pravděpodobné, že by tento fakt zásadně ovlivnil metabolismus cholesterolu. Navíc, pokud by se mělo vysazení hypolipidemické terapie projevit na plasmatických hladinách sterolů, potom přesně opačným trendem, než bylo nalezeno. Tedy vzestupem syntézy cholesterolu a jeho prekurzorů. Poměrně překvapivým nálezem byla skutečnost, že dynamika a trendový průběh v hladinách lipidů se prakticky nelišily mezi oběma skupinami. Z uvedeného vyplývá, že je-li narušena syntéza cholesterolu, pak se pravděpodobně jedná o víceúrovňovou blokádu ve velice složité cestě jeho syntézy [15-16]. Dostupná literární data naznačují, že pacienti užívající statiny (inhibitory hydroxymethyl glutaryl CoA-reduktázy) mohou z této terapie v době zánětu profitovat. Vzhledem k tomu, že velké operační trauma, stejně tak jako úrazové trauma, navozují podobnou cytokinovou reakci s SIRS, dal by se očekávat příznivý vliv na obě skupiny nemocných. Za tzv. pleiotropní efekt statinů je považován jejich protizánětlivý, antioxidační, imunomodulační, antiapoptotický, antiproliferativní, antitrombotický a konečně i endotel protektivní efekt [57-58]. Literárně se uvádí, že přestože pacienti se sepsí vstupující do studie se statinem měli více komorbidit, měla skupina léčená statinem menší stupeň závažnosti sepse než ti, kteří statin neužívali [59].

Ve studii byla ve skupině kardiologických nemocných, vedle hypolipidemik užitá ještě konkomitantní terapie antikoagulancii (nízkomolekulární heparin – low molecular weight heparin LMWH), a to v jednotné preventivní dávce 0,4 – 0,6 mg enoxaparinu 1x denně od prvního pooperačního dne po dobu 3 dnů od operace, během výkonu 200 j/kg hmotnosti nefrakcionovaného heparinu. Přestože je literárně popisována interference metabolismu lipidů s terapií antikoagulancii [28] (může docházet ke vzestupu internalizace LDL a VLDL lipoproteinů, který je následován poklesem v hladině sérového cholesterolu, dochází k mobilitaci jaterní lipázy a lipoproteinové lipázy s jejich uvolněním z cévního endotelu do plasmy), domníváme se, že dávka podaná periprocedurálně byla natolik nízká, že je nepravděpodobné, aby zásadním způsobem ovlivnila metabolismus cholesterolu. K podpoře tohoto tvrzení je potřeba uvést, že trendový vývoj hladin lipidů byl v obou sledovaných skupinách identický, byť jedna ze skupin nedostávala v úvodu sledování antikoagulační terapii.

Simultánně s poklesem celkového cholesterolu došlo ve studii k poklesu HDL a LDL cholesterolu. Zatím co LDL cholesterol se reparaoval v čase symetricky s celkovým cholesterolem, reparace HDL cholesterolu nebyla v období měření zaznamenána, respektive trendově spíše klesala. Nízká koncentrace HDL cholesterolu je považována za jeden z důležitých rizikových faktorů rozvoje infekčních komplikací chirurgických nemocných [60]. Pokles hladiny HDL cholesterolu může souviset s vysokou koncentrací fosfolipázy A2 [61]. Lipoproteiny, zejména HDL cholesterol, váží a neutralizují lipopolysacharidy. Zásadní roli v patogenezi sepse sehrávají lipopolysacharidy gramnegativních bakterií, které se váží na řadu vazebných proteinů a receptorů a spouští komplexní imunitní odpověď [62]. Jednou z takovýchto bílkovin je lipopolysacharidový vazebný protein (LBP - lipopolysacharid binding protein), na který se naváže uvolněný lipopolysacharid a tento komplex posléze

vazbou na buněčný receptor – CD14 monocytomakrofágového systému spustí tvorbu a výdej celé kaskády zánětlivých cytokinů [36]. V experimentu na zdravých dobrovolnících došlo po aplikaci jedné intravenózní dávky endotoxinu k vyplavení cytokinů a stresových hormonů, zároveň byly pozorovány změny v metabolismu lipidů včetně poklesu HDL [38]. A právě endotoxin se může vázat s lipoproteinem HDL a je potom při vstupu do buňky neutralizován [36-37,39], čímž dochází k redukci intenzity uvolňovaných zánětlivých mediátorů [40]. Hypocholesterolemie navozená z jiného důvodu poté snižuje vazebnou kapacitu pro LBP. V souboru polytraumatizovaných nemocných bylo zaznamenáno 7 infekčních komplikací (z toho bylo 5 nemocných s bronchopneumonií, 1 nemocný s nitrobřišní infekcí a 1 nemocný s neuroinfekcí). Při porovnání vstupních koncentrací HDL cholesterolu měla skupina bez infekčních komplikací o 33% vyšší průměrnou hladinu než skupina s pozdějšími infekčními komplikacemi (vstupní HDL průměr 0,833 mmol/L \pm 0,236 ve skupině bez infekčních komplikací, vstupní HDL průměr 0,566 mmol/L \pm 0,195 ve skupině s infekčními komplikacemi, $p = 0,045$). Tento nálezný plně potvrzuje důležitou úlohu HDL v neutralizaci bakteriálních lipopolysacharidů. Na vazbě a neutralizaci lipopolysacharidů bakteriálních buněk se pravděpodobně spolupodílí ještě další látky. Důkazem byla experimentální práce, při níž odstraněním 99% LBP z plasmy došlo jen k 50% snížení transportu LPS do HDL [63]. Všechny tyto poznatky by mohly mít své klinické důsledky. Aplikace rekonstituovaného HDL v experimentu na zvířecím modelu snížila produkci TNF- α po podání LPS [41]. Podobné výsledky byly i na prasečím modelu se směsí lipoproteinových fosfolipidů včetně zlepšení vybraných hemodynamických parametrů [64] a stejně tak v humánních experimentech sledujících protizánětlivý efekt a vybrané koagulační parametry [42]. Navíc se ukazuje, že HDL má i jiné imunomodulační a antioxidační funkce, které jsou zprostředkovány cestou inhibice aktivace a translokace nukleárního faktoru κ B (NF- κ B) a aktivačního proteinu 1 (AP1) [65]. HDL je schopno ovlivňovat i expresi endoteliálních adhesivních molekul [66]. Není však doposud známo, zda výše zmíněné pozitivní efekty rekonstituovaného HDL povedou ke zlepšení prognózy nemocných a snížení mortality.

