

**UNIVERZITA KARLOVA**

**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

**KATEDRA BIOFYZIKY A FYZIKÁLNÍ CHEMIE**

## **DIPLOMOVÁ PRÁCE**

**Stanovení hladin mastných kyselin v tkáních  
zdravých, náhle zemřelých a polymorbidních  
pacientů**

**HRADEC KRÁLOVÉ, 2019**

**MONIKA NOVOTNÁ**

## **ABSTRAKT**

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biofyziky a fyzikální chemie

Kandidát: Monika Novotná

Vedoucí diplomové práce: Mgr. Monika Kuchařová, Ph.D.

Název diplomové práce: Stanovení hladin mastných kyselin v tkáních zdravých, náhle zemřelých a polymorbidních pacientů

Cílem diplomové práce bylo stanovit hladiny 14 mastných kyselin v tkáních náhle zemřelých, jinak zdravých jedinců a ve skupině polymorbidních, dlouhodobě nemocných pacientů. Porovnávány byly hladiny mastných kyselin v sedmi tkáních lidského organismu: subendokardiální tkáni z levé komory, tkáni z parenchymu jater, korové části ledvin, tkáni nadledvin, kosterním svaly, břišní podkožní tukové tkáni a mozkové tkáni. Do každé skupiny bylo zařazeno 10 zemřelých.

Teoretická část se věnuje mastným kyselinám, jakožto hlavní součásti lipidů. Zabývá se převážně skupinou polynenasycených mastných kyselin a jejich vztahu k patologiím v lidském organismu. Popsána je zde i plynová chromatografie, díky které jsme analyzovali spektrum mastných kyselin.

Experimentální část se skládá ze základní charakteristiky výzkumného souboru, popisu pracovního postupu a výsledků. Statisticky zpracované údaje jsou rozděleny podle jednotlivých mastných kyselin a dalších sledovaných parametrů. Souhrn statisticky významných rozdílů je zhodnocen na konci práce, ve kterém je i nastíněno vysvětlení získaných rozdílných hodnot mezi námi sledovanou skupinou zdravých jedinců a skupinou chronicky nemocných.

### **Klíčové slova**

Mastné kyseliny, esenciální mastné kyseliny, polynenasycené mastné kyseliny, omega-3 a omega-6 mastné kyseliny, plynová chromatografie

## **ABSTRACT**

Charles University

Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Biophysics and Physical Chemistry

Candidate: Monika Novotná

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

Title of Diploma Thesis: The determination of fatty acid levels in the tissues of healthy, suddenly deceased persons and polymorbid patients

The aim of the thesis was to determine the levels of 14 fatty acids in tissues of suddenly deceased, otherwise healthy individuals and in the group of polymorbid, chronic patients. It was a comparison of fatty acid levels in seven tissues of the human body: subendocardial left ventricular tissue, liver parenchyma tissue, kidney cortex, adrenal tissue, skeletal muscle, abdominal subcutaneous adipose tissue, and brain tissue. Each group included 10 deceased patients.

The theoretical part includes fatty acids as the main component of lipids. It deals mainly with the group of polyunsaturated fatty acids and their relation to pathologies in the human body. Gas chromatography, thanks to which we analyzed the fatty acid spectrum, is also described.

The experimental part consists of the basic characteristics of the research groups, the description of the workflow and the results. Statistically processed data are divided into categories by individual fatty acids and other monitored parameters. The summary of statistically significant differences is reviewed at the end of the work, which also explains different values of obtained data between the group of healthy individuals and the chronically ill group.

### **Key words:**

fatty acid, essential fatty acids, polyunsaturated fatty acids, omega-3 and omega-6 fatty acids, gas chromatography

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou vyjádřila poděkování Mgr. Monice Kuchařové, Ph.D. za její cenné rady a trpělivost při vedení mé diplomové práce. Rovněž bych chtěla poděkovat doc. MUDr. Petrovi Hejnovi, Ph.D, MBA a MUDr. Daliborovi Kovaříkovi z Ústavu soudního lékařství Lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Hradec Králové za vstřícnost a pomoc při získání biologického materiálu. Dále děkuji MUDr. Radomíru Hyšplerovi, Ph.D. a RNDr. Mgr. Aleně Tiché, Ph.D. z Výzkumné laboratoře III. interní gerontometabolické kliniky Fakultní nemocnice v Hradci Králové za odbornou pomoc při analýze biologického materiálu.

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové 14.5.2019

Monika Novotná

# Obsah

Seznam symbolů a zkratek .....	8
1. Úvod a cíl práce .....	10
2. Teoretická část .....	11
2.1 Lipidy .....	11
2.2 Mastné kyseliny .....	12
2.2.1 Názvosloví mastných kyselin .....	14
2.3 Lipidy a mastné kyseliny ve výživě .....	16
2.4 Transport mastných kyselin .....	19
2.4.1 Mechanismus vychytávání mastných kyselin .....	20
2.4.2 CD36 a patofyziologie metabolismu lipidů .....	21
2.5 Rozdělení polynenasycených mastných kyselin .....	23
2.5.1 $\omega$ -3 PUFA .....	24
2.5.2 $\omega$ -6 PUFA .....	27
2.5.3 $\omega$ -9 PUFA .....	28
2.6 Biosyntéza MUFA a PUFA .....	28
2.6.1 Zásoby mastných kyselin v tkáních .....	30
2.7 Vztah MK k patologiím .....	32
2.7.1 Vývoj plodu .....	32
2.7.2 Kardiovaskulární onemocnění .....	33
2.7.3 Alzheimerova choroba .....	35
2.8 Zánětlivé procesy .....	36
2.8.1 Akutní zánětlivá fáze .....	37
2.8.2 Chronická zánětlivá fáze .....	39
2.9 Plynová chromatografie (GC) .....	40

3.	Experimentální část .....	43
3.1	Chemikálie .....	43
3.2	Přístrojové vybavení a pomůcky .....	43
3.3	Biologický materiál .....	44
3.4	Základní charakteristika výzkumného souboru .....	44
3.5	Pracovní postup.....	47
3.5.1	Příprava a homogenizace vzorků .....	47
3.5.2	Extrakce a reextrakce lipidů .....	47
3.5.3	Derivatizace mastných kyselin.....	48
3.6	Plynová chromatografická analýza .....	49
3.7	Statistické vyhodnocení a zpracování dat.....	50
4.	Výsledky .....	52
4.1	Výsledky jednotlivých mastných kyselin .....	53
4.2	Výsledky dalších sledovaných parametrů .....	81
4.3	Souhrn statisticky významných rozdílů.....	95
5.	Diskuze .....	97
6.	Závěr .....	101
	Seznam tabulek.....	102
	Seznam obrázků .....	104
	Seznam literatury .....	106

## Seznam symbolů a zkratk

AA	<i>arachidonic acid</i> (kyselina arachidonová)
ALA	<i>α-linolenic acid</i> (kyselina α-linolenová)
CD36	<i>cluster of differentiation</i> (diferenciační skupina 36)
COX	<i>cyclooxygenase</i> (cyklooxygenáza)
CVD	<i>cardiovascular disease</i> (kardiovaskulární onemocnění)
DALY	<i>disability-adjusted life year</i> (zkrácená léta života v důsledku nemoci)
DGLA	<i>dihomo-γ-linolenic acid</i> (kyselina dihomo-γ-linolenová)
DHA	<i>docosahexaenoic acid</i> (kyselina dokosahexaenová)
DPA	<i>docosapentaenoic acid</i> (kyselina dokosapentaenová)
EDA	<i>eicosadienoic acid</i> (kyselina eikosadienová)
ELOVL	<i>elongation of very long chain fatty acids protein</i> (enzym prodlužující mastné kyseliny)
EFSA	<i>European food safety authority</i> (Evropský úřad pro bezpečnost potravin)
EPA	<i>eicosapentaenoic acid</i> (kyselina eikosapentaenová)
FABPs	<i>fatty acid binding protein</i> (protein vázající mastné kyseliny)
FADS2	<i>fatty acid desaturase</i> (desaturáza mastných kyselin)
FAT	<i>fatty acid translocase</i> (translokáza mastných kyselin)
FATP	<i>fatty acid transport protein</i> (protein transportující mastné kyseliny)
FID	<i>flame ionization detector</i> (plamenově ionizační detektor)
GC	<i>gas chromatography</i> (plynová chromatografie)
GLA	<i>γ-linolenic acid</i> (γ-linolenová kyselina)
HDL	<i>high-density lipoproteins</i> (lipoprotein o vysoké hustotě)
HSL	<i>hormone-sensitive lipase</i> (hormon senzitivní lipáza)
IS	<i>internal standard</i> (interní standard)
LA	<i>linoleic acids</i> (linolová kyselina)
LCFA	<i>long chain fatty acid</i> (mastná kyselina s dlouhým uhlovodíkovým řetězcem)
LDL	<i>low-density lipoprotein</i> (lipoprotein o nízké hustotě)
LIMP-II	<i>lysosome membrane protein-II</i> (lyzosomální integrální membránové proteiny)



LT	<i>leucotriene</i> (leukotrien)
MCFA	<i>medium chain fatty acid</i> (mastná kyselina se středním uhlovodíkovým řetězcem)
MMSE	<i>mini mental state exam</i> (test kognitivních funkcí)
MUFA	<i>monounsaturated fatty acid</i> (mononenasyčená mastná kyselina)
NADPH	<i>nikotinamide adenine dinucleotide phosphate</i> (nikotinamidadenindinukleotidfosfát)
NEFA	<i>non-esterified fatty acid</i> (neesterifikovaná mastná kyselina)
PBMC	<i>peripheral blood mononuclear cell</i> (mononukleární buňky periferní krve)
PC	<i>prostacyclin</i> (prostacyklin)
PG	<i>prostaglandin</i> (prostaglandin)
PLOT	<i>porous-layer open tubular</i> (kolona na které je z vnitřní strany kapiláry zachycen sorbent)
PPAR	<i>peroxisome proliferator-activated receptor</i> (receptory aktivované peroxisomovým proliferátorem)
PRR	<i>pattern recognition receptor</i> (receptory rozeznávající molekulové vzory)
PUFA	<i>polyunsaturated fatty acid</i> (polynenasycená mastná kyselina)
SD	<i>standard deviation</i> (směrodatná odchylka)
SCOT	<i>support-coated open tubular</i> (kolona na které jsou z vnitřní strany kapiláry zachyceny částice nosiče pokryté kapalnou fází)
SCFA	<i>short chain fatty acid</i> (mastná kyselina s krátkým uhlovodíkovým řetězcem)
SFA	<i>saturated fatty acid</i> (nasyčená mastná kyselina)
SIRS	<i>systemic inflammatory response syndrome</i> (syndrom zánětlivé odpovědi)
SREBP	<i>sterol regulatory element-binding protein</i> (transkripční faktor řídící expresi genů regulujících metabolismus cholesterolu)
TFA	<i>trans fatty acid</i> (trans mastná kyselina)
TX	<i>tromboxans</i> (tromboxany)
VLDL	<i>very low density lipoprotein</i> (lipoprotein o velmi nízké hustotě)
WCOT	<i>wall-coated open tubular</i> (kolona na které je z vnitřní strany kapiláry zachycena kapalná polymerní stacionární fáze)

# 1. Úvod a cíl práce

Lipidy patří společně se sacharidy a bílkovinami mezi základní složky potravy. Jsou v lidském těle důležité zejména jako zdroj energie. Polynenasycené mastné kyseliny hrají významnou roli i v mnoha patologických stavech. Jakožto prekurzory biologicky aktivních látek mají široké spektrum účinků, často i protichůdných. A právě omega-3 polynenasycené mastné kyseliny mají pozitivní vliv na činnost mozku, správný růst a vývoj i v období gravidity. Snižují riziko kardiovaskulárních chorob a jsou protizánětlivé. V oblasti příjmu mastných kyselin je i přes jejich důležitou úlohu v těle stále mnoho otázek a nejsou známy ani přesné zásoby mastných kyselin v organismu.

Cílem předložené diplomové práce je stanovení hladin mastných kyselin v tkáních zdravých, náhle zemřelých a polymorbidních pacientů. Nejčastější příčiny úmrtí ve skupině náhle zemřelých jedinců byly dopravní nehody, pracovní úraz, utonutí nebo oběšení. Tato skupina na základě dostupných zdrojů netrpěla žádným závažným ani dlouhodobým onemocněním. Naopak u druhé skupiny jedinců v době úmrtí pravděpodobně probíhal zánětlivý proces a příčinou úmrtí bylo nejčastěji srdeční selhání, kardiopulmonální selhání a embolie plic. O problematice zásob mastných kyselin v jednotlivých tkáních (orgánech) se v dostupné literatuře nepojednává a samotný výzkum je v počátcích.

Potřebný biologický materiál jsme získali ve spolupráci s Fakultní nemocnicí v Hradci Králové, konkrétně s Ústavem soudního lékařství Lékařské fakulty Univerzity Karlovy. Zpracování vzorků proběhlo v laboratoři na oddělení Centra výzkumu a vývoje Fakultní nemocnice Hradec Králové. K analýze vzorků byla použita metoda plynové chromatografie s plamenově-ionizační detekcí.

Naměřené výsledky jednotlivých mastných kyselin a dalších sledovaných parametrů jsou statisticky zpracované.

## 2. Teoretická část

### 2.1 Lipidy

Lipidy jsou heterogenní skupinou organických látek. Mezi jejich typické vlastnosti patří omezená rozpustnost nebo nerozpustnost v polárních rozpouštědlech, např. ve vodě. Špatná rozpustnost ve vodě je zapříčiněna nedostatečným množstvím polarizujících atomů O, N, S nebo P. Dobře se rozpouští v nepolárních organických rozpouštědlech jako je ether, chloroform, benzol nebo hexan (Heinrich, 2015).

Mezi jednoduché lipidy řadíme acylglyceroly (tuky a oleje), vosky a isoprenoidy (terpeny, karotenoidy, steroidy aj.). Tuky se definují jako estery vyšších mastných kyselin s glycerolem a zpravidla jsou esterifikovány všechny tři hydroxyskupiny glycerolu, jedná se tedy o triacylglyceroly. Tuky jsou živočišného původu a mají pevnou formu, kdežto oleje jsou rostlinného původu a existují v kapalném stavu. Vosky jsou estery mastných kyselin s vyššími jednosytnými alkoholy (Murray, 2012).

Do skupiny složených lipidů patří fosfolipidy, glykolipidy a lipoproteiny. (Murray, 2012). Na rozdíl od jednoduchých lipidů obsahují lipidy složené ve své struktuře mimo jiné i další skupinu, např. ve fosfolipidech se nachází ještě zbytek kyseliny fosforečné, glykolipidy mají na alkoholové části molekuly navázán monosacharid, popřípadě polysacharid. Hlavními podskupinami fosfolipidů jsou glycerofosfolipidy (s alkoholem glycerolem), tzv. deriváty kyseliny fosfatidové (glycerol-3 fosforečné kyseliny) a sfingofosfolipidy obsahující aminoalkohol sfingosin. Glykolipidy rozdělujeme na cerebrosidy a gangliosidy (Lordan, Tsoupras, & Zabetakis, 2017). Lipoproteiny jsou makromolekuly s různým obsahem cholesterolu, triacylglycerolů a fosfolipidů. Zajišťují transport lipidů v krevním vodném prostředí.

Hlavní typy lipoproteinů jsou:

- lipoproteiny o vysoké hustotě – HDL (*high density lipoproteins*)
- lipoproteiny o velmi nízké hustotě – VLDL (*very low density lipoproteins*)
- lipoproteiny o nízké hustotě – LDL (*low density lipoproteins*)
- chylomikrony (Emerging Risk Factors Collaboration et al., 2009)

Poslední skupinou jsou prekurzory a odvozené lipidy, kam patří glycerol, steroidy, mastné aldehydy, ketolátky, v tucích rozpustné vitamíny a hormony. Nejdůležitějšími

kyselinami, které patří mezi lipidy, jsou mastné kyseliny. Elektricky neutrálním tukem je poté např. cholesterol (Wilhelm, 2013)(Koolman & Röhm, 2012).

V lidském těle slouží lipidy jako zásobárna chemické energie. U živočichů se zásoby energie nacházejí ve formě podkožního tuku. Lipidy jsou zde uloženy v adipocytech a podle potřeby se uvolňují do tkání.<sup>1</sup> Podkožní vazivo má také izolační vlastnosti a slouží jako mechanický ochranný polštář kolem některých orgánů. Amfipatické lipidy (fosfolipidy, glykolipidy) jsou součástí biologických membrán. Lipidy mají v organismu i další význam, slouží jako výchozí látky pro syntézu hormonů, mediátorů a kofaktorů enzymatických reakcí (Koolman & Röhm, 2012).

Lipidy jsou nositeli vitamínů rozpustných v tucích (A, D, E, K) a řady ochranných látek (antioxidanty, steroly). Umožňují rychlejší šíření signálu na nervových vláknech pomocí elektrické izolace od okolí, díky čemuž dochází k rychlejší depolarizaci. Nezbytné jsou společně v kombinaci s proteiny i jako transportní lipidy v krevním řečišti (Ledvina, Stoklasová, & Cerman, 2009).

## **2.2 Mastné kyseliny**

Mastné kyseliny jsou alifatické monokarboxylové kyseliny. Získáváme je hydrolyzou přirozených lipidů, tzv. lipoproteinovou lipázou (Kodíček, Valentová, & Hynek, 2018).

Mastné kyseliny dělíme dle délky uhlovodíkového řetězce na

- C2-C4 – mastné kyseliny s krátkým uhlovodíkovým řetězcem (SCFA – *short chain fatty acids*).
- C6-C12 – mastné kyseliny se středním uhlovodíkovým řetězcem (MCFA – *medium chain fatty acids*).
- C14–C26 - mastné kyseliny s dlouhým uhlovodíkovým řetězcem (LCFA - *long chain fatty acids*) (Zadák, 2008).

---

<sup>1</sup> Buňky jako kardiomyocyty, myocyty, hepatocyty využívají přímo mastné kyseliny. Z podkožního tuku se mohou mastné kyseliny při hladovění mobilizovat a sloužit jako substrát pro ketogenezi v játrech. Vytvořené ketolátky pak mimo jiných tkání dokáže využít jako zdroj energie i mozek (Dlouhý et al., 2009).

Z hlediska dělení mastných kyselin rozeznáváme několik skupin

- Nasycené mastné kyseliny, které neobsahují žádnou dvojnou vazbu (SFA – *saturated fatty acids*)
- Nenasycené mastné kyseliny
  - a. Obsahující jednu dvojnou vazbu (monoenové, mononenasycené – MUFA neboli *monounsaturated fatty acids*)
  - b. Obsahují více dvojných vazeb (polyenové, polynenasycené – PUFA neboli *polyunsaturated fatty acids*).
  - c. Eikosanoidy, jsou odvozeny od eikosa-polyenových mastných kyselin s 20 uhlovodíkovým řetězcem. Mezi ně patří prostanoidy, leukotrieny (LT), lipoxiny. Prostanoidy dále dělíme na prostaglandiny (PG), prostacykliny (PC) a tromboxany (TX) (Murray, 2012).