Vedle výše zmíněné vazby lipopolysacharidů by se hypocholesterolemie mohla uplatňovat také ve vztahu k nespecifickým obranným mechanismům proti bakteriím. Jednou z hlavních hypotéz ve studii byl předpoklad, že v průběhu velké stresové zátěže organismu dochází ke změně schopnosti tvorby superoxidových iontů fagocytárních buněk, jejichž konečné produkty jsou vysoce toxické pro mikroorganismy a jsou podstatou baktericidie. Polymorfonukleáry jsou v první linii obrany lidského organismu před infekčním agens a jejich účinek je dán uvolňováním reaktivních forem kyslíku (ROS – reactive oxygen species) a proteolytických enzymů. Jedním z klíčových enzymů v tvorbě reaktivních forem kyslíku je NADPH oxidáza [67]. Tento enzym je inaktivován v nestimulovaných leukocytech, po stimulaci infekčním agens dochází k jeho aktivaci a mohutné produkci superoxidových aniontů. Z literatury je známo, že partikule bohaté na TAG, jako jsou VLDL a LDL, jsou in vitro schopny modifikovat spontánní a chemotaktickou migraci polymorfonukleárů a uvolňování ROS [68-69] a to v tom smyslu, že VLDL a v menší míře i LDL stimulují produkci reaktivních forem kyslíku. Navíc další studie ukázaly, že cholesterol samotný představuje jeden z důležitých stimulů uvolňování ROS [70]. HDL je pak schopno napomáhat uvolňování proteolytických enzymů z polymorfonukleárů [71]. Na základě výše zmíněných souvislostí jsme postulovali hypotézu, že v případě snížené hladiny cholesterolu lze předpokládat i sníženou schopnost uvolňování reaktivních forem kyslíku a tím i snížení nespecifické imunitní odpovědi. V práci prezentované výsledky ukázaly signifikantně nižší schopnost oxidativního vzplanutí, tj. sníženou baktericidii fagocytárních buněk. Snížení oxidativního vzplanutí bylo pozorováno u obou sledovaných skupin nemocných. Tento nálezný zásadním způsobem rozšiřuje poznání vztahu hypocholesterolemie a snížené obranyschopnosti organismu. Velice zajímavým v souvislosti se sledovanými skupinami je

fakt, že ke snížení schopnosti oxidativního vzplanutí došlo i ve skupině léčené statiny, kde by se dalo očekávat ovlivnění způsobené extralipidovými efekty těchto léčiv. V souvislosti s terapií statiny nebyla v experimentu na zvířecím modelu prokázána schopnost statinu (simvastatinu) přímo ovlivnit produkci superoxidových aniontů [67]. Jiná práce však prokázala efekt snížení aktivity NADPH oxidázy a z toho plynoucího snížení oxidativního vzplanutí po aplikaci fluvastatinu, nikoliv však po aplikaci pravastatinu [72-73]. Navíc se ukázalo, že tento efekt je závislý na koncentraci statinu tj. na velikosti podané dávky. Zdá se, že vliv statinů na tvorbu volných kyslíkových radikálů nemá jednotný „class effect“. Ve studii jsme u nemocných léčených statiny (82% nemocných bylo léčeno atorvastatinem v průměrné dávce 20 mg/den a 18% nemocných bylo léčeno simvastatinem v průměrné dávce 25 mg/den) prokázaly stejný výsledek snížení oxidativního vzplanutí po stimulaci jako u nemocných, kteří žádnou terapii statinem neměli.

Hypocholesterolemie v kritickém stavu bývá spojena dle některých literárních pramenů [30] s hypertriacylglycerolemií. Tento jev je vysvětlován jednak vzestupem VLDL v důsledku vzestupu jaterní lipogeneze, a také snížením clearance TAG. Příčinou vzestupu jaterní lipogeneze je působení cytokinů TNF- α a IL-6 [18], při kterém dochází k přesměrování metabolismu mastných kyselin, vzestupu malonyl CoA a inhibici karnitin-acyltransferázy I, která je nezbytná pro vstup vyšších mastných kyselin do mitochondrií [32]. Část mastných kyselin je reesterifikována za vzniku TAG, které jsou uvolňovány do krevního oběhu ve formě lipoproteinů, především VLDL [33]. Na vzestupu TAG v plasmě se může navíc spolupodílet inhibiční vliv prozánětlivých cytokinů na lipoproteinovou lipázu (LPL) [34] a aktivace hormon senzitivní lipázy (HSL), jejímž působením dochází k mobilizaci volných mastných kyselin z tukové tkáně do krevního oběhu. Ve studii byl zaznamenán statisticky významný pokles koncentrace TAG první den po operaci v kardiochirurgické skupině s postupnou normalizací bez toho, aby plasmatické koncentrace TAG přesáhly předepsanou normu. TAG ve skupině polytraumat měly trendově vzestupnou tendenci a na konci sledovaného období dosáhly horní hranice normy. Nicméně zde je potřeba podotknout, že hladiny TAG v této skupině mohly být do jisté míry modifikovány aplikací parenterální výživy s tukovými emulzemi. Vzhledem k předpokladu tohoto fenoménu jsme se snažili předejít tomuto zkreslení tím, že jsme v odběrovém protokolu studie u těchto nemocných ponechali 60 min „vyčeřovací wash out“ (přerušení aplikace parenterální výživy) před vlastním odběrem krve. Ve studii nebyla používána žádná liposolubilní konkomitantní terapie, která by ovlivnila konečné hladiny TAG. Význam literárně popisované hypertriacylglycerolemie není znám, nicméně v současnosti se doporučuje přísná monitorace hladiny TAG a v případě vzestupu její hladiny snížení dodávky tukových emulzí v parenterální výživě nebo liposolubilních medikamentů.

Cholesterol je základním stavebním kamenem v tvorbě stresových hormonů (kortizolu). Tyto jsou tvořeny v nadledvinkách, které však nemohou ve větší míře skladovat kortizol. Proto při zvýšené potřebě nadledvinkových hormonů při zátěži organismu dochází ke stimulaci kůry nadledvin vyplaveným ACTH (adrenokortikotropní hormon). Během stresu je cholesterol z 80% dominantním donorem substrátu pro tvorbu kortizolu, zbývajících 20% je syntetizováno in situ z acetátu a ostatních prekurzorů [43]. Navíc se na základě výsledků experimentálních studií zdá, že HDL je preferovaným cholesterolovým zdrojem steroidogenního substrátu v nadledvinkách [46]. Předpokládá se, že pokles substrátu pro syntézu kortizolu v době zvýšené poptávky vede k rozvoji nadledvinkové insuficience [74]. Ve studii nebyla nalezena ani absolutní, ani relativní nadledvinková insuficience. K rozvoji nadledvinkové insuficience bude pravděpodobně zapotřebí hlubšího poklesu v hladinách celkového a HDL cholesterolu, jak naznačují práce některých autorů [46]. Jako diskriminační hodnotu celkového plasmatického cholesterolu pro rozvoj nadledvinkové insuficience lze považovat hodnotu kolem 2,5 mmol/l. Nicméně může existovat ještě další vysvětlení toho, proč nebyla nadledvinková insuficience