V organismu se nacházejí ve formě esterů v tucích a olejích nebo jako volné mastné kyseliny (NEFA – *non-esterified fatty acid*), které jsou neesterifikované a přenášeny krevní plazmou (Ledvina et al., 2009). NEFA se váží na bílkoviny z důvodu amfipatické povahy (Murray, 2012). Bez ohledu na to, zda se lipidy dostaly do organismu z potravy nebo pocházejí z vlastních zásob, se přenášejí ve vodním prostředí jako lipoproteiny. Prostup NEFA přes buněčnou membránu se děje po koncentračním spádu, anebo existuje i možnost aktivního přenosu. Po přenosu se mastná kyselina naváže na transportní bílkovinu (FABPs – *fatty acid binding proteins*) a aktivuje se až na Acyl-CoA. Poté už je pouze na potřebách buňky, zda mastnou kyselinu odbourá  $\beta$ -oxidací, použije ji jako zásobní tuk či na syntézu složených lipidů. Aktivační a syntetické děje probíhají v cytosolu a na endoplazmatickém retikulu, naopak  $\beta$ -oxidace se děje v matrix mitochondrie (Ledvina et al., 2009).

Přehled nejběžnějších mastných kyselin je uveden v tabulce 1.

**Tabulka 1 Přehled mastných kyselin**

Zkratka	Zkrácený vzorec	Název kyseliny	Systematický název
<b>Nasyčené</b>			
SCFA	C2:0	octová	ethanová
C2-C4	C3:0	propionová	propanová
	C4:0	máselná	butanová
MCFA	C8:0	kaprylová	oktanová
C6-C12	C10:0	kaprinová	dekanová
	C12:0	laurová	dodekanová
LCFA	C14:0	myristová	tetradekanová
C14-C22	C16:0	palmitová	hexadekanová
	C18:0	stearová	oktadekanová
<b>Nenasycené</b>			
$\omega$ -9 MUFA	C18:1;9	olejová	<i>cis</i> -9-oktadecenová
C18	C18:1;9	elaidová	<i>trans</i> -9-oktadecenová
$\omega$ -6 PUFA	C18:2;9,12	linolová	All- <i>cis</i> -9,12-oktadekadienová
$\omega$ -6 PUFA	C18:3;6,9,12	$\gamma$ -linolenová	All- <i>cis</i> -6,9,12-oktadekatrienová
$\omega$ -3 PUFA	C18:3;9,12,15	$\alpha$ -linolenová	All- <i>cis</i> -9,12,15-oktadekatrienová
$\omega$ -6 PUFA	C20:3;8,11,14	dihomo- $\gamma$ -linolenová	All- <i>cis</i> -8,11,14-eikosatrienová
$\omega$ -6 PUFA	C20:4;5,8,11,14	arachidonová	All- <i>cis</i> -5,8,11,14-eikosatetraenová
$\omega$ -3 PUFA	C20:5;5,8,11,14,17	timnodonová	eikosapentaenová
$\omega$ -6 PUFA	C22:5;4,8,12,15,19	klupadonová	All- <i>cis</i> -4,8,12,15,19-dokosapentaenová
$\omega$ -3 PUFA	C22:6;4,7,10,13,16,19	cervonová	All- <i>cis</i> -4,7,12,13,16,19-dokosaheptaenová

Zdroj: vlastní zpracování podle (Murray 2012)

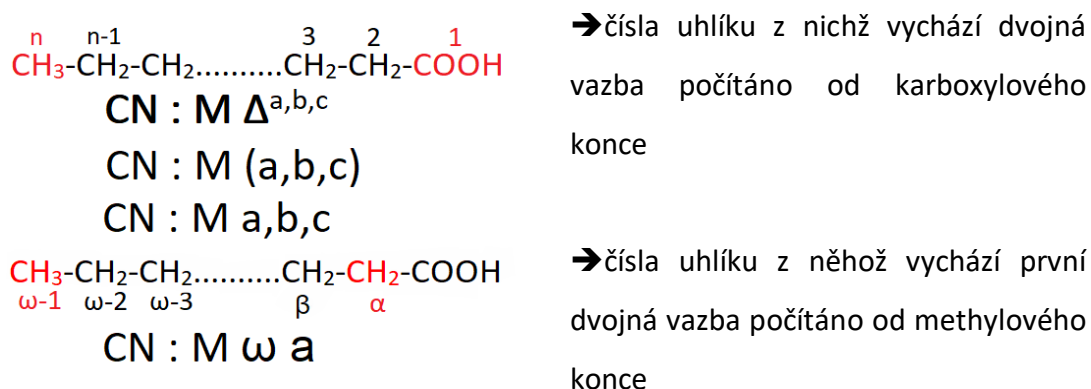
### 2.2.1 Názvosloví mastných kyselin

Pro správnou specifikaci číslujeme atomy uhlíku od uhlíku karboxylového, ten má číslo 1. Druhý v pořadí má číslo 2 (nebo  $\alpha$ -C), následující je uhlík č.3 (nebo  $\beta$ -C). Koncový methyl je značen jako n-C či  $\omega$ -C. Podle umístění dvojné vazby od  $\omega$ -C dělíme mastné kyseliny do tří skupin a to  $\omega$ -3,  $\omega$ -6 a  $\omega$ -9 (Wilhelm, 2013).  $\Omega$ -čísla jsou počítána od opačného (metylového) konce molekuly (Murray, 2012).

Nerozvětvené MK označujeme dvojčíslem (CN: M), přičemž N je počet atomů uhlíku v řetězci a M je počet dvojných vazeb. Přirozeně se vyskytující mastné kyseliny s 4-24 uhlíky mají sudý počet atomů, a to z důvodu biosyntézy, kde se využívají dvou uhlíkaté stavební prvky (Kodíček et al., 2018).

Upřesnění polohy dvojných vazeb je vyjmenováno za středníkem např. (C20:4;5,8,11,14) u kyseliny arachidonové (AA). Pro vyjádření počtu a pozice dvojných vazeb se v názvosloví používá více variant, např. (C18:3; Δ<sub>6,9,12</sub>), u kyseliny γ-linolenové (GLA), kde číselné značení za znakem udává pozici dvojných vazeb (Wilhelm, 2013).

Další možnosti zkráceného zápisu jsou uvedeny na obrázku 1.



**Obrázek 1 Zkrácený zápis mastných kyselin**

Zdroj: Vlastní zpracování podle (Murray, 2012)

Je také známo, že se u mastných kyselin objevuje geometrická izomerie. U SFA se při nízkých teplotách objevuje pravidelná lomivost, pokud teplotu zvýšíme, dojde ke zkrácení řetězců z důvodu rotace vazeb. V případě nenasycených mastných kyselin závisí na poloze atomů okolo dvojně vazby, pokud jsou acylové řetězce na stejné straně vazby, jedná se o cis-konfiguraci. Tuto izomerii mají přirozené mastné kyseliny téměř vždy. Trans-mastné kyseliny jsou zdraví škodlivé a jsou produkty především ztužování rostlinných olejů při výrobě margarínů (Murray, 2012).

Esenciální mastné kyseliny si lidské tělo nedokáže samo vytvořit a musí je získávat z potravy. Hlavní esenciální mastnou kyselinou je linolová kyselina (C18:2;9,12). Přínos linolové kyseliny (LA) ale problematizuje fakt, že se ze všech mastných kyselin nejvíce podílí na tvorbě LDL. Lze ji získat z lněného, řepkového a sójového oleje. Dále mezi ně patří α-linolenová kyselina (C18:3;9,12,15) (Ledvina et al. 2009).

Nejčastější  $\omega$ -3 PUFA, jsou eikosapentaenová kyselina (EPA) a dokosahexaenová kyselina (DHA). Meziproduktem přeměny EPA na DHA je dokosapentaenová kyselina (DPA). Tyto  $\omega$ -3 PUFA lze získat z potravy v podobě ryb, nebo jiných mořských živočichů. Jelikož  $\omega$ -3 PUFA hrají klíčovou roli pro udržování správné funkce kardiovaskulární a neurologické soustavy, je doporučeno světovými zdravotnickými organizacemi alespoň 1-2 rybí pokrmy týdně (250-500 mg/d EPA+DHA) (Maki a Dicklin, 2018).

### **2.3 Lipidy a mastné kyseliny ve výživě**

Tuky představují nejdůležitější energetickou rezervu v lidském organismu (38kJ/g=9kcal/g) (Heinrich, 2015). Mají vysokou sytívací hodnotu.<sup>2</sup> Nejvyšší biologickou hodnotu mají přírodní oleje lisované za studena (99,5 %), na druhém místě je máslo s 82,5 %. Výživová hodnota tuků je ovlivněna čerstvostí výrobku, podmínkami skladování a technologickými postupy při přípravě pokrmů (Marádová, 2015).

Přes 95 % většiny lipidů ve stravě tvoří triacylglyceroly (TAG), menší část poté fosfolipidy, glykolipidy, sfingolipidy, cholesterol a fytosterol (Marádová, 2015). Jsou to hydrofobní molekuly, které jsou před samotnou absorpcí hydrolyzovány a emulgovány do malých kapének (micel) (Murray, 2012).

Nároky a spotřeba tuků a lipidů v potravě není po celý život stejná. Nejvyšší spotřeba a zároveň dodávka je u kojence, díky velkému množství tuku v mateřském mléku. V průběhu let spotřeba tuku u člověka klesá, ale přesto je v běžné populaci zbytečně velká. Převážně ve stáří je nutné omezení tuků, ale ne jejich úplné vysazení z důvodu možného deficitu esenciálních mastných kyselin a blokády absorpce lipofilních vitamínů. Ve skladbě potravin by neměly převažovat tuky živočišné, protože se v nich nachází vyšší obsah nasycených mastných kyselin a cholesterol. Rostlinné oleje, jako např. slunečnicový a sójový, obsahující polyenové mastné kyseliny jsou dle doporučení dietologů mnohem přínosnější (Ledvina et al. 2009).

Obecné zjednodušení udává, že tuky rostlinného původu jsou vždy zdravější než tuky živočišné. Z živočišných tuků se pro výživu nejčastěji používá zejména máslo,

---

<sup>2</sup> Tento pocit je vyvolán hydrolýzou tuků na mastné kyseliny v tenkém střevě. Jelikož se dostavuje po dlouhé době, je zde riziko vysokého energetického příjmu (Marádová, 2015).



vepřové sádlo a drůbeží lůj. V nich se nachází vysoký obsah SFA a nízký obsah PUFA, který zřejmě nestačí k vykompenzování hypercholesterolemického efektu SFA. Na straně druhé, řada rostlinných tuků (avokádový tuk) mají spektrum mastných kyselin podobné, nebo dokonce nevýhodnější (kokosový<sup>3</sup> a palmojádrový tuk). Faktem ale zůstává vysoká spotřeba živočišného tuku, daná tučností mnoha potravin a pokrmů právě živočišného původu (Dlouhý & Anděl, 2009).

K tukům živočišným náleží i rybí tuky s významným podílem PUFA. Tato skupina mastných kyselin je ve středu zájmu v tématech výživy a zdraví, roli hraje v onemocněních jako ateroskleróza, diabetes mellitus a obezita (Murray, 2012).

Hlavními zdroji  $\omega$ -6 PUFA ve formě LA s nízkými podíly  $\omega$ -3 PUFA (ALA) je většina semen plodin a rostlinných olejů, včetně řepkového, sójového, kukuřičného a slunečnicového oleje. V kontrastu s  $\omega$ -6 PUFA je příjem  $\omega$ -3 PUFA obvykle nedostatečný z důvodu omezených zdrojů. ALA obsahují semena chia (*Salvia hispanica*), perily (*Perilla frutescens*) a lnu (*Linum usitatissimum*). Zelená listová zelenina také obsahuje vysoké podíly (60-70 % všech mastných kyselin) PUFA ve formě ALA. Dieta založená na rybách<sup>4</sup>, rybím oleji, hovězím a jehněčím může také dodat EPA, DHA a AA (Saini & Keum, 2018).

Bylo prokázáno, že lidé, kteří konzumují větší množství  $\omega$ -3 PUFA mastných kyselin, mají snížené riziko vzniku kardiomyopatie, imunitních a zánětlivých poruch a řady neurologických problémů (Innis, 2014).

Oproti tomu zvýšená konzumace trans izomerů mastných kyselin (TFA – *trans fatty acids*) vede k vyšší koncentraci LDL – cholesterolu a nižší koncentraci HDL – cholesterolu v séru. Zvýší se množství triglyceridů a Lp(a)-lipoproteinů. Mají tedy

---

<sup>3</sup> Kokosový tuk se v minulosti využíval výhradně pro technické účely, avšak díky nízké ceně a dobrým funkčním vlastnostem se začal používat i pro výrobu mražených krémů a zmrzlin. Tyto přípravky proto nelze považovat za zdraví prospěšné (Marádová, 2015).

<sup>4</sup> Například tuňák obsahuje ve 100 g jedlého podílu v průměru 15,5 g tuku (z toho cca 1,1 g EPA a 2,3 g DHA). U lososa je množství tuku 13,6 g (0,7 g EPA a 2,2 g DHA) (Dlouhý et al., 2009). Divoké mořské ryby obsahují více  $\omega$ -3 PUFA než kultivované (farmové) ryby, protože většina se živí fytoplanktonem a zooplanktonem, které jsou na  $\omega$ -3 PUFA bohaté. Zatímco farmářské ryby konzumují krmivo z obilovin a rostlinných olejů, které obsahují více  $\omega$ -6 PUFA (Saini & Keum, 2018).

nejnepříznivější vliv na kardiovaskulární onemocnění (Heinrich, 2015). Přispívají k dysfunkci endotelu, mají prozánětlivé efekty a zhoršují inzulinovou rezistenci. Byly popsány i možné negativní účinky na zdraví novorozence a vývoj plodu (Marádová, 2015).

V malém množství se TFA přirozeně vyskytují v tucích přežvýkavců, vznikají při katalytické enzymové hydrogenaci nenasycených tuků působením mikroorganismů přímo v batoru zvířat. Jejich obsah se pohybuje kolem 2-9 % (Marádová, 2015).

Převážně ale vznikají nešetrnou úpravou nenasycených tuků. Jedná se o vysokou teplotu např. při smažení nebo ztužování. Zde jejich hodnota může dosáhnout až 30 – 40 %. Eliminace těchto mastných kyselin je možná při ztužování. Je nutné nahradit hydrogenaci transesterifikací, při níž TFA nevznikají (Marádová, 2015). Nejvýznamnějším zdrojem TFA jsou různé druhy trvanlivého a jemného pečiva, tukové polevy či potraviny rychlého občerstvení (Dlouhý et al., 2009).

SFA, konkrétně kyselina laurová, myristová a palmitová, mají výrazný hypercholesterolemický účinek. Také zvyšují inzulinovou rezistenci. MUFA naopak hladinu celkového a LDL-cholesterolu lehce snižují, hladiny HDL-cholesterolu zvyšují nebo neovlivňují. Dále snižují inzulinorezistenci tkání a riziko diabetu (Dlouhý et al., 2009).

V době MWD (*The modern western diet*), která dramaticky změnila obsah požívaných potravin od dob člověka lovce-sběrače (*hunter-gatherer diet*), souvisí široká škála onemocnění právě se změnou stravování (Wang, 2018). Například až 72% kalorií přijímaných stravou v současné MWD době, v době lovce-sběrače neexistovalo (Cordain et al., 2005). Dnešní stravování je z velké části řízené technologickými procesy, které poskytují kalorické a atraktivní potraviny s vysokým obsahem cukrů, rafinovaného obilí a olejů. Konkrétně u příjmu mastných kyselin došlo ke snížení hladin SFA a jejich nahrazení PUFA (Chilton et al., 2017). PUFA, mimo jiné snižuje hladinu LDL-cholesterolu, a naopak mírně zvyšuje hodnotu HDL cholesterolu (Wang, 2018). Některé PUFA je nutné podávat i ve formě rostlinné stravy, z důvodu omezené kapacity pro desaturaci mastných kyselin u živočišné tkáně (Murray, 2012).

Důležitý není jen dostatečný příjem PUFA, ale i jejich správný poměr 1:2-1:6 ( $\omega$ -3:  $\omega$ -6) (Jirák a Zeman, 2007). Asi 30 % z denního energetického příjmu (cca 60-90 g denně) by měly představovat mastné kyseliny. Z tohoto množství by měly být 2/3

nenasycené mastné kyseliny. Z důvodu zprostředkování významných nutričních látek by energetický příjem tuků neměl klesnout pod hranici 20 % (Hainer, 2011). V hmotnostním poměru k bílkovinám by se pro průměrného spotřebitele měly tuky pohybovat v rovnováze 1:1. Denní dávka 0,8 g–1 g tuku na 1 kg tělesné hmotnosti u dospělého člověka se považuje za nerizikovou. Při hodnocení spotřeby je nutné vzít v úvahu i tzv. skryté tuky. Jedná se o tuk obsažený například v mase, mléce a čokoládě (Marádová, 2015).

V rámci EU je doporučen následující příjem tuků a mastných kyselin vyjádřen v % celkového příjmu energie:

- celkový tuk  $\leq 30\%$
- SFA a trans nenasycené mastné kyseliny  $\leq 10\%$
- TFA pouze 1%
- MUFA 15 %, PUFA 7%
- LA 7-10 g, ALA 1-2 g, EPA+DHA 350-400 mg<sup>5</sup>
- Poměr PUFA a SFA  $> 0,7$  (Komprda, 2009).

## 2.4 Transport mastných kyselin

Pomocí prosté a facilitované difuze jsou mastné kyseliny transportovány přes plazmatickou membránu. Prostá difuze umožňuje vstup mastným kyselinám do buňky pouze na základě rozdílů koncentrací extra a intracelulární tekutiny. Facilitovaná difuze transport reguluje, a to změnami v počtu i prostupnosti přenašečů (Holeček, 2016).

Hlavní systémy, které zprostředkovávají facilitovanou difuzi jsou:

- Translokáza mastných kyselin (*fatty acid translocase* CD36, FAT/CD36), je exprimována společně s bílkovinami vázajícími se na mastné kyseliny za pomoci

---

<sup>5</sup> Údaje o příjmu EPA/DHA se v několika studiích rozcházejí. ISSFAL (*International Scientific Society established*) doporučuje  $\geq 0,5$  g EPA/DHA denně zdravým osobám a 1,0 g nemocným s kardiovaskulárním onemocněním. Pracovní skupina Omega-3 doporučuje alespoň 0,3 g zdravým a 0,2 g v těhotenství a době kojení (Heinrich, 2015).

FABP<sup>6</sup> (Holeček, 2016). CD36 (*cluster of differentiation*) je integrální membránový protein, podílející se na vychytávání mastných kyselin do intestinálních enterocytů, adipocytů, srdečních a skeletárních myocytů. Rychlost vychytávání buněčných mastných kyselin je regulována subcelulární vezikulární recyklací CD36 z endozomů na plazmatickou membránu (Glatz & Luiken, 2017). FABP umožňuje transport mastných kyselin k místu utilizace. FABP jsou tkáňově specifické a působí jako intracelulární protilátka plazmatického albuminu. Mastné kyseliny vázané na FABP mohou působit jako signální molekuly a ovlivňovat nukleární receptory, například PPAR (receptory aktivované peroxisomovým proliferátorem) (Holeček, 2016).

- FATP (*fatty acid transport protein*), je skupina proteinů exprimovaných v kosterním svalstvu, tukové tkáni a ve střevě (Holeček, 2016).