prokázána. Ve studii byl použit běžně užívaný zkrácený ACTH test s aplikací 250 ug Synactenu, kde jako diagnostické kritérium pro nadledvinkovou insuficienci je buď hodnota kortizolu po stimulaci nižší než 180 µg/L, nebo vzestup hladiny kortizolu (tzv. delta kortizol) po stimulaci o méně než 90 µg/L. Tato kritéria jsou však původně určena pro nestresované nemocné. Ukazuje se, že běžné hladiny kortizolu u kriticky nemocných jsou kolem 250 µg/L. Navíc je dávka 250 µg ACTH supranormální (přesahuje 100 násobně maximální stresovou hladinu ACTH) [44] a může převyšovat nadledvinkovou rezistenci k ACTH. To znamená, že nemocný s normální odpovědí na supranormální dávku ACTH může po normální stresové dávce ACTH mít projev nadledvinkové insuficience [45]. Z tohoto důvodu někteří autoři používají k diagnostice nadledvinkové insuficience nízkodávkované ACTH testy, kde se podává dávka 1 nebo 2 µg ACTH [45,75]. Tyto studie dokazují, že senzitivita nízkodávkovaného ACTH testu je vyšší než vysokodávkovaného. Navíc někteří autoři zpochybňují užitečnost kritéria delta kortizolu k stanovení nadledvinkové insuficience s odkazem na to, že nemocný ve stresu má maximálně vystimulovanou produkci kortizolu a supranormální stimulace ACTH tedy nemění funkci nadledvinek, ale nadledvinkovou rezervu [44]. Z uvedeného vyplývá, že je pravděpodobné, že při použití nízkodávkovaného ACTH testu by byla prokázána nadledvinková insuficience také u prezentovaného souboru nemocných.

Zcela nový a zajímavý se jeví vztah produkce kortikoidů ve stresu a hladiny TAG. V tomto smyslu byla ve studii nalezena statisticky významná negativní korelace v obou sledovaných skupinách. Zdá se, že vysvětlení tohoto nálezu lze najít přes Lipin 1. Tento sehrává klíčovou roli v metabolismu lipidů v tukové tkáni, příčně pruhovaných svalech a játrech. Jeho fyziologickou úlohu zahrnují dvě buněčné funkce: regulace aktivity fosfatidát fosfatázy a regulace oxidace mastných kyselin. Expresce lipin 1 genu (LPIN1) je řízena buněčnými steroly [76]. Lipin 1 má důležité jaderné a nejaderné funkce, které vedou k regulaci lipidů a energetického metabolismu. V cytosolu Lipin 1 sehrává roli jako Mg^{2+} - dependentní PAP1 (phosphatidate phosphatase type 1), který katalyzuje klíčový krok v syntéze triacylglycerolů [77-79]. PAP1 přeměňuje fosfatidát na diacylglycerol, který je přímým prekurzorem triacylglyceridů a fosfolipidů. V buněčném jádře sehrává Lipin 1 roli coby koaktivátor transkripce jeho přímou interakcí s peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) koaktivátor-1 α (PGC-1 α). Lipin 1 také zvyšuje mitochondriální oxidaci mastných kyselin cestou zvýšení exprese PPAR α [80]. Glukokortikoidy stimulují indukci exprese Lipin 1 v adipocytech a současně glucocorticoid response element (GRE) v LPIN1 promotoru se váže na glukokortikoidní receptor a vede k transkripční aktivaci v adipocytech a hepatocytech. Navíc na biosyntéze mastných kyselin a cholesterolu se současně podílí jako regulační prvky sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs) [3,81-82]. Dva rozdílné geny SREBP-1 a SREBP-2, kódují tři SREBP isoformy (SREBP- 1a, SREBP-1c a SREBP-2) [3,81,83]. Všechny SREBPs jsou syntetizovány jako transkripčně inaktivní prekurzory. SREBP-1a a SREBP-1c jsou převážně zapojeny do lipogeneze, zatímco SREBP-2 je převážně zapojen do syntézy cholesterolu.[3, 81-82].

8. ZÁVĚRY

Závěrem lze říci, že cholesterol se jeví v klinicky závažných stavech jako podmíněně esenciální nutriční. V rámci řešeného projektu byl nalezen v obou testovaných skupinách statisticky významný pokles celkového, LDL i HDL cholesterolu, a to bez výjimky.

Byla potvrzena kauzální souvislost prozánětlivého cytokinu typu IL-6 na plasmatické hladiny celkového, LDL a HDL cholesterolu. Vysvětlením prudkého poklesu v plasmatických hladinách celkového cholesterolu může být mimo jiné suprese endogenní syntézy cholesterolu. Intenzita endogenní syntézy cholesterolu je závislá na tíži onemocnění. Nižší hladiny lathosterolu a poměru lathosterol/cholesterol (jako markeru endogenní syntézy cholesterolu) byly spojeny s vyšším APACHE II. Ačkoliv v práci nebyla prokázána porucha syntézy stresových nadledvinkových hormonů (kortizolu), lze na základě nalezených výsledků vyvozovat souvislost mezi mírou endogenní syntézy cholesterolu a syntézou nadledvinkových hormonů.

Za jeden z velmi cenných výsledků studie lze považovat nález suprese baktericidní schopnosti granulocytů. Současně byla prokázána závislost této baktericidní schopnosti granulocytů na míře endogenní syntézy cholesterolu. Tento nález plně zapadá a rozšiřuje koncept vztahu hypocholesterolemie se zvýšenou incidencí infekčních komplikací u nemocných v akutním stavu, což bylo mimo jiné prokázáno taktéž v souvislosti s vyšším výskytem infekčních komplikací ve skupině polytraumatizovaných nemocných.

Cholesterol lze považovat za podmíněně nepostradatelnou složku výživy pro nemocné vystavené mimořádnému stresovému zatížení. Z hlediska terapeutického je hypocholesterolemie předmětem výzkumu. Doposud lze klinicky závažnou hypocholesterolemii u akutních stavů ovlivnit těsnou kontrolou glykemie, která byla prokázána jako jeden z faktorů vedoucích ke zvýšení hladin HDL a LDL cholesterolu. Další běžně dostupnou léčebnou alternativou ovlivnění hypocholesterolemie představuje časná enterální výživa, která příznivě ovlivňuje hladiny HDL cholesterolu. Včasná enterální podávání cholesterolu nebylo zatím realizováno, i když tento typ nutriční podpory v akutních stavech je v současné době předmětem výzkumu. Jinou formou suplementace cholesterolu u nemocných v akutních stavech by mohlo být obohacení tukových emulzí pro parenterální výživu. Přestože bylo experimentálně v této oblasti dosaženo některých pozoruhodných výsledků, zůstává tato možnost zatím v rovině experimentální terapie.

9. LITERATURA

- 1) Altmann SW, Davis HR, Zhu I, et al. Niemann-Pick C1 Like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption. *Scien* 2004; 303: 1201-4
- 2) Gibbons GF, Mitropoulos KA, Myant NB: *Biochemistry of cholesterol*. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam-New York-Oxford, 1982
- 3) Horton JD, Goldstein JL, Brown MS. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J Clin Invest* 2002; 109: 1125-31
- 4) Kuksis A. Plasma non-cholesterol sterols. *J Chromatograph* 2001; 935: 203-36
- 5) Schrick L, Fujioka S, Takatsuto S, et al. A link between sterol biosynthesis, the cell wall, and the cellulose in *Aribidopsis*. *Plant J* 2004; 38: 227-43
- 6) Wilund KR, Yu L, Xu F, et al. Plant sterol levels are not associated with atherosclerosis in mice and men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 2326–32
- 7) Miettinen TA, Tilvis RS, Kesämiemi YA. Serum plant sterols and cholesterol precursors reflect cholesterol absorption and synthesis in volunteers of a randomly selected male population. *Am J Epidemiol* 1990; 13: 20–31
- 8) Goichot B, Schlienger JL, Grunenberger F, et al. Low cholesterol concentrations in free-living elderly subjects: Relations with dietary intake and nutritional status. *Am J Clin Nutr.* 1995; 62 (3): 547
- 9) Alvarez C, Ramos A. Lipids, lipoproteins and apoproteins in serum during infection. *Clin Chem* 1986; 32:142-5
- 10) Elliot DC, Wiles SE. Low lipid concentrations in critical illness: hypocholesterolemia among trauma patients. *Crit Care Med* 1997; 25: 1437-9
- 11) Gui D, Spada PL, De Gaetano A, et al. Hypocholesterolemie and risk of death in the critically ill surgical patient. *Int Care Med* 1996; 2: 790-4
- 12) Giovannini I, Boldrini G, Chiarla C et al: Pathophysiologic correlates of hypocholesterolemia in critically ill surgical patients. *Int Care Med* 1999; 25: 748-51
- 13) Marik PE. Dyslipidemia in the critically ill. *Crit Care Clin* 2006; 22: 151-9
- 14) Bakalar B, Zadak Z, Pacht J. Severe hypocholesterolemia is associated with adrenal insufficiency in multiple trauma patients. *Int Care Med* 2001; 27(S2): 253
- 15) Murch O, Collin M, Hinds CJ, et al. Lipoproteins in inflammation and sepsis. I. Basic science. *Int Care Med* 2007; 33: 13-24
- 16) Wendel M, Paul R, Heller A. Lipoproteins in inflammation and sepsis. II. Clinical aspects. *Int Care Med* 2007; 33: 25-35
- 17) Moran CS, Campbell JH, Campbell GR. Human leukemia inhibitory factor upregulates LDL receptors on liver cells and decreases serum cholesterol in the cholesterol-fed rabbit. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 1267-73
- 18) Feingold KR, Soued M, Adi S, et al. Tumor necrosis factor increased hepatic very-low-density lipoprotein production and increased serum triglyceride levels in diabetic rats. *Diabet* 1990; 39: 1569-74
- 19) Ney DM, Yang H, River J, Lasekan JB. Total parenteral nutrition containing medium vs. long chain triglyceride emulsions elevates plasma cholesterol concentrations in rats. *J Nutr* 1993; 123: 883-92
- 20) Havel E, Sobotka L, Maňák J, et al. Význam enterální výživy v léčbě kriticky nemocných. *Anest Intensiv Med* 2001; 12(1): 37-42
- 21) Coombes EJ, Shakespeare PG, Batstone GF. Lipoprotein changes after burn injury in man. *J Traum* 1980; 20: 971-5
- 22) Hrnčiarikova D, Hyspler R, Vyroubal P, et al. Serum lipids and neopterin in urine as new biomarkers of malnutrition and inflammation in the elderly. *Nutrit* 2009; 25(3): 303-8

- 23) Chiarla C; Giovannini I, Siegel JH, et al. Relationship of plasma cholesterol to doses of branch-chain amino acids in sepsis. *Crit Care Med* 1990; 18: 32-6
- 24) Sato M, Nagao K, Sakono M, et al. Low protein diets posttranscriptionally repress apolipoprotein B expression in rat liver. *J Nutr Biochem* 1996; 7: 381-5
- 25) Chiarla C; Giovannini I, Boldrini G, et al. The influence of amino acid load and energy expenditure on plasma cholesterol levels in sepsis. *Acta Med Rom* 1989; 27: 166-70
- 26) Casiglia E; Mazza A, Tikhonoff W, et al. Total cholesterol and mortality in the elderly. *J Intern Med* 2003; 254: 353-62
- 27) Atac B, Brahaj D, Frishman WH, et al. Anemia and hypocholesterolemia. *Heart dis* 2003; 5: 65-71
- 28) Mülder M, Lombardi P, Jansen H, et al. Low density lipoprotein receptor internalizes low density and very low density lipoproteins that are bound to heparan sulphate proteoglycans via lipoprotein lipase. *J Biol Chem* 1993; 268: 9369-75
- 29) Cooper AD, Akdeniz A, Hardy KJ. Effects of liver transplantation and resection on lipid parameters. A longitudinal study. *Aust N Z J Surg* 1996; 66: 743-6
- 30) Feingold KRI, Staprans RA, Memon AH, et al. Endotoxin rapidly induces changes in lipid metabolism that produce hypertriglyceridemia: low doses stimulate hepatic triglyceride production while high doses inhibit clearance. *J Lipid Res* 1992; 33: 1765-76
- 31) Van Leeuwen HJ, Heezius ECJM, Dallinga GM, et al. Lipoprotein metabolism in patients with severe sepsis. *Crit Care Med* 2003; 31: 1359-66
- 32) Beylot M, Vidal H, Mithieux G, et al. Inhibition of hepatic ketogenesis by tumor necrosis factor - α in rats. *Am J Physiol* 1992; 263: E897-E902
- 33) Pailla K, El-Mir MY, Cynober L, et al. Cytokine – mediated inhibition of ketogenesis is unrelated to nitric oxide or protein synthesis. *Clin Nutr* 2001; 20: 313-7
- 34) Mead JR, Irvine SA, Ramji DP. Lipoprotein lipase: structure, function, regulation, and role in disease. *J Mol Med* 2003; 80: 753-69
- 35) Chiarla C, Giovannini I, Giuliante F, et al. Severe hypocholesterolemia in surgical patients, sepsis and critical illness. *J Crit Care* 2010; 25(2): 361-7
- 36) Freudenberg MA, Bog-Hansen TC, Back U, et al. Interaction of lipopolysaccharides with plasma high density lipoprotein in rats. *Infect Immun* 1980; 28: 373-80
- 37) Harris HW, Grunfeld C, Feingold KR, et al: Chylomicrons alter the fate of endotoxin, decreasing tumor necrosis factor release and preventing death. *J Clin Invest* 1993; 97: 1028-34
- 38) Hudgins LC, Parker TS, Levine DM, et al. A single intravenous dose of endotoxin rapidly alters serum lipoproteins and lipid transfer proteins in normal volunteers. *J Lipid Research* 2003; 44: 1489-98
- 39) Levine DM, Parker TS, Donnelly TM, et al: In vivo protection against endotoxin by plasma high density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 12040-4
- 40) Von Erckardstein A, Hersberger M, Rohrer L. Current understanding of the metabolism and biological actions of HDL. *Cur Opin Clin Nutr Metab Care* 2005; 8: 147-52
- 41) Hubsch AP, Casas AT, Doran JE. Protective effects of reconstituted high-density lipoprotein in rabbit gram-negative bacteremia models. *J Lab Clin Med* 1995; 126: 548-58
- 42) Pakjrt D, Doran JE, Koster F, et al. Antiinflammatory effect of reconstituted high-density lipoprotein during human endotoxemia. *J Exp Med* 1996; 184: 1601-8
- 43) Borkowski AJ, Levin S, Delcroix C, et al. Blood cholesterol and hydrocortisone production in man: quantitative aspects of the utilization of circulating cholesterol by