#### 2.4.1 Mechanismus vychytávání mastných kyselin

Pokud jde o molekulární mechanismus vychytávání buněčných mastných kyselin v extracelulárním prostoru, CD36 funguje jako akceptor mastných kyselin (Glatz & Luiken, 2017). Umožňuje reverzibilní vazbu mastných kyselin, včetně dlouhořetězcových, také anionických fosfolipidů (fosfatidylserin, fosfatidylinositol) a volného i esterifikovaného cholesterolu (Kontrová & Zídková, 2006). Podporuje tím jejich rozdělení ve vnějším listu lipidové dvojvrstvy, převážně membránových lipidových raftů (adsorbční krok). Následně se polární karboxylová mastná kyselina transportuje z vnější do vnitřní strany fosfolipidové dvojvrstvy, což je proces označovaný jako flip-flop (translokační krok). Na vnitřní straně membrány se mastná kyselina přesune do vodné fáze, aby se mohla navázat na cytoplazmatický FABP (desorpční krok). Předpokládá se, že desorpce z membrány je krok, který omezuje rychlost celého transportu.

---

<sup>6</sup> FAT/CD36 je nyní oficiálně označovaná jako scavengerový receptor SR-B2, společně s lyzozomálním integrálním membránovým proteinem II (LIMP-II) (Glatz & Luiken, 2017) (Kontrová & Zídková, 2006). Na povrchu krevních destiček je CD36 nazýván jako glykoprotein IV nebo IIIb. CD36 má množství ligandů, např. zde zmíněné LCFA, dále TSP-1 (thrombospondin-1), modifikované LDL, vnější segment sítnicového fotoreceptoru a srpkovité erytrocyty (Kontrová & Zídková, 2006).

CD36 se podílí i na regulaci rychlosti vychytávání buněčných mastných kyselin. CD36 je přítomen i v intracelulárních kompartmentech, zejména endosomech. Regulace transportu mastných kyselin nastává reverzibilní translokací CD36 z endozomu na plazmatickou membránu, za účelem zvýšení jejich absorpce. Svalová kontrakce nebo přítomnost inzulínu v průběhu několika minut stimuluje translokaci CD36 z endozomu do sarkolemu, což zvyšuje příjem mastných kyselin až dvakrát. Translokace indukovaná kontrakcí je zprostředkována AMP-aktivovanou kinázou (AMPK). Translokace vyvolaná inzulínem je umožněná fosfatidylinositol-3- kinázou.

Exprese CD36 je vysoká v segmentech střeva, kde se vyskytuje většina absorbovaných lipidů, v tukové tkáni (kde jsou mastné kyseliny uloženy v neutrálních lipidech), v srdečním a skeletárním svalu (zde tvoří mastné kyseliny hlavní substrát pro produkci energie). Vyskytuje se i v endoteliálních buňkách, plicních pneumocytech a krevních destičkách (Glatz & Luiken, 2017).

Na povrchu buněk imunitního systému, zejména monocytů, slouží CD36 k rozpoznání apoptických buněk. Jejich identifikace a účinná fagocytóza apoptických neutrofilů a monocytů, je klíčová odpověď imunity na zánětlivý stav.

Regulace genové exprese proteinu CD36 probíhá díky aktivaci jaderného receptoru PPAR. PPAR působí jako transkripční regulátor genů, stimuluje diferenciaci tukové tkáně a indukuje diferenciaci monocytů na makrofágy.

Ligandy PPAR zvyšují expresi CD36 a jsou to:

- oxidované a nenasycené mastné kyseliny, přičemž se zvyšujícím se číslem nenasycenosti roste i afinita receptoru k těmto ligandům
- lipidy odvozené od oxLDL, 9–a 13-hydroxyoktadekandienové kyseliny
- prostaglandin J2 (PGJ2)
- antidiabetická léčiva thiazolidinové skupiny (Kontrová & Zídková, 2006).

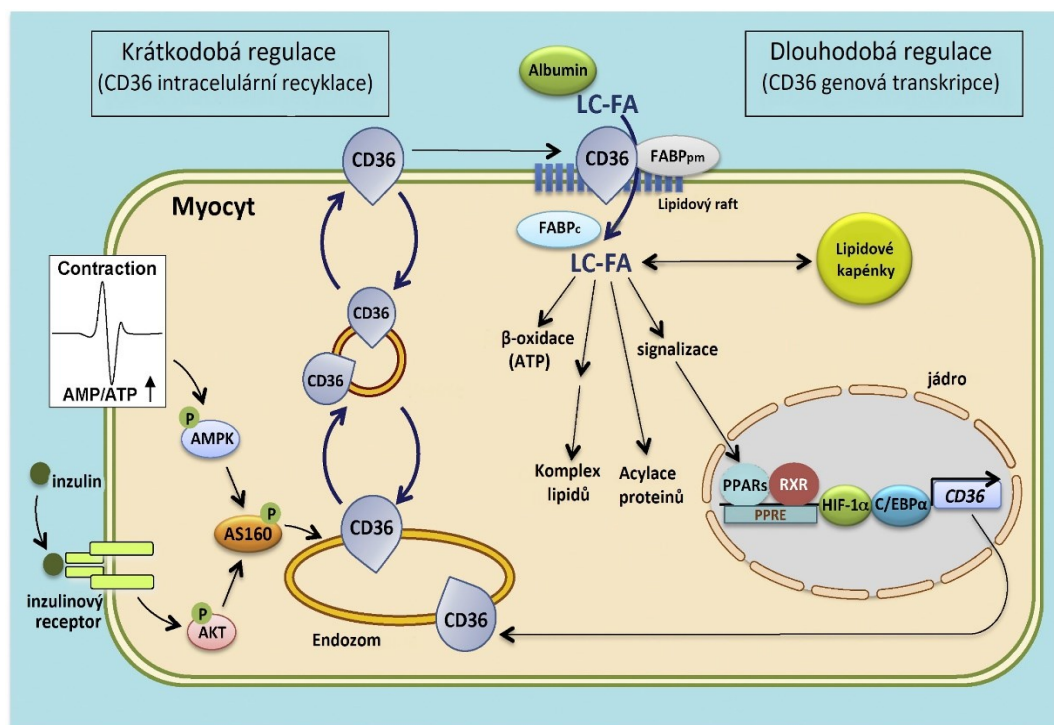
#### **2.4.2 CD36 a patofyziologie metabolismu lipidů**

Z několika studií vyplývá, že gen CD36 je jedním z genů podmiňujících poruchy sacharidového a lipidového metabolismu. Poruchy v expresi proteinu CD36 mohou přispět k patogenezi insulinové rezistence a hypertenzi. Bývají spojeny i s abnormalitami v příjmu mastných kyselin srdečním svalem a adipocyty. Chronické přebytky mastných kyselin způsobují změny v subcelulární recyklaci CD36, což vede

k trvalému přemístění tohoto transportéru z endosomů do sarkolemy (Glatz & Luiken, 2017). Zvýšené množství CD36 na plazmatické membráně vyvolává nadměrnou absorpci mastných kyselin, které překračují míru mitochondriální  $\beta$ -oxidace. Tím vedou k zvýšenému ukládání mastných kyselin do triacylglycerolů a k produkci bioaktivních metabolitů, jako jsou diacylglyceroly a ceramidy (Glatz & Luiken, 2015). Tyto látky inhibují signalizaci inzulínu a zhoršují translokaci glukózového transportéru GLUT4, což způsobuje snížené vychytávání glukózy. V této fázi se srdce nebo svaly stávají odolným vůči inzulínu a vykazují narušení kontraktilní funkce (Glatz & Luiken, 2017) (Zlobine, Gopal, & Ussher, 2016).

Inhibice CD36 sice zabrání srdeční lipotoxicitě a rezistenci na inzulín, na stranu druhou přítomnost a správná funkce CD36 je nezbytná pro příznivé zdravotní účinky  $\omega$ -3 PUFA. Buněčný příjem těchto mastných kyselin je totiž usnadněn právě CD36. Budoucnost studií by proto měla směřovat k vyladění fungování CD36 v plazmatickém měřítku tak, aby byla zachována správná rovnováha (Glatz & Luiken, 2015)(Glatz, Luiken, & Bonen, 2010).

Na obrázku 2 jsou znázorněny jak podpůrné, tak regulační role CD36 při vychytávání dlouhých řetězců mastných kyselin.



**Obrázek 2 Schématické znázornění role CD36**

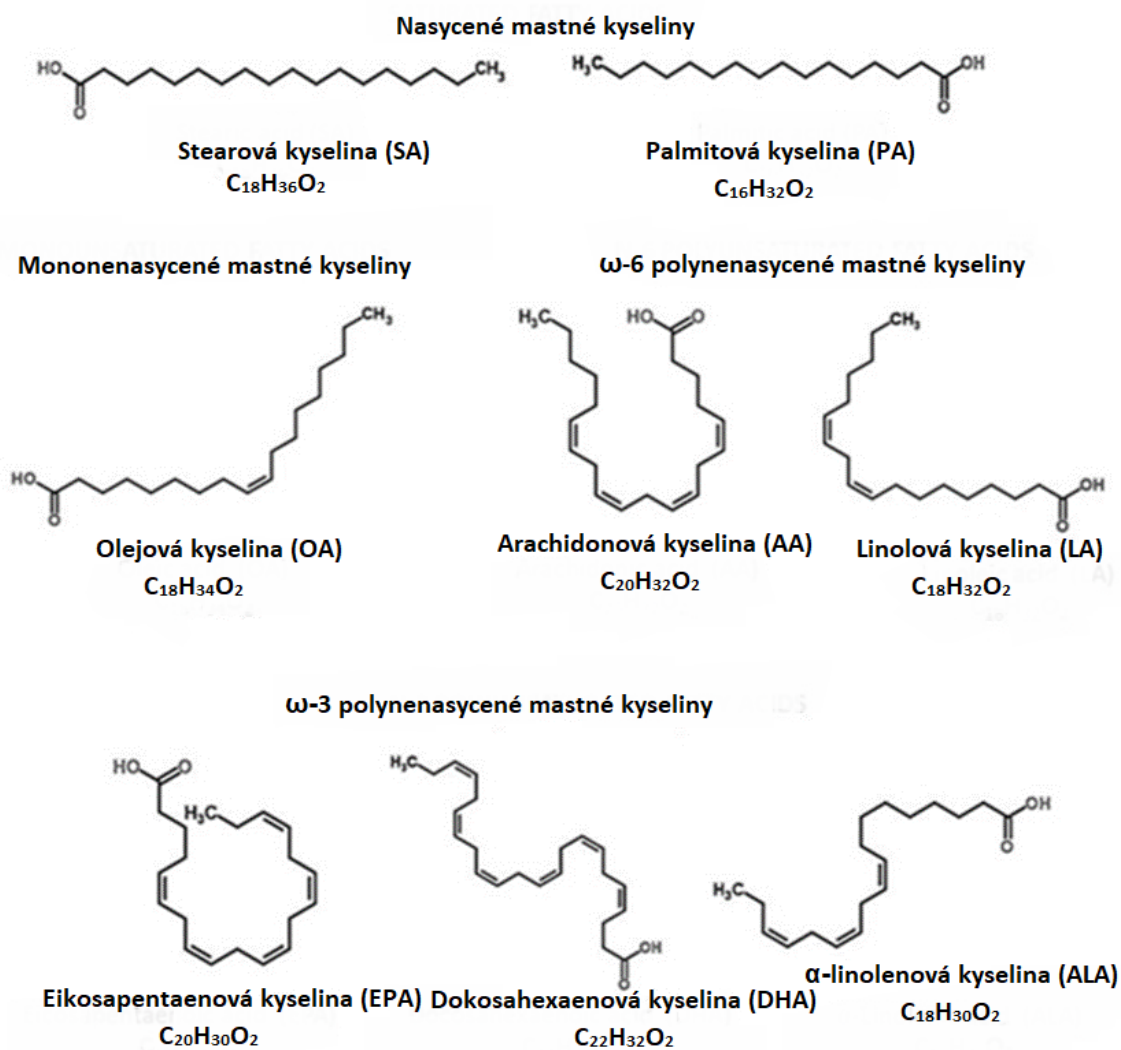
Zdroj: Upravené podle (Glatz & Luiken, 2017)

## **2.5 Rozdělení polynenasycených mastných kyselin**

Mezi základní zástupce uvedené v tabulce 1 patří i nutričně esenciální mastné kyseliny, kterými jsou kyselina linolová LA (C18:2;9,12) a  $\alpha$ -linolenová kyselina ALA (C18:3;9,12,15). Jak již bylo řečeno, jsou to pro život nezbytné kyseliny a metabolické produkty, které si tělo samo nevytvoří. Nemohou být syntetizovány z kondenzací acetyl a malonyl – CoA esterů katalyzovaných syntetázou mastných kyselin. Například kyselina arachidonová AA (C20:4;5,8,11,14) může být vytvořena z LA. AA tedy musí být součástí stravy, nebo musí být ve stravě nahrazena esenciálními mastnými kyselinami, které je možné na AA přeměnit (Murray, 2012). Dlouhodobý nedostatek esenciálních mastných kyselin se projevuje snížením tělesné výkonosti, problémy s pokožkou (zvýšená propustnost pro vodu, tvorba ekzémů a šupinatá kůže, větší náchylnost k infekcím a poruchami reprodukce (Ledvina et al., 2009).

PUFA jsou součástí řady biologických procesů, např. ovlivňují zánět, krevní srážlivost a buněčnou signalizaci (správný vývoj buněk a koordinace buněčných pochodů). Podílejí se také na tvorbě látek, které v přítomnosti kyseliny acetylsalicylové působí protizánětlivě. Jsou to lipoxiny z  $\omega$ -6 PUFA a resolviny z  $\omega$ -3 PUFA. Nezbytné jsou i v případech gravidity a laktace (Jirák & Zeman, 2007).

Grafické znázornění mastných kyselin ilustruje obrázek 3.



**Obrázek 3 Klasifikace mastných kyselin s dlouhým řetězcem**

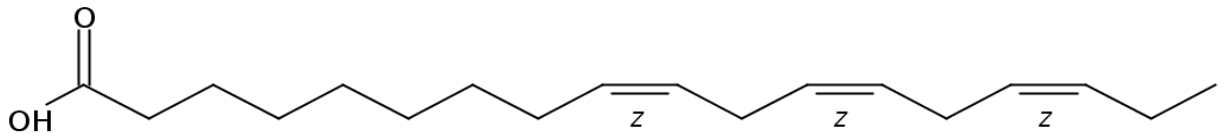
Zdroj: Upraveno podle (Sokoła-Wysoczańska et al., 2018)

### 2.5.1 $\omega$ -3 PUFA

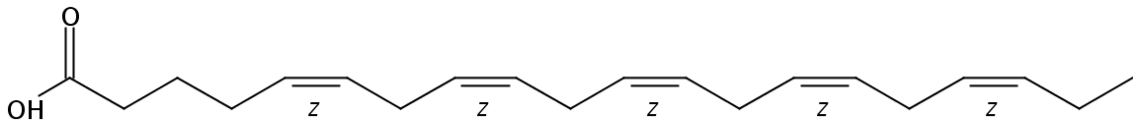
Hlavní  $\omega$ -3 PUFA jsou kyselina  $\alpha$ -linolenová (ALA), EPA a DHA. Struktury těchto zástupců jsou znázorněné na obrázku 4. DHA ( $C_{22}:6;4,7,10,13,16,19$ ) se vyskytuje nejčastěji v krvi a většině tkání. Z vlastností těchto látek lze uvést protisrážlivé, protizánětlivé a vasodilatační účinky (Harris, 2018). Byl popsán také antiarytmický účinek, vedoucí i ke snížení krevního tlaku u hypertoniků (Dlouhý et al., 2009).



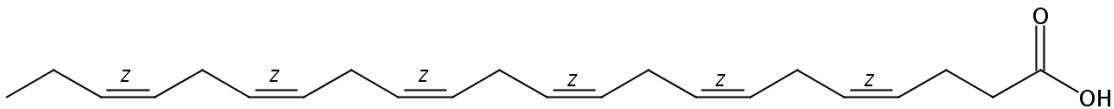
ALA



EPA



DHA



**Obrázek 4** Strukturní znázornění  $\omega$ -3 PUFA

Zdroj: zpracované v programu Sci Finder

Protizánětlivé vlastnosti  $\omega$ -3 PUFA lze vysvětlit řadou různých mechanismů. Tyto kyseliny mohou stimulovat nebo potlačit adipocyty signálních drah, které ovlivňují jejich diferenciaci a smrt. Také mohou působit jako tlumiče prozánětlivých reakcí, vzhledem k tomu, že jsou prekurzory eikosanoidů s protizánětlivým účinkem (Curioni, Alves, & Zago, 2019).

Snižují kardiovaskulární riziko a snižují hladiny TAG v krvi. Příjem  $\omega$ -3 PUFA aktivuje tvorbu adiponektinu<sup>7</sup>, jehož účinkem je zvyšování citlivosti inzulínu ve svalích a játrech (Hainer, 2011). Receptory pro adiponektin se označují Adipo R a jsou exprimovány ve většině orgánů. Adipo R1 zvláště v kosterním svalstvu, Adipo R2 nalezneme hlavně v játrech. Jeho hladina negativně koreluje s množstvím tukové tkáně v organismu, u obézních osob nalézáme nižší hladiny (Novotný et al., 2008).

EPA a DHA jsou nezbytné pro správný vývoj plodu a zdravé stárnutí. DHA je klíčovou součástí buněčných membrán a hojně se nachází v mozku a sítnici. Ačkoli je pro tělo možné převést ALA na DHA a EPA, výzkumy naznačují, že lze takto

<sup>7</sup> Nejhojnější peptid vylučovaný adipocyty. Hormon tukové kůže, jehož redukce hraje ústřední roli v kardiovaskulárním onemocnění, souvisí s obezitou, inzulínovou rezistencí a DM2. Bývá označován jako AdipoQ, ACRP30, apM1 nebo GBP28 (Hainer, 2011).

nasyntetizovat pouze malé množství. ALA je standardní složkou stravy, ale neposkytuje takové zdravotní výhody jako EPA a DHA (Swanson, Block, & Mousa, 2012). Jedna ze studií zjistila 7 % konverzi ALA na EPA, ale pouze 0,013 % na DHA (Goyens et al, 2005). Jiné studie našly ještě méně a to konverzi ALA pouze 0,3 % na EPA a <0,01 % na DHA (Hussein et al., 2005).

Biologická dostupnost i metabolická účinnost  $\omega$ -3 PUFA částečně závisí na chemické vazebné formě. Mohou být součástí TAG, diacylglycerolů, fosfolipidů, voskových esterů, nebo existují jako volné kyseliny, pokud jsou podávány například ve formě ryb a masa. Naopak potravní doplňky obvykle obsahují emulze nebo oleje modifikované trans esterifikací ke zvýšení obsahu DHA a EPA (Kuda, Rossmeisl, & Kopecky, 2018).