- the adrenals at rest and under adrenocorticotropin stimulation. *J Clin Invest* 1967; 46: 797-811
- 44) Marik PE, Zaloga GP. Adrenal insufficiency in the critically ill: a new look at an old problem. *Chest* 2002; 122: 1784-96
 - 45) Marik PE, Zaloga GP. Adrenal insufficiency during septic shock. *Crit Care Med* 2003; 31: 141-5
 - 46) Van der Voort PHJ, Gerritsen RT, Bakker AJ, et al. HDL-cholesterol level and cortisol response to synacthen in critically ill patients. *Int Car Med* 2003; 29: 2199-203
 - 47) Widimský J, Juráň F, Vaněk P, et al. Výrazné zlepšení stavu kardiovaskulární farmakoterapie u nemocných po infarktu myokardu /a/nebo revaskularizaci myokardu v roce 1999/2000 v ČR oproti stavu v roce 1995. *Cor Vasa* 2001;43: 34-40
 - 48) Zadák Z. Výživa v intenzivní péči. 2002. In: Grada Publishing a.s. ISBN 80-247-0320-3
 - 49) Druml W, Fischer M. Cholesterol improves the utilization of parenteral lipid emulsion. *Wien Klin Wochenschr* 2003;115 (21-22): 767-74
 - 50) Brass EP, Vetter HV. Interleukin-6, but not tumor necrosis factor - α , increases lipogenesis in rat hepatocyte primary cultures. *Biochem J* 1994; 301:193-7
 - 51) Bjorkhem I, Miettinen T, Reihner E, et al. Correlation between serum levels of some cholesterol precursors and activity of HMGCoA reductase in human liver. *J Lipid Res* 1987; 28: 1137-43
 - 52) Liu GCK, Ahrens EH, Schreiberman PH, et al. Measurement of squalene in human tissues and plasma: validation and application. *J Lipid Res* 1976; 17: 38-45
 - 53) Ettinger WH, Varma VK, Sorci-Thomas M et al. Cytokines decrease apolipoprotein accumulation in medium from Hep G2 cells. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 8-13
 - 54) Chiarla C; Giovannini I, Siegel JH, et al. The relationship between plasma cholesterol, amino acid and acute phase proteins in sepsis. *Amino Acid* 2004; 27: 97-100
 - 55) Chiarla C, Giovannini I, Giuliante F, et al. Severe hypocholesterolemia in surgical patients, sepsis and critical illness. *J Crit Care* 2010; 25(2): 361-7
 - 56) Špinarová L, Vítovec J. Současné postavení pravastatinu v hypolipidemické léčbě. *Kardiol Rev* 2010; 12(3): 138-42
 - 57) Blanco-Colio LM, Tunon J, Martin-Ventura JL, et al. Antiinflammatory and immunomodulatory effect of statins. *Kidney Int* 2003; 63: 12-23
 - 58) Novack V, Terblanche M, Almog Y. Do statins have a role in preventing or treating sepsis? *Crit Care* 2006; 10(1): 113
 - 59) Almog Y, Shefer A, Novack V, et al. Prior statin therapy is associated with a decreased rate of severe sepsis. *Circul* 2004; 110: 880-5
 - 60) Delgado-Rodrigues M, Medina-Cuadros M, Martinez-Gallego G, et al. Total cholesterol, HDL cholesterol and risk of nosocomial infection: a prospective study in surgical patients. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997; 18: 9-18
 - 61) Tietge UJ, Maugeais C, Cain W, et al. Overexpression of secretory phospholipase A2 caused rapid catabolism and altered tissue uptake of high-density lipoprotein cholesterol ester and lipoprotein A-1. *J Biol Chem* 2000; 275: 10077-84
 - 62) Van Amersfoort ES, Van Berkel TJ, Kuiper J. Receptors, mediators, and mechanisms involved in bacterial sepsis and septic shock. *Clin Microbiol Rev* 2003;16(3): 379-414
 - 63) Vesey CJ, Kitchens RL, Wolfbauer G, et al. Lipopolysaccharide-binding protein and phospholipid transfer protein release lipopolysaccharides from Gram-negative bacterial membranes. *Infect Immun* 2000; 68: 2410-7
 - 64) Goldfarb RD, Parker TS, Levine DM, et al. Protein-free phospholipid emulsion treatment improved cardiopulmonary function and survival in porcine sepsis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2003; 284: R550-R7

- 65) Park SH, Park JH, Kang JS, et al. Involvement of transcription factors in plasma HDL protection against TNF-alpha-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35: 168-82
- 66) Cockerill GW, Rye KA, Gamble JR, et al. High-density lipoproteins inhibit cytokine-induced expression of endothelial cell adhesion molecules. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 1987-94
- 67) Diebolt BA, Bhagavan NV, Guillory RJ. Influences of lovastatin administration on the respiratory burst of leukocytes and the phosphorylation potential of mitochondria in quinea pigs. *Biochim et Biophys Acta* 1994; 1200: 100-8
- 68) Fernanda B. Araujo, Décio S. Barbosa, Chang Y. Hsin, et al. Evaluation of oxidative stress in patients with hyperlipidemia. *Atheroscler* 1995; 117(1): 61-71
- 69) Couderc R, Bonneau C, Tissot M, et al. Effects of plasma lipoproteins on the production of superoxide anion by human polymorphonuclear leukocytes in vitro. *Biofact* 1997; 6(2): 157-63
- 70) Real JT, Martínez-Hervás S, Tormos MC, et al. Increased oxidative stress levels and normal antioxidant enzyme activity in circulating mononuclear cells from patients of familial hypercholesterolemia. *Metabol* 2010; 59(2): 293-8
- 71) Cogy A, Paul JL, Atger V, et al. Structural changes of high-density-lipoprotein apolipoproteins following incubation with human polymorphonuclear cells. *Eur J Biochem* 1994; 222(3): 965-73
- 72) Bandoh T, Sato EF, Mitani H, et al. Antioxidative potential of fluvastatin via the inhibition of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase activity. *Biol Pharm Bull* 2003; 26(6): 818-22
- 73) Seres I, Foris G, Páll D, et al. Angiotensin II-induced oxidative burst is fluvastatin sensitive in neutrophils of patients with hypercholesterolemia. *Metabol* 2005; 54(9): 1147-54
- 74) Zaloga GP. Sepsis-induced adrenal deficiency syndrome. *Crit Care Med* 2001; 29: 688-90
- 75) Mayenknecht J, Diederich S, Bahr V, et al. Comparison of low and high dose corticotropin stimulation tests in patients with pituitary disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 1558-62
- 76) Ishimoto K, Nakamura H, Tachibana K, et al. Sterol-mediated regulation of human lipin 1 gene expression in hepatoblastoma cells. *J Biol Chem* 2009; 284(33): 22195-205
- 77) Han GS, Wu WI, Carman GM. The *Saccharomyces cerevisiae* Lipin homolog is a Mg²⁺-dependent phosphatidate phosphatase enzyme. *J Biol Chem* 2006; 281(14): 9210-8
- 78) Donkor J, Sariahmetoglu M, Dewald J, et al. Three mammalian lipins act as phosphatidate phosphatases with distinct tissue expression patterns. *J Biol Chem* 2007; 282(6): 3450-7
- 79) Harris TE, Huffman TA, Chi A, et al. Insulin controls subcellular localization and multisite phosphorylation of the phosphatidic acid phosphatase, lipin 1. *J Biol Chem* 2007; 282 (1): 277-86
- 80) Finck BN, Gropler MC, Chen Z, et al. Lipin 1 is an inducible amplifier of the hepatic PGC-1alpha/PPARalpha regulatory pathway. *Cell Metab* 2006; 4(3): 199-210
- 81) Rawson RB. The SREBP pathway - insight from *Insigs* and insects. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003; 4: 631-40
- 82) Brown MS, Goldstein JL. A proteolytic pathway that controls the cholesterol content of membranes, cells and blood. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96, 11041-8

83) Horton JD. Sterol regulatory element-binding proteins: transcriptional activators of lipid synthesis. *Biochem Soc Trans* 2002; 30: 1091–5

10. PUBLIKAČNÍ A PŘEDNÁŠKOVÁ AKTIVITA

Publikace:

1. **Vyroubal P**, Chiarla C, Giovannini I, Hyšpler R, Tichá A, Hrnčiariková D, Zadák Z. Hypocholesterolemia in clinically serious conditions – review. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2008; 152(2): 181-9. ISSN: 1213-8118
2. **Vyroubal P**, Zadák Z, Hyspler R, et al. Syntéza sterolů v průběhu polytraumatu. *Voj Zdrav List* 2009; 4: 135–42. ISSN: 0372-7025.
3. **Vyroubal P**, Hyšpler R, Tichá A, Samek J, Cerman J, Havel E, Bajnárek J, Zadák Z. Porucha syntézy cholesterolu a jeho prekurzorů u klinicky závažných stavů. Přijato k publikaci *Vnitr Lek* 2011; 57(5):
4. Hrnčiarikova D, Hyspler R, **Vyroubal P**, Klemera P, Hronek M, Zadák Z. Serum lipids and neopterin in urine as new biomarkers of malnutrition and inflammation in the elderly. *Nutrit* 2009; 25(3): 303-308 *IF 2009 2.604*
5. **Vyroubal P**, Zadák Z. Poruchy syntézy cholesterolu a jeho deplece – klinické důsledky a možnosti jeho léčebného ovlivnění v intenzivní péči. Závěrečná zpráva grantového projektu Interní grantové agentury Ministerstva zdravotnictví ČR. Registrační číslo NR 8921-3
6. Bláha V, Solichová D, Černohorský D, **Vyroubal P**, Zadák Z. Bioanalysis of PUFA metabolism and lipid peroxidation in coronary atherosclerosis. *J Pharm Biomed Anal* 2000; 22(3): 563-72
7. Bláha M, Zadák Z, Bláha V, Havel E, Pivokonská M, **Vyroubal P**, Malý J, Žák P. LDL-Apheresis and Other Methods of Extracorporeal Elimination of Lipoproteins. *Transfuzie a hematol dnes* 2000; 6(1): 18-22
8. **Vyroubal P**, Zadák Z. Umělá výživa v klinické praxi. Část 2, Nutriční podpora. *FONS* 2009; 19(2): 26-32. ISSN: 1211-7137.
9. **Vyroubal P**, Zadák Z. Umělá výživa v klinické praxi. Část 1, Hodnocení nutričního stavu. *FONS* 2009; 19 (1): 29-34. ISSN: 1211-7137
10. Zadák Z, **Vyroubal P**. Pokroky umělé výživy v intenzivní péči – orgánově specifické substráty. *Anest Intenziv Med* 2008; 19 (1): 62-5. ISSN: 1214-2158.
11. Havel E, Sobotka L, Bedrna J, Hladík P, Manak J, Bláha V, Adámek P, **Vyroubal P**, Zadák Z. Cholestatický ikterus na parenterální výživě a léčebný vliv enterální aplikace – kazuistika. *Vnitr Lek* 2003; 49(8): 684-8. ISSN: 0042-773X
12. Zajíc J, Nerad V, **Vyroubal P**. Ischemická choroba srdeční ve vyšší věku. *Čes Ger Rev* 2006; 4 (2): 96–101. ISSN: 1214-0732
13. Krajina A, Rösch J, Lojík M, Raupach J, Chovanec V, Rejchrt S, **Vyroubal P**. Angiographic diagnosis and endovascular treatment of gastrointestinal bleeding. *Ces Radiol* 2007; 61(2): 123–8
14. Sobotka L, Maňák J, **Vyroubal P**, Bajnárek J, Mottl R, Fric M, Bláha V. Komplexní léčba abdominálních katastrof. *Interní Med* 2008; 10 (6): 291–4 ISSN: 1212-7299
15. Bláha M, Zadák Z, Bláha V, Pivokonská M, **Vyroubal P**, Malý J, Žák P. LDL-apheresis and other methods of extracorporeal elimination of lipoproteins. (State of art). *Transfuzie hematol dnes* 2000; 6 (1): 18-22. ISSN: 1212-9887
16. Bláha V, Zadák Z, Bláha M, Havel E, **Vyroubal P**, Malý J. LDL-aferéza: historie a současná praxe v České republice. *Kap z Kardiol* 2001; 3 (2): 72-5. ISSN: 1212-5342
17. Cermanová M, Bláha M, Bláha V, Havel E, **Vyroubal P**, Zadák Z, Blažek M, Malý J. LDL-aferéza - zhodnocení výsledků 1000 provedených procedur. *Transfuzie hematol dnes* 2005; 11 (3): 116-21. ISSN: 1213-5763