Z důvodu většího zájmu o zdravý životní styl, stoupla v EU obava z nadměrného užívání doplňků stravy obsahující  $\omega$ -3 PUFA. Proto EFSA (*European Food Safety Authority*) vydalo vědecké stanovisko a zdá se, že ani dlouhodobá suplementace EPA a DHA v kombinaci až do hodnoty 5 g/den nezvyšují riziko spontánních krvácivých komplikací, poruchy regulace hladiny glukózy nebo ovlivnění imunitního systému. Průměrná spotřeba EPA+ DHA v EU je 400-500 mg denně, při konzumaci doplňků stravy mohou dospělí zkonsumovat až 2700 mg denně. U dětí je spotřeba 320 mg v běžné stravě a suplementovat je možné až 1700 mg (EFSA Journal, 2012).

#### **2.5.1.1 Rozdíl mezi EPA a DHA**

Srovnáváním efektů těchto dvou kyselin, se došlo k závěru, že EPA a DHA mají rozdílné vlivy na jednotlivé rizikové faktory aterosklerózy a ve svém působení se vhodně doplňují. Bližší porovnání účinků EPA a DHA je znázorněno v tabulce 2.

**Tabulka 2 Srovnání účinků EPA a DHA**

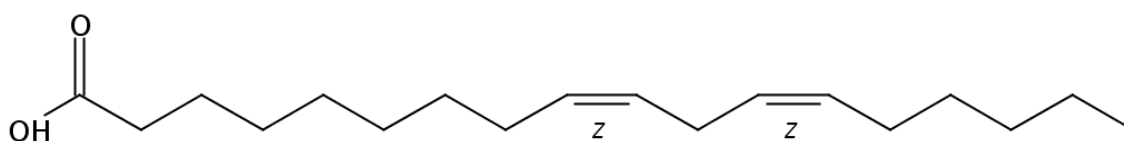
	EPA	DHA
↓ triglyceridů	++	++
↑ HDL	-	+
↓ malých denzních LDL	-	+
↓ krevního tlaku	+/-	+
zlepšení funkce endotelu	-	+
↓ tepové frekvence	-	+
↓ aktivace trombocytů	+	-
↑ fibrinolýzy	-	-
↑ glykémie	+	+/-
↓ zánětlivé odpovědi	-	+/-
↓ oxidačního stresu	+	+

Zdroj: Vlastní zpracování podle (Vrablík, 2007)

### 2.5.2 $\omega$ -6 PUFA

Hlavní  $\omega$ -6 PUFA jsou kyselina linolová (LA), kyselina arachidonová (AA) a kyselina  $\gamma$ -linolenová (GLA), té existuje ve stravě stopové množství, její hladiny v krvi jsou velmi nízké. Jejich zdroji jsou klasické rostlinné oleje. Dále existuje řada metabolitů  $\omega$ -6 PUFA které se nenachází ve stravě, ale jsou přítomné v krvi. Patří mezi ně dihomo- $\gamma$ -kyselina linolenová (DGLA), kyselina adrenová (ADA), kyselina eikosadienová (EDA) (Harris 2018). Mají silný hypocholesterolemický efekt, výrazně snižují hladinu LDL, ale bohužel i HDL-cholesterolu. Slouží jako prekurzory eikosanoidů s účinky aterogenními, prozánětlivými, protrombotickými a vazokonstrikčními (Dlouhý et al., 2009). Akutní zánětlivá reakce může chránit před infekcí, avšak nekontrolovaný a nevhodně aktivovaný akutní zánět, způsobený přebytkem zánětlivých podnětů, poskytuje ideální mikroprostředí nádorům (Saini & Keum, 2018). Grafické znázornění struktury LA se nachází na obrázku 5.

LA



**Obrázek 5** *Strukturní znázornění kyseliny linolové*

Zdroj: zpracované v programu Sci Finder

### 2.5.3 $\omega$ -9 PUFA

Kyselina olejová (OA), kyselina nervonová, kyselina meadová a kyselina eruková ze skupiny  $\omega$ -9 PUFA nejsou esenciální. Lidské tělo si je dokáže samo nasyntetizovat z krátkořetězcových mastných kyselin jako je kyselina  $\alpha$ -linolenová a kyselina linolová. Příjem obohacených mononenasycených  $\omega$ -9 mastných kyselin ve stravě je spojen se snížením hněvu a podrážděnosti (Galán-Arriero et al., 2017). Hlavní zástupce kyselina olejová má protektivní účinky na kardiovaskulární systém, zlepšuje endoteliární dysfunkci, ovlivňuje hladinu cholesterolu a brzdí proliferaci a apoptózu hladké svaloviny kardiovaskulárního systému. Pouze OA má schopnost nejen snižovat hladinu LDL, ale zároveň i zvyšovat HDL (Vrablík, 2007). Preventivně OA působí i na inzulínovou rezistenci a dává se do souvislosti s rakovinou prsu. Pravděpodobný je i pozitivní vliv na kolorektální karcinom a rakovinu prostaty (Carrillo, Cavia, & Alonso-Torre, 2012).

## 2.6 Biosyntéza MUFA a PUFA

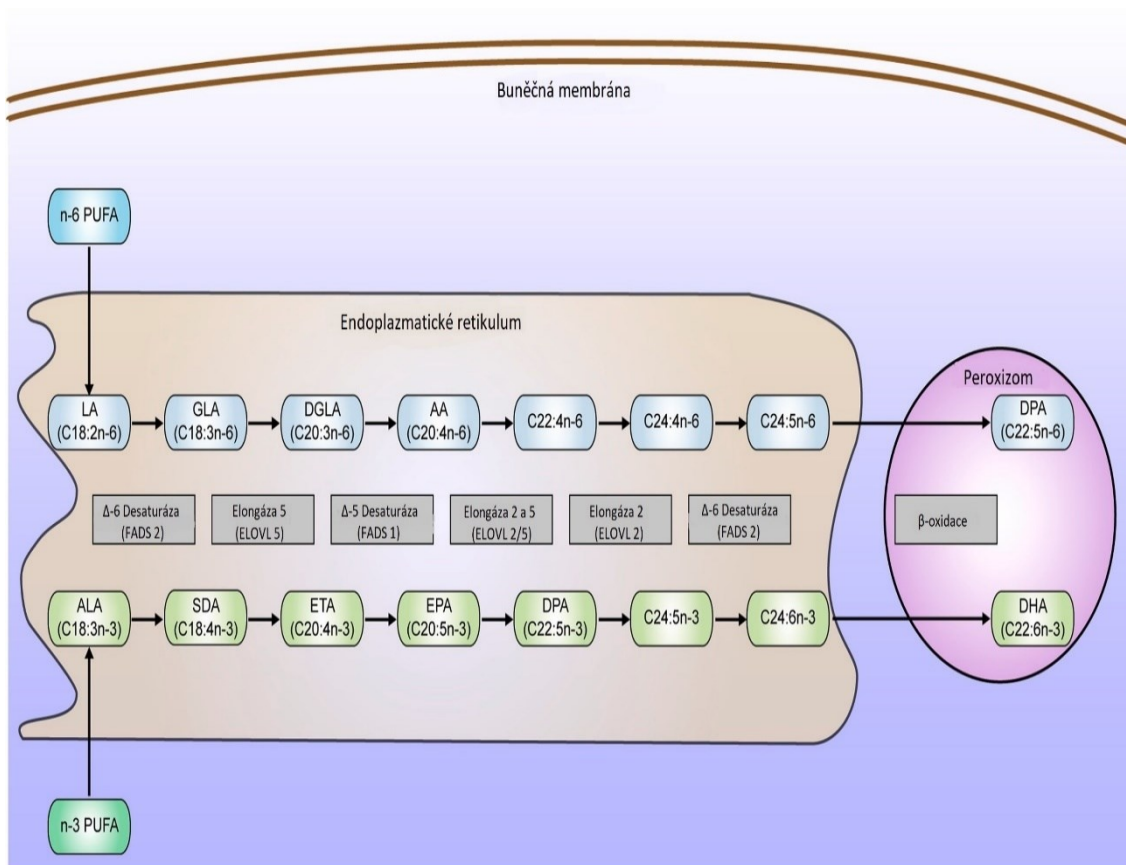
Syntéza MUFA probíhá v několika tkáních, včetně jater<sup>8</sup> (Murray, 2012). Aktéry jsou enzymy s nehemovým železem uložené v endoplazmatickém retikulu tzv. terminální desaturázy (Ledvina et al., 2009). Téměř vždy vzniká první dvojná vazba na pozici  $\Delta^9$ . Vytvořená vazba má obvykle konfiguraci cis. Nasycená kyselina se nejprve převede na příslušný acyl-CoA. Enzymový desaturasový systém (vložení dvojně vazby v řetězci, působením desaturasových enzymů) katalyzuje přeměnu palmitoyl-CoA na

---

<sup>8</sup> Nenasycené mastné kyseliny jsou mimo jiné nutné ke správné kapalné konzistenci tukových kapének uvnitř lidského těla a k udržení optimální fluidity fosfolipidové dvojvrstvy membrán (Ledvina et al., 2009).

palmitoolejovou kyselinu (C16:1;9) (Murray, 2012). Podobně kyselina stearová se převede na příslušný acyl-CoA, zde stearyl-CoA. Tvorba se podobně jako u kyseliny palmitové odehrává dvoustupňovým dějem. Nejprve hydroxylací s O<sub>2</sub> a NADPH či NADH a pak dehydratací, za vzniku kyseliny olejové (C18:1;9) (Ledvina et al., 2009).

Syntéza PUFA, která je znázorněna na obrázku 6, představuje systém desaturázy a elongázy (prodloužení uhlíkatého řetězce dvěma atomy uhlíku působením elongásových enzymů). Nové dvojné vazby jsou od sebe vždy oddělené methylenovým přerušením (Chilton et al., 2017). Lidský organismus není schopen vytvořit běžné osmnácti uhlíkaté polynenasycené kyseliny, protože tvorba dvojné vazby končí u C9 (Ledvina et al., 2009). Dvě základní PUFA s nejkratší délkou řetězce (18C), ALA a LA, jsou klíčovými substráty, které vstupují do biosyntetických cest vedoucích k biologicky aktivním  $\omega$ -3 a  $\omega$ -6 PUFA (Chilton et al., 2017). Dvojné vazby mohou být u většiny zavedeny na pozice  $\Delta^4, \Delta^5, \Delta^6, \Delta^9$ , ale za pozici  $\Delta^9$  už nikdy (Murray, 2012). Klíčovou roli zde hrají i dva desaturační enzymy kódované desaturázou MK 1 a 2 (FADS 1 a FADS 2) a jeden prodlužovací enzym kódovaný ELOVL5 syntetizující kyselinu eikosapentaenovou (20:5,  $\omega$ -3, EPA) a kyselinu arachidonovou (20:4,  $\omega$ -6, AA) z ALA a LA.  $\Omega$ -3 LC-PUFA, kyselina dokosapentaenová (22:5,  $\omega$ -3, DPA) a  $\omega$ -6 LC PUFA, kyselina adrenová (22:4, n-6, ADA) mohou být generovány z EPA a AA pomocí dalšího elongačního enzymu (kódovaného ELOVL 5/2). A konečně dokosaheptaenová kyselina (22:6, n-3, DHA), může být generována z DPA enzymem desaturace  $\Delta$ -4 také kódovaným FADS2 (Chilton et al., 2017). Jakmile se vytvoří LC-PUFA, mají mnoho rolí jako volné mastné kyseliny a esterifikují se jako komplexní lipidy. Ty zajišťují nezbytné biofyzikální vlastnosti pro správnou funkci plazmatické membrány, produkci energie pomocí  $\beta$ -oxidace atd. LC-PUFA jsou také převedeny na různé skupiny metabolitů jako například prostaglandiny, tromboxany, leukotrieny, lipoxiny, rezolvin, protektiny a endokanabinoidy (Murray, 2012).



**Obrázek 6 Biosyntéza PUFA**

Zdroj: Upraveno podle (Chilton et al., 2017)

### 2.6.1 Zásoby mastných kyselin v tkáních

Nejdůležitější zásobárna mastných kyselin je tuková tkáň, je tvořena adipocyty, které jsou uloženy v kolagenové síti s velkým počtem krevních kapilár. Tělesný tuk pro člověka představuje valnou část rezervní energie a podílí se přibližně z 15 % na tělesné hmotnosti. Zhruba jedna polovina tělesného tuku se nachází v podkoží, druhá polovina je umístěna jako viscerální tuk a tuk obsažený uvnitř svalových vláken. Z hlediska metabolického hrají mastné kyseliny (na rozdíl od glukózy) hlavní roli při stresové zátěži a hladovění (Zadák, 2008).

Adipocyty jsou hlavním místem metabolismu lipidů, skladují TAG. Jak již bylo řečeno z hlediska funkce rozeznáváme bílou a hnědou tukovou tkáň. Hnědá tuková tkáň je významným zdrojem termogeneze u novorozenců. Tato tkáň však během prvních měsíců života involuje, tedy zaniká. Výzkumy však naznačují, že se funkční

hnědá tuková tkáň nachází i u dospělého člověka, a to v rámci bílé tukové tkáně, kde je roztroušená ve formě malých tukových adipocytů (Hainer, 2011).

Bílá tuková tkáň tvoří především podkožní tuk a slouží jako energetická zásobárna a ochrana. Hlavní složkou bílé tkáně jsou TAG (60-85 %), cholesterol a volné mastné kyseliny. Z nich jsou ve větším počtu zastoupené ty nasycené. Mastné kyseliny vyplavované z tukové tkáně jsou primárním energetickým substrátem pro další tkáně, regulují metabolické děje, expresi genů a citlivost k inzulinu. Adipocyty slouží jako centrum pro syntézu a odbourávání TAG (Ledvina et al., 2009).

Transport mastných kyselin v plazmě je umožněn díky vazbě na hydrofilní komponent albumin. Po explozivním uvolnění díky HSL (hormon senzitivní lipáza) modulovaným druhým poslem (c-AMP), jsou mastné kyseliny rychle oxidovány nebo reesterifikovány zpět na formu neutrálního tuku (Zadák, 2008).

Nejen že jsou krevní hladiny mastných kyselin vyplavovány z tukové tkáně, jsou touto tkání i přímo ovlivňovány. Změny hladin mastných kyselin v krvi pak dále působí i na syntézu TAG v játrech. Uvolnění mastných kyselin je tedy závislé na HSL, která je inhibována inzulinem zpravidla ihned po jídle. Pokud člověk hladoví je zvýšeno vylučování mastných kyselin do krve díky adrenergní stimulaci (vzestup hladiny noradrenalinu). Naopak vstup mastných kyselin do adipocytů je závislý na LPL (lipoproteinová lipáza). Ta extrahuje mastné kyseliny hydrolýzou TAG vázaných na VLDL. Aktivita LPL je stimulována inzulinem. LPL je proto hlavním regulátorem ukládání tuku a je uvolňována z adipocytů do krevních kapilár. Po vstupu mastných kyselin do adipocytu jsou esterifikovány glycerol-3-P nebo mono-diacyl-glycerolem. Syntéza i esterifikace spotřebovává ATP (adenosintrifosfát). Obecně je známo, že syntézu mastných kyselin v tukové tkáni i játrech tlumí tuky v potravě. Mastné kyseliny inhibují svoji vlastní syntézu skrz transkripční faktor SREBP1 (*sterol regulatory element-binding protein*), což je transkripční aktivátor lipogenních enzymů. Nenasycené mastné kyseliny mají výraznější inhibiční vliv. Další úloha PUFA je stimulace oxidace lipidů ve svalech, játrech a bílé tukové tkáni, prostřednictvím PPAR- $\alpha$ . Tato oxidace probíhá v peroxizomech a mitochondriích. Pokud by se tedy uplatňoval trend snižování tuků v potravě, docházelo by ke zvýšené syntéze mastných kyselin a změně jejich spektra. Stoupal by obsah SFA, což by se mohlo projevit nežádoucím účinkem na kardiovaskulární systém (Hainer, 2011).

Množství tuku v těle se určuje podle dvou složek energetické bilance, a to energetického příjmu a energetického výdeje. Energetický výdej je závislý na svalové práci, také na metabolických dějích, zejména ve svalech, játrech, mozku a tukové tkáni a nezbytná je i účinnost energetické přeměny ve tkáních. Za klidových podmínek, tedy v teplotě termoneutralní zóny a v postabsorpčním stavu, je energetický výdej označován jako klidový energetický obrat (*resting metabolic rate – RMR*), resp. klidový energetický výdej (*resting energy expenditure – REE*). Z tabulky č. 3 je patrné, že metabolismus tukové tkáně přispívá k RMR podstatně méně než metabolické reakce v kosterní svalovině, mozku a játrech (Hainer, 2011).

**Tabulka 3 Relativní podíl různých tkání na RMR u dospělého člověka s normální tělesnou hmotností**

Tkáň	Tělesná hmotnost (%)	RMR (%)
Kosterní sval	40,0	≤ 30,0
Srdce	0,4	11,0
Gastrointestinální trakt	2,0	10,0
Mozek	2,0	≤ 20,0
Játra	2,0	≤ 20,0
Tuková tkáň	20,0-30,0 <sup>9</sup>	≤ 5,0

Zdroj: Upraveno podle (Hainer, 2011)

## 2.7 Vztah MK k patologiím

### 2.7.1 Vývoj plodu

Pokyny pro správnou výživu matek vždy zdůrazňovaly dietu, která obsahovala dostatečné množství bílkovin, kalorií, vitamínů a minerálních látek. Avšak postupem času se i mastné kyseliny ukázaly jako důležitá součást jídelníčku budoucí matky (Ramakrishnan et al., 2010). Jak je známo, během gravidity placenta přenáší živiny, včetně DHA, z matky na plod (Helland et al. 2008). Tento fakt je spojen se skutečností, že suplementace EPA a DHA je spjata s mnoha přínosy pro dítě. Užití kapslí rybího oleje

<sup>9</sup> Přesněji u žen 25-30 % a u mužského pohlaví 20-25 %. Bílou tukovou tkáň je zvykem korelovat celkový RMR na beztukovou tělesnou hmotu (*fat free mass – FFM*). A to z důvodu nízkého energetického výdeje na jednotku hmotnosti (Hainer, 2011).



denně v množství 2,7 g/ d PUFA během těhotenství, potvrzuje nižší výskyt astmatu u dětí do 16 let věku. Míra rizika astmatu byla snížena o 63% a míra rizika alergické rýmy dokonce o 87% (Olsen et al., 2008). Několik studií potvrdilo přínos doplňování omega-3 z hlediska správného vývoje mozku a sítnice plodu. Množství omega 3-MK v plodu je v korelaci s množstvím přijatých matkou, takže je nezbytné, aby matka měla adekvátní výživu (Dunstan, et al., 2008). V ní by se mělo objevit 300-900 mg EPA a DHA denně. V závislosti na tomto faktu studie prokázala, že děti, jejichž matky užívaly 300 mg DHA ve formě rybího oleje s nízkým obsahem EPA (8:1- DHA: EPA) během těhotenství (n = 29), měly výrazně lepší dovednosti při řešení problémů ve věku 9 měsíců (P = 0,017), než ty jejichž matky DHA během gestace neužívaly (n = 15) (Judge, Harel, & Lammi-Keefe, 2007). Lze také zmínit studii, ve které byly hodnoceny kognitivní schopnosti dětí ve věku 2,5 roku, jejichž matky užívaly DHA a EPA od 20. týdne těhotenství až do porodu (n = 33), ve srovnání s dětmi ve skupině s placebem (n= 39). Děti ve skupině s větším množstvím EPA a DHA dosáhly signifikantně vyšších skóre pro koordinaci očí a rukou (průměrné skóre 114 (SD 10,2)) než u placebo skupiny (průměrné skóre 108 (SD 11,3)) (Dunstan et al., 2008).

### **2.7.2 Kardiovaskulární onemocnění**

Ze statistik vyplývá, že kardiovaskulární onemocnění (CVD) jsou hlavními příčinami smrti v evropských zemích. Umírá na ni 3,9 milionů Evropanů ročně, v Evropské unii více než 1,8 milionů lidí ročně. CVD onemocnění způsobují téměř polovinu úmrtí v Evropě, konkrétně se uvádí 45 %. Existují ale značné nerovnosti, v zemích mimo EU je CVD úmrtnost, prevalence a míra úmrtnosti (DALY) vyšší než v zemích EU. Povzbuzující je, že míra úmrtnosti na CVD nyní klesá v naprosté většině evropských zemích. I přesto přibývá v Evropě každý rok 11 milionů případů (Wilkins E. et al., 2017). Faktem zůstává, že zánětlivé procesy významně přispívají k rozvoji aterosogeneze, stejně jako přispívají ke zranitelnosti aterosklerotických lézí a jejich sklonu k prasknutí. Nejsilněji studovaným biomarkerem zánětu v CVD je C – reaktivní protein (CRP) (Kelley et al., 2009). EPA a DHA mají protizánětlivé účinky, roli hrají ve snižování oxidativního stresu a zlepšují funkci buněk prostřednictvím genové exprese (Bouwens et al., 2009; Bloomer et al., 2009; M. Vrablík, 2007). V jedné ze studií, ve které byly použity vzorky lidské krve, příjem EPA a DHA změnil expresi 1040 genů a

vedl ke snížení exprese genů, podílejících se na zánětlivých a aterogenních procesech, jako je například jaderný transkripční faktor  $\kappa B$ , syntéza eikosanoidů, adipogenze a signalizace hypoxie. PUFA také mohou modulovat buněčné funkce prostřednictvím změn v genové expresi, například vazbou a následnou aktivací receptorů aktivovaných peroxisomovým proliferátorem (PPAR). Mimo to jsou PUFA jako EPA a DHA silnějšími přírodními ligandy pro PPAR, než jsou MUFA nebo SFA. Jeden z podtypů PPAR $\alpha$  hraje roli během hladovění a nachází se v PBMC (*peripheral blood mononuclear cell*). To jsou imunitní mononukleární buňky periferní krve, které hrají zásadní roli při zánětu a rozvoji kardiovaskulárních onemocnění. Doplnění 1,8 g EPA a DHA/d, což je ekvivalent spotřeby 10 porcí ryb týdně, mělo za následek protizánětlivé a antiaterogenní změny v expresi genu PBMC (Bouwens et al., 2009).

Cirkulační markery zánětu jako je již zmiňovaný C-reaktivní protein (CRP), také tumor nekrotizující faktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) a některé interleukiny (IL-6, IL-1), korelují se zvýšenou pravděpodobností kardiovaskulární příhody. CRP je protein akutní fáze, je syntetizován játry v reakci na cirkulační zánětlivé cytokiny, jako je interleukin 6. Experimentální studie *in vitro* naznačují, že CRP může mít přímou roli v patogenezi aterosklerózy (Ebrahimi et al., 2009).

Ukázalo se, že  $\omega$ -3 PUFA zvyšují schopnost reagovat s trombocyty na úrovni subterapeutické antikoagulační terapie, včetně reakce s aspirinem. Odpověď pacienta na aspirin je velmi variabilní, a proto se odhaduje, že prevalence nízké odezvy nebo rezistence na antiagregační účinky aspirinu je <1 % až 45 %, v závislosti na použitém stanovení, zvolené mezní hodnotě a testované populaci. U pacientů s chronickým onemocněním koronárních arterií se potvrdilo, že suplementace EPA a DHA je stejně účinná, jako zvyšování dávky aspirinu na 325 mg/den, pro jeho antikoagulační přínosy (Lev et al., 2010). I antitrombocytární lék klopidogrel byl u některých pacientů spojen s hyporesponzivitou. To lze připisovat špatnému dodržování dávkování pacienta, rozdílům v genetické informaci, reaktivitě krevních destiček, variabilitě metabolismu léků a interakci s léčivem. Neexistuje spolehlivě zdokumentovaná metoda pro překonání hyporesponzivity klopidogrelu, pokud byly vyloučeny případy nesouladu a interakce s jinými léčivem. Trojitá antiagregační léčba s přídatkem cilostazolu vedla ke zlepšení biologických účinků klopidogrelu, ale s ohledem na možné riziko krvácení. Také  $\omega$ -3 PUFA (1 g) přidané ke standardní duální antiagregační léčbě po PCI (perkutánní

koronární intervenci), (ASA 75 mg/d a nasycovací dávka 600 mg klopidogrelu následně 75 g/d), snižují rezistenci na klopidogrel. Funkce trombocytů byla měřena sériovým agregometrem přenosu světla (AA a adenosin difosfát byly použity jako agonisté). Výsledkem byl index reaktivity P2Y<sub>12</sub> (což je indikátor rezistence na klopidogrel), který se při podávání  $\omega$ -3 PUFA ve srovnání s placebem snížil o 22% (Gajos et col., 2010).

### 2.7.3 Alzheimerova choroba

Alzheimerova choroba (AD) je devastující onemocnění. Nástup je pozvolný se ztrátou epizodické paměti jako včasného indikátoru onemocnění. Současně schválené léky mají malý, ale statisticky významný symptomatický účinek na kognici, chování a aktivity každodenního života, ale neovlivňují základní proces onemocnění (Freund-Levi et al., 2006). Celosvětově se pro zjištění kognitivních funkcí a včasnému záchytu demence používá test kognitivních funkcí (MMSE – *mini mental state exam*). Skládá se z 30 otázek, které testují orientaci pacienta v prostoru a čase, čtení, psaní a krátkodobou paměť (Štěpánková, 2014). Vyhodnocení MMSE se nachází v tabulce 4.

**Tabulka 4 Mini-Mental State Examination**

Počet bodů	Hodnocení
27-30	Normální kognitivní funkce
25-26	Mírná kognitivní porucha
18-24	Lehká demence
6-17	Středně těžká demence
<6	Těžká demence

Zdroj: vlastní zpracování podle (Štěpánková, 2014)

Bylo provedeno mnoho studií týkajících se vztahu mezi AD a  $\omega$ -3 PUFA. DHA je totiž přítomen ve velkém množství fosfolipidů neuronové membrány, kde se podílí na správné funkci nervového systému a proto se předpokládá, že hraje roli v AD. Dieta charakterizovaná vyšším příjmem jídel s  $\omega$ -3 PUFA (saláty, ořechy, ryby, rajčata,...) na rozdíl od opačné diety s nižším příjmem  $\omega$ -3 PUFA (mléčné výrobky, maso, máslo,...),

byla spojena s nižším rizikem AD (Gu, et al., 2010). Studie s pacienty s kognitivním poškozením (MMSE skóre <24) ukázala, že hladiny sérových cholesteryl esterů EPA a DHA byly významně nižší ( $P < 0,05$  a  $P < 0,01$ ) (Tully et al., 2003). Ačkoli výsledky týkající se chorobných procesů AD se zdají být slibné, existují protichůdné údaje, týkající se použití  $\omega$ -3 PUFA z hlediska kognitivních funkcí. Například analýza pacientů s mírným až středním stupněm AD (MMSE skóre <15) léčených denní dávkou DHA (1,7g) a EPA (0,6g) zjistila, že po 6 měsících se pokles kognitivní funkce mezi placebem a DHA a EPA nelišil. Přesto v podskupině s velmi mírnou kognitivní dysfunkcí (skóre MMSE >27) bylo zaznamenáno významné snížení míry poklesu MMSE u skupiny s příměsí DHA+ EPA oproti placebo (Freund-Levi et al., 2006).

## **2.8 Zánětlivé procesy**

Zánět v těle vzniká působením různých podnětů, ať už se jedná o bakterie, viry či mechanické a termické poškození. Jedná se o obrannou odpověď organismu z důvodu nutnosti obnovení homeostázy (Lincová & Farghali, 2007). Obecně se má za to, že kontrolovaná zánětlivá odpověď organismu je přínosná (například při ochraně před infekcí), ale může se stát škodlivou, pokud je deregulovaná (například způsobí septický šok) (Medzhitov, 2008a). Účinnost zánětlivé odpovědi spočívá v schopnosti provést rychlou reakci odpovídající zánětlivému spouštěči a co nejvíce omezit škodlivé aspekty zánětu. Ideální zánětlivá odpověď je rychlá, destruktivní (je-li to nutné) a specifická (Barton, 2008).

Podle rozsahu obranné odpovědi, rozlišujeme zánět na lokální a systémový (celotělový).

Římský vzdělanec Aulus Cornelius Celsus (cca 25 př. Kr. – 50. po Kr.) jako první odborně popsal zánět, tedy jeho hlavní příznaky. Mezi ně patří: zarudnutí (rubor), otok (tumor), horkost (calor), bolestivost (dolor) a posléze popisovaný pátý znak-porucha postižených orgánů (Frej, 2015).

SIRS (*systematic inflammatory response syndrome*), neboli syndrom systémové zánětlivé odpovědi, je generalizovaná akutní zánětlivá reakce, která se rozšiřuje na celý organismus. Spočívá v intenzivní a nevyvážené imunitní odezvě na primární lokální, mnohočetné nebo kombinované poškození. Zánět při SIRS ztrácí svůj obranný charakter

a mění se v delokalizovaný a deregulovaný autoagresivní proces. Hlavní rozdíl mezi SIRS a normální zánětovou reakcí, je ve ztrátě její kontroly<sup>10</sup> (Veselý, 2012).

### 2.8.1 Akutní zánětlivá fáze

Předstupněm zánětu je samotné poškození tkáně tzv. alterace. Ta zahrnuje všechny změny v tkáni, či orgánu. V nejhorším případě může vést až k nekróze. Posléze nastává vazokonstrikce, jakožto reakce na podráždění. Dále následuje akutní fáze, která vede k lokální vazodilataci se zvýšenou kapilární permeabilitou. Je to důležité pro zvýšení koncentrace potřebných substancí v místě poranění (Lincová & Farghali, 2007). Dochází k aktivaci receptorů vrozeného imunitního systému, tzv. PRRs (*pattern recognition receptors*), které jsou schopné rozpoznávat molekuly typické pro patogeny. Receptory nacházející se na membránovém povrchu se nazývají Toll-like receptory (TLR) a C-lektinové receptory (CLR), uvnitř cytoplazmy jsou to receptory NOD (*nucleotide-binding oligomerization domain-like*) receptory (NLR) (Barton, 2008).

TLR obsahují extracelulární doménu se sérií replik bohatých na leucin (LRR) a intracelulární doménu se signalizačním modulem nazývaným doména receptoru Toll/IL-1 (TIR) (Barton, 2008).

Toto počáteční rozpoznání infekce je zprostředkované tkáňově rezidentními makrofágy a žírnými buňkami, což vede k produkci různých mediátorů zánětů, včetně chemokinů, cytokinů, vazoaktivních aminů, eikosanoidů a produktů proteolytických kaskád (Medzhitov, 2008b). Histamin, eikosanoidy a tryptázy způsobují vazodilataci (zodpovědnou za teplo a zarudnutí) a extravazaci tekutiny (příčina otoku) (Medzhitov, 2008a). Nahromaděním leukocytů vzniká hnisavá tekutina, popřípadě se v dutých prostorech může hromadit jen vodnatá tekutina (vznik puchýře) (Frej, 2015). Cílem je vyvolání zánětlivého exsudátu, plazmatické bílkoviny a leukocytů (především neutrofilů) migrujících z kapilár do zánětlivé tkáně (Medzhitov, 2008a).<sup>11</sup>

---

<sup>10</sup> Intenzita SIRS je úměrná síle a rozsahu působení škodlivého podnětu. Jeho rozvoj mohou modifikovat genetické dispozice. U hypersenzitivních osob se může vyvinout i po působení malého podnětu. Může být i spojen s infekcí (septický SIRS) (Veselý, 2012).

<sup>11</sup> Neutrofilů významně přispívají k náboru, aktivaci a programování dendritických buněk a makrofágů (Medzhitov, 2008a).

Neutrofilů jsou primárně aktivovány TNF a leukotrieny produkovanými žírnými buňkami a jinými neutrofilů, což vede k uvolnění malého množství elastázy. Ta štěpí antiadhezivní vrstvu CD43 (leukosialin) z neutrofilů, přičemž umožňuje jejich integrínům zachytit extracelulární matricové proteiny (Nathan, 2002).

Po dosažení postiženého místa v tkáni se tedy neutrofilů aktivují buď přímým kontaktem s patogenem nebo působením cytokinů. Neutrofilů se snaží zabít invazivní látky uvolněním toxického obsahu, který zahrnuje reaktivní druhy kyslíku (ROS) a dusíku (NOS), proteinázu 3, katepsin G a elastázu (Nathan, 2006).

Jak již bylo řečeno, hlavním složkou buněčných membrán jsou fosfolipidy. Pokud v těle dojde k zánětlivé reakci, aktivuje se fosfolipáza<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>), která je schopná degradovat fosfolipidy s kyselinou arachidonovou (Lüllman, Mohr, & Hein, 2012). Fosfolipáza<sub>2</sub> je enzym katalyzující hydrolýzu sn-2 polohy membránových glycerofosfolipidů, což vede k produkci volných mastných kyselin a lyzofosfolipidů (Kudo & Murakami, 2002). V případě esterifikované kyseliny arachidonové, což je volná kyselina se čtyřmi dvojnými vazbami, se po uvolnění ihned metabolizuje cyklooxygenázou (COX) nebo lipooxygenázou (LOX). Oba tyto enzymy jsou regulovány koncentrací peroxidu v místě zánětu. COX katabolizuje přeměnu AA na nestabilní meziproducty PGG<sub>2</sub> a PGH<sub>2</sub>, dále vede k tvorbě prostaglandinu, tromboxanu a prostacyklínů (Lüllman et al., 2012). AA je mimo jiné i substrátem pro enzymatické transformace, které tvoří biologicky aktivní lipidové mediátory jako jsou leukotrieny, epoxyeikosatetraenová kyselina a endokanabinoidy (Martin, Brash, & Murphy, 2016).

Existují dvě izoformy COX, a to COX-1 a COX-2. Konstitutivní enzym, který je exprimovaný ve většině tkání je COX-1, syntetizuje cytoprotektivní PG ve sliznici GITu, dále ovlivňuje hemodynamiku ledvin, syntézu tromboxanu A<sub>2</sub> a v neposlední řadě má vazodilatační účinky (Martínková, 2007). Naopak COX-2 je důležitý zdroj prostanoidů v místě zánětu. Je indukován při zánětu působením cytokinů (IL-1 a TNF-alfa). Pokud tento izoenzym zablokujeme, povede to k protizánětlivému, analgetickému a imunosupresivnímu účinku. Je také prokázáno, že COX-2 je spjat s onkogenezí, jeho nadměrná exprese byla pozorována u různých nádorů. Podílí se na neurologických poruchách jako je Alzheimerova a Parkinsonova choroba (de Vries, 2006).

Úspěšná akutní zánětlivá odpověď má za následek odstranění infekčních agens, poté následuje fáze opravy, která je zprostředkována makrofágy (Serhan & Savill,

2005). Zánět vede k tvorbě hnisu a následně se objeví ostrůvky novotvořené tkáně. Za pomoci leukocytů a fibroblastů se znovu vytvoří tkáň a rána se zacelí. Výsledkem zhojené tkáně je jizva a lze ji najít i na vnitřních orgánech např. srdeční sval po infarktu. Systémová onemocnění jako fibróza nebo sklerodermie mohou pacienta ohrožovat na životě, neboť nahrazují funkční tkáň nefunkčním vazivem (Frej, 2015).

## **2.8.2 Chronická zánětlivá fáze**

Pakliže v akutní zánětlivé fázi nedojde k eliminaci patogenu, zánětlivý proces přetrvává a získává nové vlastnosti (Medzhitov, 2008b). Tato fáze je nazývána subakutní. V případě že nedojde k zastavení zánětlivého procesu, přejde zánět do chronicity a výsledkem je postupná tkáňová degradace s fibrózou (Lincová a Farghali 2007). Infiltrace neutrofilů je nahrazena makrofágy a v případě infekce i T-buňkami. Pokud je kombinovaný účinek těchto buněk stále nedostatečný, dochází k chronickému zánětlivému stavu zahrnujícímu tvorbu granulomů a terciálních lymfatických tkání. Kromě existujících patogenů může dojít k chronickému zánětu z dalších příčin poškození tkáně, jako jsou autoimunitní reakce (v důsledku přetrvávajících antigenů). (Medzhitov, 2008b).

## 2.9 Plynová chromatografie (GC)

GC (*Gas Chromatography*) spadá do kategorie fyzikálně-chemických metod separace směsi látek, jejichž společným znakem je rozdělení molekul jednotlivých složek směsi mezi stacionární a mobilní fází. Dělení složek je založeno na rozdílné rychlosti pohybu těchto látek společně s mobilní fází v důsledku odlišné distribuce látek mezi fází stacionární a mobilní. Principem je tedy ustanovení rovnováhy mezi fází stacionární a mobilní. Odhadem lze pomocí GC analyzovat 10-20 % všech známých látek (Literák & Chromatografie, n.d.). Na rozdíl od kapalinové chromatografie, se GC liší skupenstvím pohyblivé mobilní fáze, kterou je inertní plyn. Druhá fáze, stacionární je umístěna v chromatografické koloně. Je to fáze nepohyblivá a může se jednat o pevnou látku (aktivní uhlí, oxid uhličitý, polymerní sorbenty, silikagel) nebo o vysokovroucí kapalinu, která je nanesená na pevném, inertním nosiči v tenké vrstvě. GC je výlučně kolonová a slouží pro separaci těkavých analytů, za předpokladu jejich převodu do plynného stavu (za použití teploty do 400 °C). Jako inertní plyn lze použít vodík, dusík, argon nebo helium o čistotě 99,99 % až 99,9999 % (Sklenářová, n.d.; Zachař & Sýkora, n.d.; Čabala, 2015).