18. Bláha V, Bláha M, Hyspler R, Havel E, **Vyroubal P**, Žadánský P, Zadák Z, Solichová D. Interrelationship between fatty acid composition, lipid peroxidation and alpha-tocopherol consumption post-LDL-apheresis treatment evaluated by liquid chromatography and gas chromatography. *Anal Chim Acta* 2002; 467 (1/2): 125-32. ISSN: 0003-2670
19. Bajnárek J, Maňák J, **Vyroubal P**, Hyšpler R, Sobotka L. Modifikuje těžké onemocnění vliv parenterální výživy na energetický metabolismus? *Klin biochem metabol* 2009; 17/38 (4): 245-51. ISSN: 1210-7921.
20. Bláha M, Zadák Z, Bláha V, **Vyroubal P**, Havel E, Malý J, Blažek M, Cermanová M, Jebavý L. Extrakorporální eliminace lipoproteinů (čtvrt století léčby). *Vnitr Lek* 2007; 53 (12): 1361-2. ISSN: 0042-773X
21. Bláha M, Zadák Z, Bláha V, Andrys C, Havel E, **Vyroubal P**, Blažek M, Filip S, Lánská M, Malý J. Extracorporeal LDL-cholesterol elimination (25 years of experience in CZ). *Atheroscler Suppl* 2009; 10 (5): 17-20

Abstrakta:

- 1) **Vyroubal P**, Zadák Z, Hyšpler R, Tichá A, Cerman J, Havel E, Samek J, Mottl R, Maňák J, Fric M. Porucha syntézy cholesterolu a jeho deplece u klinicky závažných stavů. Abstrakt. *Anest Intenziv Med* 2008; 19 (5): 288-9. ISSN: 1214-2158
- 2) **Vyroubal P**, Zadák Z, Hyšpler R, Tichá A, Cerman J, Havel E, Samek J, Mottl R, Maňák J, Fric M. Poruchy syntézy cholesterolu a jeho deplece u klinicky závažných stavů – Abstrakt. Sborník abstraktů a přednášek II. česko-slovenský kongres intenzivní medicíny 4.6.6.2008 Plzeň. ISBN 978-80-7177-004-6
- 3) Hyspler R, Tichá A, **Vyroubal P**, Zadák Z. The relationship of cholesterol metabolism and selected inflammatory parameters in critical care. Poster. 30th Congress of ESPEN, Florence, Italy 13-16 September 2008. *Clin Nutr Suppl* 2008; 3(1): 218-9. ISSN 1744-1161
- 4) **Vyroubal P**, Zadák Z, Hyšplár R, Tichá A, Havel E, Samek J. Disturbances of synthesis of cholesterol in intensive care. Abstract. *Acta Med* 2007; 50(1): 89-90. ISSN 1211-4286
- 5) **Vyroubal P**, Zadák Z, Hyšplár R, Tichá A, Havel E, Samek J. Disturbances of synthesis of cholesterol in intensive care. Abstract. *Acta Med* 2008; 51(1): 91. ISSN 1211-4286
- 6) **Vyroubal P**, Samek J, Hyšpler R, Tichá A, Zadák Z. Disturbances of synthesis of cholesterol and its depletion in cardiosurgical patients. Abstract. *Acta Med* 2009; 52(1): 53 ISSN 1211-4286
- 7) **Vyroubal P**, Maňák J, Mottl R, Fric M, Bajnárek J, Šitina M, Sobotka L. Postantibiotická dysmikrobie - méně obvyklý průběh onemocnění. Sborník abstraktů a přednášek I. česko-slovenský kongres intenzivní medicíny 1. vyd.. Praha : Galén, 2007. s. 32-33. ISBN: 978-80-7262-510-9 (brož.).
- 8) Fric M, **Vyroubal P**, Mottl R, Bajnárek J, Šitina M, Maňák J. Sepse - podceňovaný problém v geriatrii? Praha : ARS print, 2008. ISBN: 978-80-254-3306-5 (brož.). 44.
- 9) Bajnárek J, **Vyroubal P**, Maňák J, Sobotka L. Modifikuje těžké onemocnění vliv parenterální výživy na energetický metabolismus? . *Anest Intenziv Med* 2009; 20 (5): 276. ISSN: 1214-2158
- 10) Bláha V, **Vyroubal P**, Solichová D, Hyšpler R, Žďánský P, Zadák Z, Bláha M, Tichá A, Havel E. The performance of LDL-apheresis and its impact upon inflammation and endothelial dysfunction. *Acta Med* 2007; 50 (1): 63-4. ISSN: 1211-4286.