V první řadě je nutné zajistit dávkování nosného plynu z tlakových lahví do systému. Díky jejich redukčnímu ventilu je zajištěný kontrolovaný tlak, měřený manometrem. Plyn se před vstupem do systému zbavuje vlhkosti pomocí vysoušedla (silikagel). Dávkování vzorků je zajištěno autosamplerem nebo manuálně Hamiltonovou mikrostříkačkou přes pryžové septum. Dávkování vzorku lze rozdělit na:

- dávkování přímo do kolony (*on-column*), typická pro náplňové kolony, kde je jedinou možností nadávkování vzorku, dávkovací objemy jsou 1–10 µl a koncentrace 5–10 % (v/v), objem vzorku zaveden na začátek kolony nebo do lineru<sup>12</sup>
- s děličem toku (*split*), typická pro kapilární kolony, dávkovaný objem je stříkačkou zaveden přes septum do lineru, je využita pouze část objemu vzorku, zbylá část odchází děličem do atmosféry, dávkované objemy 0,1 - 2µl,

---

<sup>12</sup> Liner zabraňuje vzorku styk s horkým kovovým povrchem, zabraňuje jeho rozkladu a zadržuje netěkavé složky vzorky, kvůli případné kontaminaci kolony. Umožňuje především jeho zplynění. Je skleněný, křemenný či kovový a deaktivovaný (Čabala, 2015).



koncentrace 5-10 % (v/v), split se používá pro koncentrované a poměrně znečištěné vzorky

- bez děliče toku (*splitness*), využívá se u kapilárních kolon převážně u velmi zředěných vzorků, velká část objemu vzorku je zavedena do kolony, vhodná pro stopovou analýzu
- s programovou teplotou (*Programmed-Temperature Vaporizer, PTV*)
- velkoobjemové (*Large Volume Injections, LVI*)
- pyrolýza (Čabala, 2015)

Vzorek se nastříkne do nástříkové komory (injektoru), zde se odpaří a je v plynné podobě unášen nosným plynem přes celou kolonu. Kolona musí být v termostátovém prostoru, teplota kolony nesmí být zbytečně vysoká, docházelo by ke zhoršení separace (Sklenářová, n.d.).

Kolony lze rozdělit na dva typy:

- Náplňové kolony – průměr 1-8 mm, délka 1-5 m, plněné silanizovanou křemelinou, silikagelem nebo aktivním uhlím, modernějšími sorbenty jsou styren-divinylbenzenový polymer nebo zesíťovaný polyakrylát. Separovat lze na principu rozdělovacím (*gas-liquid chromatography = GLC*), nebo na principu adsorpčním (*gas-solid chromatography = GSC*), kdy stacionární fáze tvoří náplň kolony nebo je nanesena jako porézní vrstva na vnitřní povrch kapilární kolony (PLOT, viz dále). Kolony se vyrábějí z nerezů nebo skla.
- Kapilární kolony – průměr 0,5-0,15 mm, délka 10–100 m, nižší kapacita, separace pouze GLC, na vnitřním povrchu kapiláry je stacionární kapalná fáze na základě polyethylenglykolu (fáze polární), methyl-polysiloxanů nebo polysiloxanů (nepolární fáze), které mají navázané funkční skupiny o různé polaritě.
  - WCOT (*Wall Coated Open Tubular*), tato kolona se vyrábí z křemenného skla, poskytuje výborné rozlišení a funguje na principu zakotvení kapalně polymerní stacionární fáze na vnitřní stěně kapiláry
  - SCOT (*Support Coated Open Tubular*), u této kolony jsou na vnitřní stěně kapiláry zachyceny částice nosiče pokryté kapalnou fází
  - PLOT (*Porous Layer Open Tubular*), na vnitřní stěně kapiláry je zachycen adsorbent ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) (Čabala, 2015).

Jednotlivé složky vzorku postupují kolonou rychlostí, která je závislá na distribuční konstantě  $K_D = c_s/c_m$ .  $c_s$  a  $c_m$  jsou rovnovážné koncentrace složek ve stacionární a mobilní fázi. V pořadí rostoucích hodnot  $K_D$  látky vycházejí z kolony a vstupují do detektoru. Pro zajištění stability odezvy detektoru a případné nebezpečí kondenzace eluátu, musí být detektor termostatován (Zachař & Sýkora, n.d.).

Typy nejpoužívanějších detektorů:

- Plamenový ionizační detektor (*FID, Flame Ionization Detector*) – plyn z kolony je zaveden do kyslíkovo-vodíkového plamene, ve kterém probíhají společně s hořením i ionizační reakce vedoucí ke vzniku iontů. Ty se detekují na polarizovaných elektrodách, na základě změny elektrického proudu. Je destruktivní, hmotový a málo selektivní (schopen detekovat téměř všechny organické látky v širokém rozmezí koncentrací)
- Teplotně vodivostní detektor = katharometr (*TCD, Thermal Conductivity Detector*) – nedestruktivní, koncentrační a neselektivní (univerzální)
- Detektor elektronového záchytu (*ECD, Electron Capture Detector*) – nedestruktivní, hmotový, selektivní (Literák & Chromatografie, n.d.)

Výsledný grafický záznam se nazývá chromatogram, jedná se o závislost signálu detektoru na čase. Obsahuje n-eluční křivky neboli píky analyzovaných složek vzorku. Základní kvantitativní parametr je plocha pod píkem (AUC). AUC je úměrná množství látky ve stanovovaném vzorku a lze podle polohy píku předpokládat identitu látky (Čabala, 2015).

## 3. Experimentální část

### 3.1 Chemikálie

- Acetylchlorid (Merc, Německo)
- Destilovaná voda (Výzkumná laboratoř III. interní gerontometabolická klinika ve Fakultní nemocnici Hradec Králové)
- Fyziologický roztok NaCl 0,9 % (Braun, Německo)
- Helium (SIAD, ČR)
- Kapalný dusík (SIAD, ČR)
- Kyselina heptadekanová (Sigma-Aldrich, Německo)
- Metanol (Merc, Německo)
- Metyl-terc-butyléter (Sigma-Aldrich, Německo)
- Toluén (Merck, Německo)
- Uhličitan draselný (Merck, Německo)

### 3.2 Přístrojové vybavení a pomůcky

- Centrifuga 5810R (Eppendorf, Německo)
- Homogenizátor T18 Basic ULTRA-TURRAX (IKA, Německo)
- Horkovzdušný sterilizátor Stericell 55 (Brněnská medicínská technika, ČR)
- Chromatograf GC 8000 series (Fisions Instruments, USA)
- Kapilární kolona SP 2330 (30 m x 0,25 mm x 0,2 μm) (Supelco, USA)
- Kleště krimpovací elektronické
- Laboratorní sklo a plast, laboratorní rukavice
- Laboratorní váhy LE 62S-OCE (Sartorius, Německo)
- Mikropipety a pipety
- Rotátor SB3 (Stuart, Velká Británie)
- Skalpel
- Termoblok QBT2 Digital (Grant, Velká Británie)
- Třepačka Roller 6 Digital (IKA, Německo)
- Vortex Lab Dancer Vario Yellow Line (IKA, Německo)

### **3.3 Biologický materiál**

V období od 27 .6 .2018 do 1. 2. 2019 jsme sbírali vzorky biologického materiálu ke stanovení mastných kyselin. Vzorky byly odebrány od 20 zemřelých rozdělených do dvou skupin. Sběr proběhl ve spolupráci s Fakultní nemocnicí v Hradci Králové, konkrétně s Ústavem soudního lékařství Lékařské fakulty Univerzity Karlovy. Od každého zemřelého bylo odebráno 7ks vzorků ze sedmi druhů tkání, celkem bylo analyzováno 140 vzorků. Z každého orgánů bylo odebráno cca 20 g tkáně. Seznam odebraných typů tkání je uveden v tabulce 5.

**Tabulka 5 Seznam odebraných vzorků**

POŘADÍ	ODEBRANÁ TKÁŇ
1.	Subendokardiální tkáň z levé komory – srdeční tkáň
2.	Tkáň z parenchymu jater
3.	Korová část ledvin
4.	Tkáň nadledvin
5.	Kosterní sval – biceps pravé ruky
6.	Břišní podkožní tuková tkáň
7.	Mozková tkáň – kůra z frontálního laloku

Zdroj: Vlastní zpracování

### **3.4 Základní charakteristika výzkumného souboru**

Analyzovány byly dvě skupiny zemřelých, kteří byli rozděleni podle příčin úmrtí. Do skupiny A byli zařazeni náhle zemřelí, jinak zdraví jedinci. Nejčastějšími příčinami úmrtí byly například dopravní nehody a různé náhodné příčiny jako oběšení, zhmoždění mozku, utopení a vnitřní vykrvácení. Celkově bylo do skupiny A zařazeno 10 zemřelých.

Primární údaje o zemřelých ze skupiny A, včetně příčiny a typu úmrtí jsou zaneseny v tabulce 6.

**Tabulka 6 Charakteristika skupiny A**

	Věk	Pohlaví	Příčina úmrtí	Typ úmrtí	Datum odběru
1.	27	žena	výhřez mozku	skok pod vlak, sebevražda	01. 02. 2019
2.	38	žena	utopení	utopení	18. 01. 2019
3.	40	žena	zhmoždění a částečné přerušování krční míchy	úraz	24. 01. 2019
4.	25	muž	vnitřní vykrvácení	pracovní úraz	30. 01. 2019
5.	25	muž	rozhoždění mozkového kmene	pracovní úraz	29. 01. 2019
6.	40	žena	oběšení	oběšení	01. 11. 2018
7.	19	muž	oběšení	oběšení	26. 11. 2018
8.	22	muž	oběšení	oběšení	27. 06. 2018
9.	32	muž	zhmoždění mozku	dopravní úraz	01. 10. 2018
10.	25	muž	zhmoždění mozku	dopravní úraz	02. 10. 2018

Zdroj: Vlastní zpracování podle Ústavu soudního lékařství Lékařské fakulty Univerzity Karlovy

Do skupiny B jsme umístili polymorbidní, dlouhodobě nemocné pacienty. U těchto starších jedinců se předpokládají chorobné stavy a rozvinutý zánětlivý proces v době úmrtí. Údaje o příčině úmrtí, typu úmrtí a chorobném stavu zemřelých jsou zaznamenány v tabulce 7. Ve skupině B se nachází 10 zemřelých.

**Tabulka 7 Charakteristika skupiny B**

	Věk	Pohlaví	Příčina úmrtí	Typ úmrtí	Chorobný stav	Datum odběru
1.	65	muž	srdeční selhání	náhlé úmrtí	AT, dilatační kardiomyopatie, rozedma plic, ICHS, ICHDK, chronická hepatopatie	03. 01. 2019
2.	72	muž	kardiopulmonální selhání	náhlé úmrtí	AT, AD, hnisavý zánět průdušek	09. 01. 2019
3.	77	muž	kardiopulmonální selhání	náhlé úmrtí	AT, DM 2 s renální nedostatečností, ICHDK, AH, tumor žaludku, CHOPN	19. 12. 2018
4.	86	muž	těžký úrazový otok mozku	pád v domácím prostředí	AT, protisrážlivá léčba, CHOPN, renální insuficience, DM 2, hyperlipoproteinémie, AH, fibrilace síní	21. 12. 2018
5.	78	muž	srdeční selhání	náhlé úmrtí	AT, CHOPN, Parkinsonova demence, vyhublost	26. 10. 2018
6.	67	muž	zhmoždění mozku	střelné poranění hlavy	AT, fibróza jater, etylismus	04. 09. 2018
7.	73	žena	srdeční selhání	náhlé úmrtí	AT, cirhóza jater, AH, AD, chronická renální insuficience, hyperlipidémie, hyperurikémie, hyperparathyreóza	03. 10. 2018
8.	94	žena	otok a útlak mozku	pád v domácím prostředí	AT, AH, AD, astma, chronická fibrilace síní na antikoagulancích	02. 10. 2018
9.	62	muž	masivní tuková embolie plic	dopravní úraz	AT	05. 09. 2018
10.	76	muž	pravostranné srdeční selhání	náhlé úmrtí	AT, AH, DM2, ICHS, CHOPN, plicní fibróza, fibrilace síní	23. 10. 2018

Vysvětlivky: AT – ateroskléроза 1.-3. stupně, AD – Alzheimerova demence, AH – arteriální hypertenze, DM2 – diabetes mellitus 2.stupně

Zdroj: Vlastní zpracování podle Ústavu soudního lékařství Lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Hradec Králové

V experimentální části jsme použili vzorky odebrané od 20 zemřelých, přičemž z celkového počtu se jednalo o 6 žen a 14 mužů. Průměrný věk všech zemřelých ze skupiny A i B dosahoval hodnotu  $52,2 \pm 24,9$  let (medián 51,0). Průměrný věk ve skupině A byl  $29,3 \pm 7,7$  let (medián 26,0) a ve skupině B  $75,0 \pm 9,7$  let (medián 74,5).

Průměrný věk všech žen představoval  $52,0 \pm 25,7$  let (medián 40,0), ve skupině A  $36,3 \pm 6,2$  let (medián 39,0) a ve skupině B  $83,5 \pm 14,8$  let (medián 83,5).

U mužů ze skupiny A i B byl průměrný věk  $52,2 \pm 25,6$  let (medián 63,5), ve skupině A  $24,7 \pm 4,3$  let (medián 25,0) a ve skupině B  $72,9 \pm 7,9$  let (medián 74,0).

### **3.5 Pracovní postup**

Odebraný biologický materiál jsme z Ústavu soudního lékařství Lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Hradec Králové transportovali v co nejkratším čase do laboratoře na oddělení Centra výzkumu a vývoje Fakultní nemocnice Hradec Králové. Vzorky byly až do doby analýzy uskladněny při teplotě  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

#### **3.5.1 Příprava a homogenizace vzorků**

Tkáně, které se až do doby stanovení nacházely v mrazicím boxu, jsme nechali při laboratorní teplotě rozmrazit. Pomocí skalpelu jsme vzorky nakrájeli a rozdělili na menší části. Na laboratorních vahách jsme navážili vzorky o hmotnosti 1,1-1,2 g. Aby se tkáň dobře zhomogenizovala, musel být navážený vzorek pečlivě rozmělněn skalpelem. Nakrájené vzorky jsme vložili do plastových odběrových nádobek (sputovek) a přidali 2 ml fyziologického roztoku (0,9 % NaCl). Takto předpřipravenou tkáň jsme mechanicky rozrušili pomocí homogenizátoru a odpipetovali  $200\mu\text{L}$  zhomogenizovaných tkání do skleněných vialek. Vzorky všech tkání jsme zpracovávali totožně.

#### **3.5.2 Extrakce a reextrakce lipidů**

Do připravených vialek jsme napipetovali 5 ml metyl-terc-butyléteru (MTBE) a 1,5 ml methanolu. Následně jsme vialky uzavřeli šroubovacími víčky s vloženým septem, aby nedošlo k úniku organické fáze. Septum je z vnější strany potažené silikonem a z vnitřní strany je chráněno inertním polytetrafluorethylenem neboli teflonem. Takto připravené vzorky jsme skladovali do dalšího stanovení v lednici o

teplotě 4-5°C.

Dalším krokem extrakce lipidů bylo důkladné promíchání na vortexu. Bezprostředně poté jsme za pomoci válcovité třepačky vzorky krouživým a otáčivým pohybem nechali 1 hodinu rotovat.

Přidáním 1,25 ml destilované vody jsme iniciovali separaci fází a 10 minut inkubovali za laboratorní teploty. Potom jsme vzorky 10 minut centrifugovali rychlostí 1000 ot/min. Takto jsme urychlili proces sedimentace a díky odstředivé síle došlo k oddělení fází. Vrchní organickou vrstvu jsme odpipetovali skleněnou Pasteurovou pipetou do acylačních zkumavek.

Spodní vrstvu, která zůstala ve vialce, jsme reextrahovali 2ml roztoku v objemovém poměru MTBE: metanol: destilovaná voda (10: 3: 2,5). Opět jsme centrifugovali 10 minut při 1000 ot/min a vrchní organickou vrstvu jsme odpipetovali k první části extraktu. Acylační zkumavky jsme postavili do vyhřívaného termobloku a nastavili teplotu 60 °C. Supernatant neboli tekutinu nad sedimentem, jsme vysušili kapalným dusíkem.

### 3.5.3 Derivatizace mastných kyselin

Po odpaření jsme do zkumavek přidali:

- 50 µL kyseliny heptadekanové rozpuštěné v hexanu, která byla interním standardem
- 1 ml objemového poměru směsi toluen: acetylchlorid (4:1)
- 3 ml metanolu

Takto připravené vzorky jsme ve zkumavce pečlivě uzavřeli víčky s gumovým těsněním a za pomoci vertikálního rotátoru jsme obsah 15 minut míchali. Dále jsme zkumavky inkubovali v předem vyhřátém termostatu o teplotě 100 °C po dobu 1 hodiny. Z důvodu možného úniku organické fáze odpařením jsme vzorky průběžně kontrolovali a popřípadě povolená víčka dotahovali. Po vychladnutí obsahu ve zkumavkách jsme do každé přidali 6 ml připraveného 12% roztoku K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Vzorky jsme opět 15 minut promíchávali na vertikálním rotátoru. Následně byly 5 minut centrifugovány při teplotě 4 °C a 3000 ot/min. Vrchní oddělenou vrstvu jsme odpipetovali do vialek a za pomoci elektrických krimpovacích kleští jsme vialky uzavřeli hliníkovými víčky. Vialky jsme do doby analýzy uchovávali v mrazím boxu.

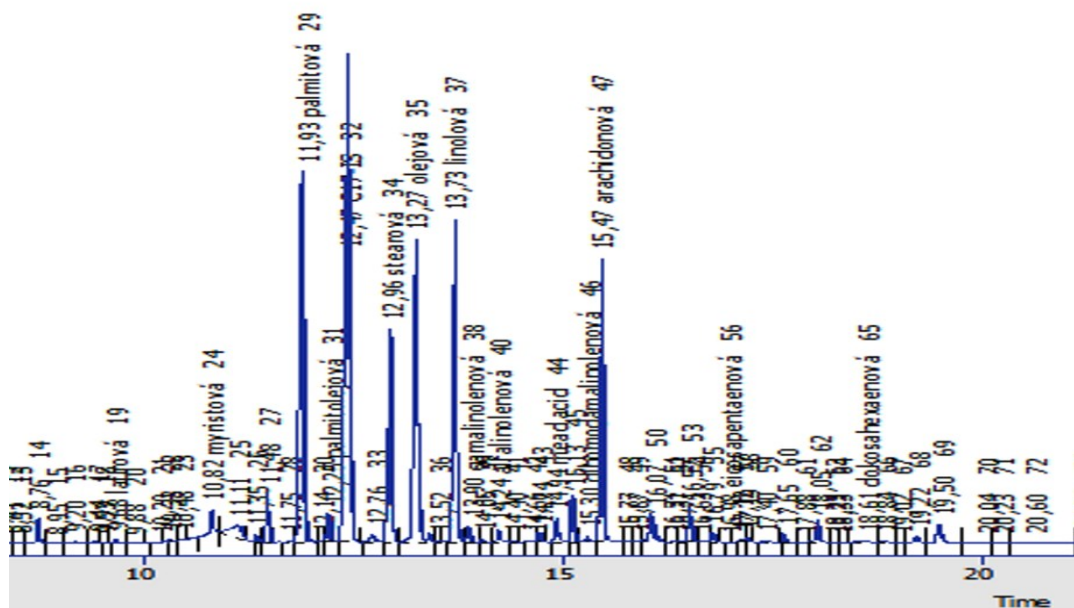


### 3.6 Plynová chromatografická analýza

Pod vedením MUDr. Radomíra Hyšplera, Ph.D. jsme připravené vzorky analyzovali v plynovém chromatografu GS 8000 series s FID detektorem. Pro analýzu jsme použili kapilární kolonu SP™ 23330<sup>25</sup>, analýza probíhala za těchto chromatografických podmínek:

- objem nástřiku 0,5 µL
- teplota injektoru 280 °C
- tlak hélia (nosný plyn) 300 kPa
- teplota detektoru 330 °C
- teplotní gradient 14 °C/1 minutu do výsledné teploty 250 °C
- teplota termostatu kolony po dobu 2 minut počáteční teplota 110 °C

Chromatogram analýzy mastných kyselin, podle něhož jsme se orientovali a počítali s ním, jako se standardem je zobrazen na obrázku 7.



Obrázek 7 Standard mastných kyselin pro analýzu

Zdroj: Výzkumná laboratoř III. gerontometabolické kliniky ve fakultní nemocnici v Hradci Králové

V konečném součtu jsme na chromatogramu identifikovali 14 mastných kyselin a vnitřní standard v tomto pořadí:

- kyselina lauronová (C12:0)
- kyselina myristová (C14:0)
- kyselina palmitová (PA)
- kyselina palmitolejová (POA)
- C17 IS
- kyselina stearová (SA)
- kyselina olejová (OA)
- kyselina linolová (LA)
- kyselina  $\gamma$ -linolenová (GLA)
- kyselina  $\alpha$ -linolenová (ALA)
- kyselina meadová (MA)
- kyselina dihomo- $\gamma$ -linolenová (DGLA)
- kyselina arachidonová (AA)
- kyselina eikosapentaenová (EPA)
- kyselina dokosaheptaenová (DHA)

Standardní záznam jsme porovnávali s námi naměřenými chromatografickými záznamy připravených vzorků. Píky tak bylo možné identifikovat a přiřadit k nim jejich retenční časy.

Pro přiřazování retenčních časů mastných kyselin jsme použili program Clarity od české firmy DataApex. Software k identifikovaným mastným kyselinám automaticky vypočítal i plochu pod každým píkem (AUC-*area under curve*). Jejich procentuální složení jsme vypočítali pomocí metody normalizace. Jedná se o procentuální obsah z AUC všech hodnocených píků.

### **3.7 Statistické vyhodnocení a zpracování dat**

Po získání AUC i procentuálního zastoupení bylo možné jednotlivé mastné kyseliny a jejich skupiny zpracovat pomocí deskriptivní statistiky. Ta uvádí počet analyzovaných hodnot, hodnotu minimální, hodnotu maximální, aritmetický průměr, směrodatnou odchylku (SD – z angl. *standard deviation*), medián, 25% percentil, 75%

percentil a normalitu rozdělení dat. Naměřené hodnoty jsou rozdělené podle jednotlivých tkání (srdce, játra, ledviny, nadledviny, sval, podkožní tuk, mozek) pro obě skupiny zemřelých (A, B). Mimo jiné jsme v programu MS Excel vypočítali další sledované parametry:

- tSFA [%] = sumu nasycených mastných kyselin [%]
- tMUFA [%] = sumu mononenasycených mastných kyselin [%]
- $\omega$ -3 PUFA [%] = sumu  $\omega$ -3 polynenasycených mastných kyselin [%]
- $\omega$ -6 PUFA [%] = sumu  $\omega$ -6 polynenasycených mastných kyselin [%]
- $\Delta$ -9 OA/SA = poměr kyseliny olejové a kyseliny stearové
- AA/EPA = poměr kyseliny arachidonové a kyseliny eikosapentaenové
- $\Delta$ -5 AA/DGLA = poměr kyseliny arachidonové a dihomo- $\gamma$ -linolenové

Ve statistickém vyhodnocení nejsou zpracované hodnoty, které byly vyloučené z důvodu velké odlišnosti (v tabulce zvýrazněno).

Pro statistické zpracování jsme použili software *GraphPad Prism*, ve kterém jsme posuzovali normalitu rozdělení dat pomocí *D'Agostino-Pearson omnibus K2* testu. K určení rovnosti nebo nerovnosti rozptylů mezi skupinami A a B jsme použili Fisherův test (F-test) v programu MS Excel. V případě že jsme schopni F-testem vyvrátit předpoklad rovnosti rozptylů, pro porovnání skupin jsme použili dvou-výběrový Studentův t-test s nerovností rozptylů. Pokud předpoklad rovnosti rozptylů nejsme schopni vyvrátit, k porovnání skupin jsme použili dvou-výběrový t-test s rovností rozptylů. V t-testech se pro určení statisticky významného rozdílu porovnávají aritmetické průměry. Hladina významnosti pro testování statistických hypotéz je  $p = 0,05$ .

## 4. Výsledky

Z důvodu velkého počtu zpracovávaných dat je k této diplomové práci přiložena tabulková příloha A, ve které se nachází naměřené hodnoty rozdělené podle jednotlivých tkání a skupiny A a B.

Data v tabulkách obsahují plochy pod píkem a procentuální zastoupení mastných kyselin v tkáních. Deskriptivní statistika je prezentovaná ve formě počtu hodnot, minimální a maximální hodnoty, aritmetického průměru, SD, mediánu, 25 % a 75 % percentilu a normality rozdělení dat. Dále jsou v % uvedené i další sledované parametry (tSFA, tMUFA,  $\omega$ -6,  $\omega$ -3,  $\Delta$ -9, AA/EPA a  $\Delta$ -5), zpracované pomocí deskriptivní statistiky, vždy zvlášť pro tkáň a skupinu A i B.

V kapitole 6 se nachází tabulky uspořádané podle jednotlivých mastných kyselin a dalších sledovaných parametrů. Porovnávali jsme zde zastoupení a hodnoty mastných kyselin v tkáních a skupinách mezi sebou. Jsou zde prezentované tabulky s uvedenou deskriptivní statistikou a příslušné sloupcové a krabicové grafy jednotlivých mastných kyselin a dalších sledovaných parametrů.

Graf sloupcový představuje průměrné procentuální zastoupení jednotlivých mastných kyselin a dalších sledovaných parametrů. Porovnávali jsme jednotlivé tkáně ve skupině A i B, i pro obě skupiny dohromady.

Graf krabicový zobrazuje komplexní výsledky, získané z deskriptivní statistiky. Dolní a horní "vous" představuje maximální a minimální hodnotu. Dolní a horní hrana krabicového grafu zobrazuje dolní a horní kvartil (0,25 % a 0,75 %). Aritmetický průměr je znázorněn symbolem + a jako medián je označena horizontální čára uvnitř krabice.

K určení statisticky významného rozdílu dané mastné kyseliny v konkrétní tkáni, jsme použili dvou-výběrový t-test s rovností rozptylů nebo dvou-výběrový t-test s nerovností rozptylů. K ověření, o jaký typ t-testu jde, jsme použili F-test. Zda se jedná o statisticky významné nebo nevýznamné rozdíly mezi skupinou A a skupinou B je zaznamenáno v tabulce vždy jako závěrečné shrnutí na konci analýzy jednotlivé mastné kyseliny.

## 4.1 Výsledky jednotlivých mastných kyselin

### 4.1.1 Kyselina laurová (C12:0)

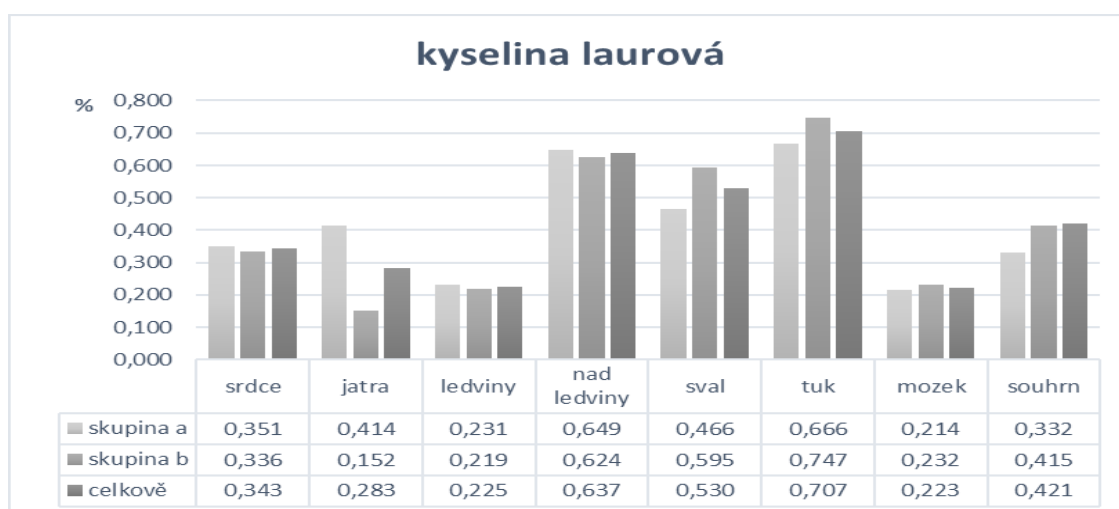
Pro C12:0 je deskriptivní statistika uvedena v tabulce 8.

**Tabulka 8 Kyselina laurová – deskriptivní statistika**

C12:0	srdce A	srdce B	játra A	játra B	ledviny A	ledviny B	nadledviny A	nadledviny B	sval A	sval B	tuk A	tuk B	mozek A	mozek B
počet hodnot	9	10	10	9	10	10	10	10	8	10	9	9	9	10
min.	0,123	0,201	0,051	0,070	0,132	0,116	0,378	0,187	0,304	0,204	0,369	0,220	0,120	0,055
max.	0,471	0,593	0,987	0,254	0,407	0,372	0,977	1,080	0,592	0,992	0,890	1,191	0,287	0,445
arit. průměr	0,351	0,336	0,414	0,152	0,231	0,219	0,649	0,624	0,466	0,595	0,666	0,747	0,214	0,232
SD	0,108	0,117	0,295	0,050	0,096	0,091	0,185	0,304	0,092	0,259	0,164	0,374	0,052	0,119
medián	0,393	0,301	0,329	0,143	0,189	0,221	0,615	0,635	0,465	0,622	0,661	0,759	0,240	0,231
25% percentil	0,280	0,255	0,263	0,124	0,153	0,133	0,531	0,369	0,430	0,380	0,561	0,323	0,175	0,146
75% percentil	0,436	0,424	0,533	0,177	0,316	0,309	0,787	0,844	0,636	0,824	0,842	1,141	0,255	0,317
normalita	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano

Zdroj: vlastní zpracování

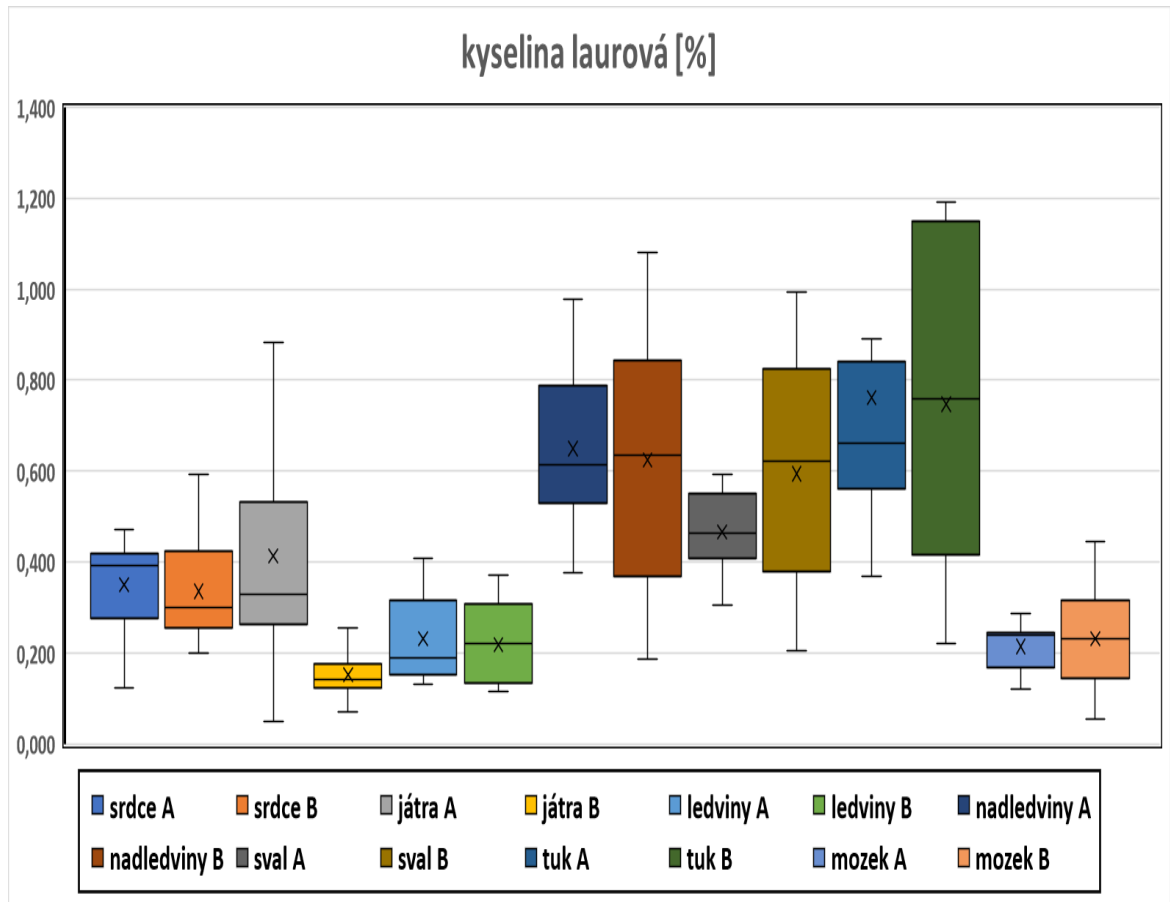
Na obrázku 8 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení kyseliny laurové v analyzovaných tkáních a skupinách mezi sebou i celkově. V jednotlivých tkáních není zaznamenán vzájemný rozdíl, pouze je zde patrný vyšší obsah C12:0 v játrech u skupiny A. U nadledvin, svalů a podkožního tuku je množství C12:0 oproti ostatním tkáním vyšší.



**Obrázek 8 Kyselina laurová – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních**

Zdroj: vlastní zpracování

Graficky znázorněná deskriptivní statistika C12:0 a statisticky významné rozdíly jsou uvedené na obrázku 9.



**Obrázek 9** Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – kyselina laurová

Zdroj: Vlastní zpracování

Obsah C12:0 v tkáních skupiny A a B se statisticky významně lišil pouze u jater. Vyšší hodnota byla zaznamenána pro skupinu A. Kompletní statisticky významné rozdíly jsou znázorněné v tabulce 9.

**Tabulka 9** Statisticky významné rozdíly – kyselina laurová

Skupina A	Skupina B
srdce	= srdce
játra	> játra
ledviny	= ledviny
nadledviny	= nadledviny
sval	= sval
tuk	= tuk
mozek	= mozek

Zdroj: Vlastní zpracování

#### 4.1.2 Kyselina myristová (C14:0)

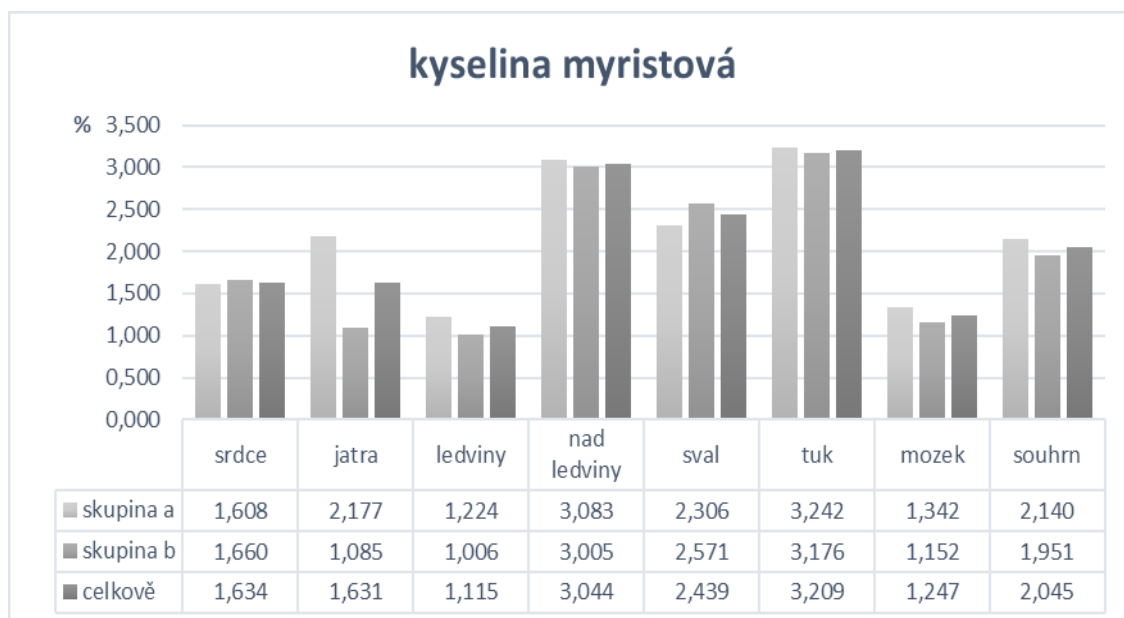
Pro C14:0 je deskriptivní statistika uvedená v tabulce 10.