- 11) Bláha V, **Vyroubal P**, Solichová D, Hyšplár R, Ždánský P, Zadák Z, Bláha M. Cholesterol absorption and biosynthesis of hypercholesterolemic subjects treated by LDL-apheresis. *Acta Med* 2003; 46 (2): 41. ISSN: 1211-4286
- 12) Bláha V, Solichová D, Hyšplár R, Ždánský P, Zadák Z, Bláha M, Tichá A, Havel E, **Vyroubal P**. Macrophage activation, endothelial dysfunction and inflammation during the treatment by LDL-apheresis. *Acta Med* 2006; 49 (2): 134. ISSN: 1211-4286
- 13) Bajnárek J, **Vyroubal P**, Maňák J, Hyšplár R, Sobotka L. The influence of severe illness on the thermic effect of parenteral nutrition and energy substrate oxidation. *Acta med* 2009; 52 (1): 31. ISSN: 1211-4286
- 14) Bajnárek J, **Vyroubal P**, Maňák J, Sobotka L. Modifikuje těžké onemocnění vliv parenterální výživy na energetický metabolismus? *Anest Intenziv Med* 2009; 20 (5): 276. ISSN: 1214-2158
- 15) Bajnárek J, Maňák J, **Vyroubal P**, Mottl R, Fric M, Sobotka L. The influence of the disease severity on the thermic effect of nutrition and energy substrates oxidation. *Acta Med* 2008; 51 (1): 65. ISSN: 1211-4286
- 16) Koblížek V, Fric M, Maňák J, Polák J, Salajka F, Sedlák V, **Vyroubal P**. Waldmannova choroba z pohledu bronchologa. *Respir* 2007; 13 (1): 20. ISSN: 1211-572X
- 17) Krajina A, Lojík M, Raupach J, Chovanec V, Rejchrt S, **Vyroubal P**. Endovaskulární léčba při arteriálním krvácení do GIT. *Čes Radiol* 2007; 61 (2): 196-7. ISSN: 1210-7883
- 18) Bláha V, Havel E, Bláha M, Solichová D, **Vyroubal P**, Hyšplár R, Blažek M, Zajíc J, Zadák Z. Ezetimib, statin a LDL-aféze v kombinované léčbě pacientů se závažnou hypercholesterolemií. *Vnitr Lek* 2006; 52 (12): 1215-6. ISSN: 0042-773X; 1801-7592
- 19) Bláha V, Hyšplár R, Bláha M, Tichá A, Havel E, **Vyroubal P**, Zadák Z. Changes of cholesterol metabolism during treatment with LDL-apheresis. *Diabetol metab endokrinol výživ* 2003; 6 (3): 36. ISSN: 1211-9326; 1212-6853
- 20) Bláha V, Solichová D, Černohorský D, Hyšplár R, **Vyroubal P**, Musil F, Zadák Z. Význam změn spektra mastných kyselin v plazmě, lipoproteinech a erytrocytární membráně u seniorů s ischemickou chorobou srdeční. *Diabetol metab endokrinol výživ* 2004; 7 (3): 27. ISSN: 1211-9326; 1212-6853
- 21) Bláha V, Černohorský D, Solichová D, Hyšplár R, Ždánský P, **Vyroubal P**, Zadák Z. Biomarkers of risk from stable coronary atherosclerosis. *Acta Med* 2004; 47 (2): 68-9. ISSN: 1211-4286
- 22) Bláha V, Černohorský D, Solichová D, Hyšplár R, Ždánský P, **Vyroubal P**, Zadák Z. Lipoperoxides, alpha-tocopherol and fatty acids as biomarkers of risk from coronary atherosclerosis. *Acta Med* 2003; 46 (2): 41. ISSN: 1211-4286
- 23) Hubáček J, Bláha M, Bohuslavová R, Bláha V, **Vyroubal P**, Havel E, Zadák Z. Heterozygotní mutace v genu pro ABCG5 transportér u pacienta se sitosterolemií. *Diabetol metab endokrinol výživ* 2005; 8 (S3): 34. ISSN: 1211-9326; 1212-6853
- 24) Bláha V, Hyšplár R, Bláha M, Solichová D, Ždánský P, Havel E, **Vyroubal P**, Zadák Z, Malý J. Vliv agresivní hypolipidemické intervence na syntézu a absorpci cholesterolu. *Diabetol metab endokrinol výživ* 2002; 5 (3): 207-8. ISSN: 1211-9326; 1212-6853
- 25) Bláha V, Bláha M, Havel E, Solichová D, Hyšplár R, Zajíc J, Blažek M, Zadák Z, **Vyroubal P**. Combined treatment of resistant hypercholesterolemia by LDL-apheresis, statin and ezetimibe. *Cor Vasa* 2007; 49 (4): 10. ISSN: 0010-8650; 1803-7712
- 26) Bláha V, Solichová D, Bláha M, Cermanová M, Andrys C, Hyšplár R, **Vyroubal P**, Havel E, Zadák Z. Vliv extrakorporální eliminace LDL-cholesterolu na C-reaktivní protein (HSCR), sérový neopterin, endoglin a CD40 ligand (CD40L). *Cor Vasa* 2006; 48 (4): 11. ISSN: 0010-8650; 1803-7712

Přednášky:

- 1) **Vyroubal P.** Metabolismus cholesterolu u kriticky nemocných. V.Česko-Slovenský kongres intenzivní medicíny, Praha 12.5.2011
- 2) **Vyroubal P.** Komplexní přístup k problematice nitrobřišních katastrof. XXVI Mezinárodní kongres SKVIMP Hradec Králové 18-20.2.2010
- 3) **Vyroubal P.** Poruchy syntézy cholesterolu a jeho deplece – klinické důsledky a možnosti jeho léčebného ovlivnění v intenzivní péči. Přednáška na XIII. Vědecké konferenci LF UK Hradec Králové a FN Hradec Králové dne 21.1.2009.
- 4) **Vyroubal P.** Dosavadní výsledky grantu metabolismu cholesterolu u polytraumat. Seminář odborné skupiny Centra pro výzkum a vývoj LF a FN Hradec Králové. 18.6.2008
- 5) Sobotka, L, Maňák J, **Vyroubal P**, Fric M. Ztráty metabolismu substrátu a jejich hrazení při kontinuálních eliminačních metodách. XXI kongres SKVIMP. Hradec Králové 4.3.2005
- 6) Maňák J, **Vyroubal P**, Fric M, Sobotka L. Alternativní antikoagulace u kontinuálních eliminačních metod XXI kongres SKVIMP. Hradec Králové 4.3.2005
- 7) **Vyroubal P.** Léčba dyslipidemií. Doporučené postupy pro praxi. Hradec Králové 21.4.2005
- 8) **Vyroubal P.** Hyperlipoproteinemie – význam v primární a sekundární prevenci aterosklerozy. Krajský seminář pro praktické lékaře, Trutnov 20.11.2001
- 9) **Vyroubal P.** Úloha LDL cholesterolu v etiopatogenezi aterosklerozy. Krajský seminář pro praktické lékaře, Hradec Králové, 23.11.2000
- 10) **Vyroubal P**, Pospíšil M, Zajíc J, Nerad V. Postavení ACE v terapii chronického srdečního selhání. Celostátní sjezd České gerontologické a geriatrické společnosti na téma“ Účelná farmakoterapie ve stáří“, Hradec Králové 25. – 26.11.1999