**Tabulka 10 Kyselina myristová – deskriptivní statistika**

C14:0	srdce A	srdce B	játra A	játra B	ledviny A	ledviny B	nadledviny A	nadledviny B	sval A	sval B	tuk A	tuk B	mozek A	mozek B
počet hodnot	10	10	10	10	10	9	10	10	10	10	9	10	9	10
min.	0,722	1,193	0,803	0,476	0,547	0,680	1,882	1,853	1,549	1,671	2,196	1,844	0,974	1,622
max.	2,559	2,314	4,412	2,274	2,279	1,281	4,450	4,702	3,181	3,721	3,710	4,840	1,917	1,622
arit. průměr	1,608	1,660	2,177	1,085	1,224	1,006	3,083	3,005	2,306	2,571	3,242	3,176	1,342	1,152
SD	0,545	0,406	1,276	0,558	0,595	0,216	0,761	0,933	0,507	0,714	0,482	1,011	0,332	0,348
medián	1,448	1,587	1,813	0,867	1,099	1,069	3,003	3,038	2,367	2,581	3,419	3,032	1,337	1,215
25% percentil	1,255	1,289	1,095	0,685	0,787	0,813	2,644	2,029	1,807	1,792	2,993	2,274	1,048	0,737
75% percentil	2,048	1,956	3,372	1,514	1,593	1,218	3,422	3,561	2,541	3,044	3,672	4,128	1,714	1,427
normalita	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano

Zdroj: vlastní zpracování

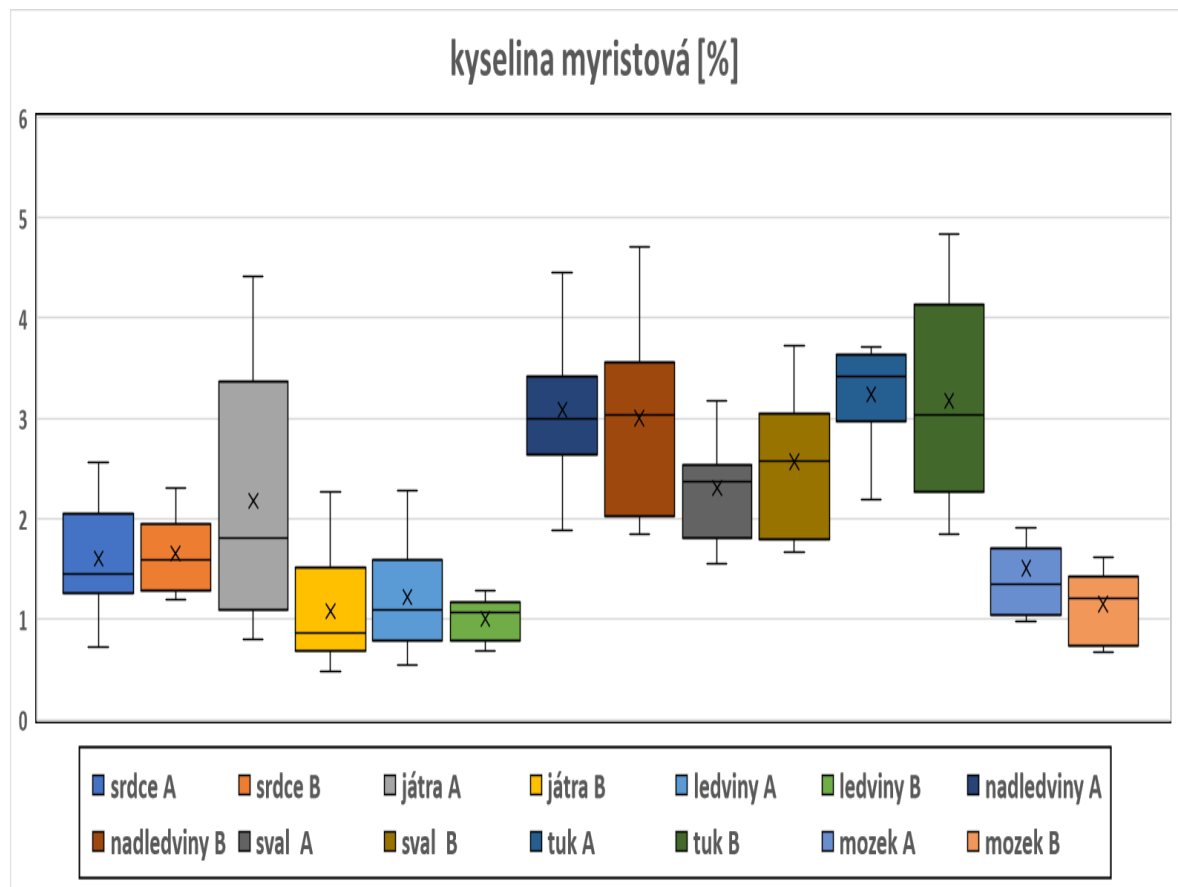
Na obrázku 10 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení kyseliny myristové v analyzovaných tkáních a skupinách mezi sebou i celkově. U nadledvin, svalu a podkožního tuku je množství C14:0 vyšší než u ostatních tkání. Zaznamenaný větší rozdíl ve skupinách A a B se nachází pouze v játrech.



**Obrázek 10 Kyselina myristová – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních**

Zdroj: vlastní zpracování

Graficky znázorněná deskriptivní statistika C14:0 a statisticky významné rozdíly jsou uvedené na obrázku 11.



**Obrázek 11 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – kyselina myristová**

Zdroj: vlastní zpracování

Obsah C14:0 v tkáních skupiny A a B se statisticky významně lišil také pouze u jater. Vyšší hodnota byla zaznamenána pro skupinu A. V porovnání s ostatními tkáněmi se obsah C14:0 v játrech nacházel ve velmi širokém rozmezí. Kompletní statisticky významné rozdíly jsou znázorněné v tabulce 11.

**Tabulka 11 Statisticky významné rozdíly – kyselina myristová**

Skupina A	Skupina B
srdce	= srdce
játra	> játra
ledviny	= ledviny
nadledviny	= nadledviny
sval	= sval
tuk	= tuk
mozek	= mozek

Zdroj: vlastní zpracování



### 4.1.3 Kyselina palmitová

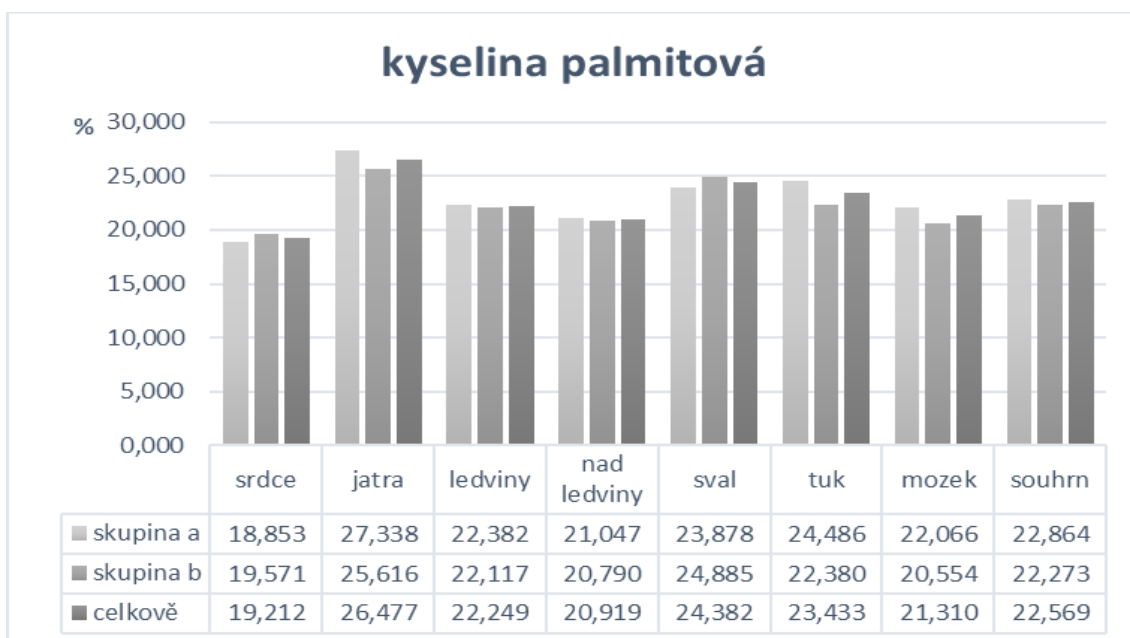
Pro PA je deskriptivní statistika uvedená v tabulce 12.

**Tabulka 12 Kyselina palmitová – deskriptivní statistika**

PA	srdce A	srdce B	játra A	játra B	ledviny A	ledviny B	nadledviny A	nadledviny B	sval A	sval B	tuk A	tuk B	mozek A	mozek B
počet hodnot	9	10	10	9	10	9	9	10	9	10	9	10	10	10
min.	15,986	18,084	21,229	22,552	20,449	21,215	17,428	18,282	22,040	22,270	22,635	20,105	20,610	18,140
max.	20,971	21,982	34,587	28,202	25,916	22,893	23,616	23,631	25,271	27,744	27,383	25,053	23,583	22,639
arit. průměr	18,853	19,571	27,338	25,616	22,382	22,117	21,047	20,790	23,878	24,885	24,486	22,380	22,066	20,554
SD	1,517	1,317	4,071	2,024	1,563	0,615	2,043	1,766	0,898	1,610	1,636	1,693	0,916	1,614
medián	18,642	19,335	26,598	26,142	22,306	22,091	20,671	20,438	23,950	24,692	24,168	22,398	21,998	20,556
25% percentil	18,212	18,362	24,363	23,677	21,339	21,720	19,889	19,434	22,964	23,929	22,811	20,766	21,374	19,195
75% percentil	20,276	20,610	31,203	27,748	22,944	22,818	23,198	22,440	24,411	26,072	25,113	23,786	22,791	22,015
normalita	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano

Zdroj: vlastní zpracování

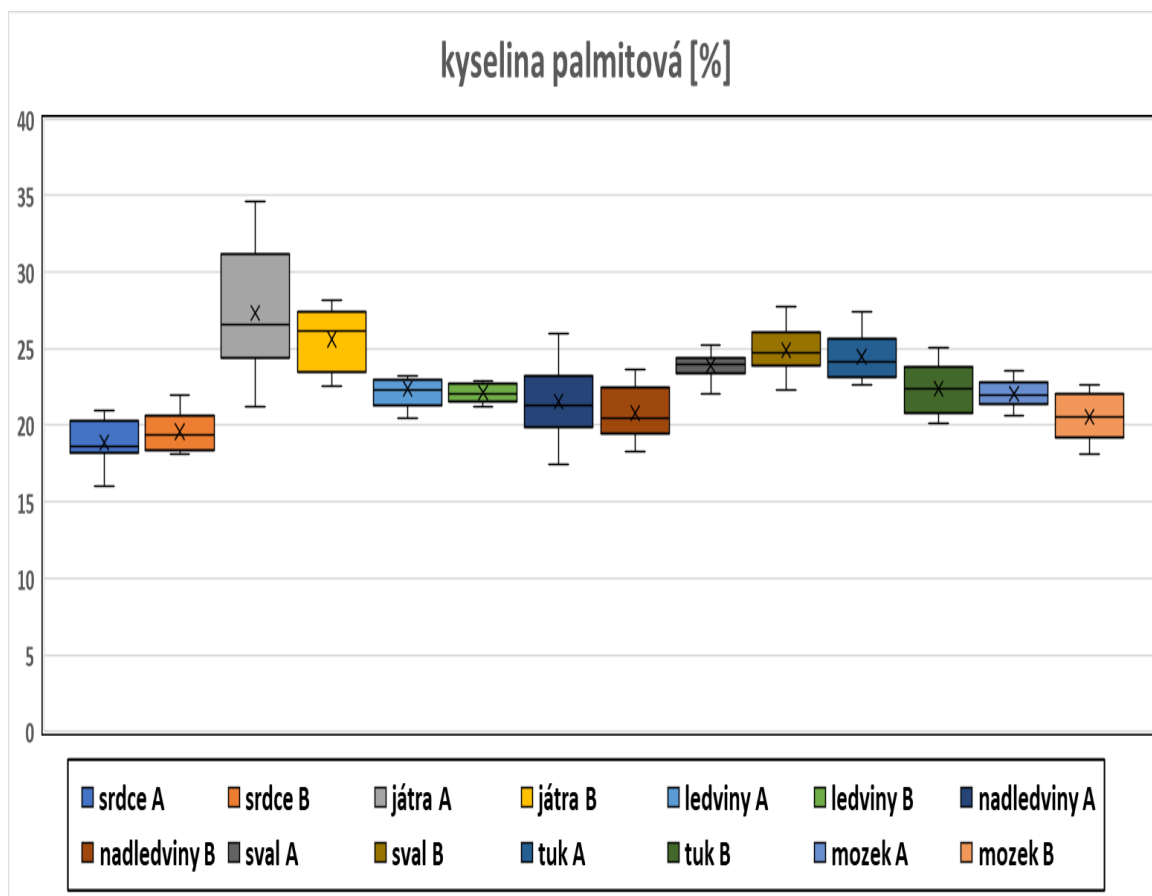
Na obrázku 12 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení kyseliny palmitové v analyzovaných tkáních a skupinách mezi sebou i celkově. Nejsou zde zaznamenané výrazné rozdíly mezi procentuálním zastoupením PA v jednotlivých tkáních.



**Obrázek 12 Kyselina palmitová – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních**

Zdroj: vlastní zpracování

Graficky znázorněná deskriptivní statistika PA a statisticky významné rozdíly jsou uvedené na obrázku 13.



**Obrázek 13 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – kyselina palmitová**

Zdroj: vlastní zpracování

Obsah PA v tkáních skupiny A a B se statisticky významně lišil v podkožním tuku a mozku. Vyšší hodnoty byly v obou případech pro skupinu A. Ve všech sedmi typech tkání se hodnoty PA prakticky neliší. Kompletní statisticky významné rozdíly jsou znázorněné v tabulce 13.

**Tabulka 13 Statisticky významné rozdíly – kyselina palmitová**

Skupina A	Skupina B
srdce	= srdce
játra	= játra
ledviny	= ledviny
nadledviny	= nadledviny
sval	= sval
tuk	> tuk
mozek	> mozek

Zdroj: vlastní zpracování

#### 4.1.4 Kyselina palmitoolejová

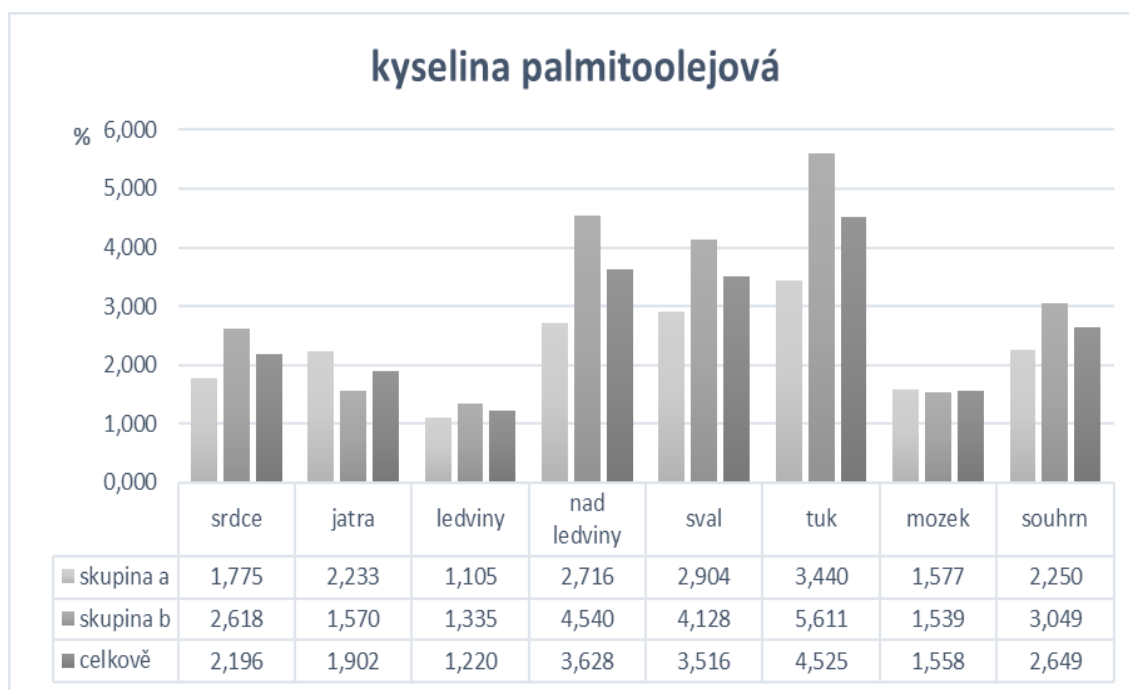
Pro POA je deskriptivní statistika uvedená v tabulce 14.

**Tabulka 14 Kyselina palmitoolejová – deskriptivní statistika**

POA	srdce A	srdce B	játra A	játra B	ledviny A	ledviny B	nadledviny A	nadledviny B	sval A	sval B	tuk A	tuk B	mozek A	mozek B
počet hodnot	10	10	9	8	9	8	8	10	9	9	8	9	10	10
min.	0,858	1,663	0,555	0,937	0,646	1,091	2,239	1,963	2,225	2,475	2,436	2,781	0,821	0,851
max.	2,599	3,870	4,583	2,665	1,667	1,599	3,670	7,893	3,886	6,001	4,231	10,321	2,997	2,487
arit. průměr	1,775	2,618	2,233	1,570	1,105	1,335	2,716	4,540	2,904	4,128	3,440	5,611	1,577	1,539
SD	0,585	0,711	1,421	0,560	0,370	0,174	0,451	1,839	0,598	1,241	0,561	2,849	0,720	0,431
medián	1,607	2,406	1,895	1,487	1,023	1,346	2,595	4,246	2,702	4,140	3,463	4,275	1,337	1,616
25% percentil	1,325	2,101	1,198	1,296	0,775	1,213	2,445	2,946	2,453	3,208	3,271	2,935	1,005	1,254
75% percentil	2,339	3,256	4,487	3,645	1,539	2,203	4,001	6,021	3,620	5,698	4,536	7,244	2,249	1,671
normalita	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano

Zdroj: vlastní zpracování

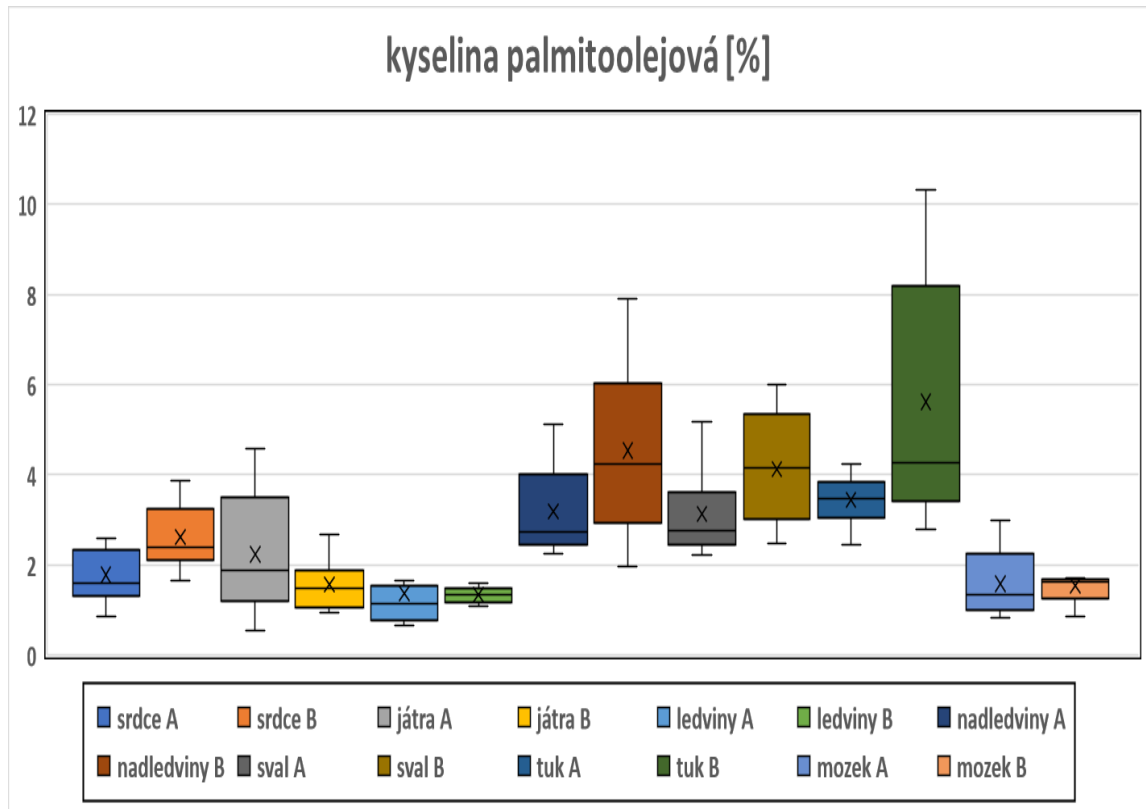
Na obrázku 14 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení kyseliny palmitoolejové v analyzovaných tkáních a skupinách mezi sebou i celkově. V srdci, nadledvinách, svalu a podkožním tuku je patrné, že procentuální zastoupení POA je větší u skupiny B. Poměrně nízké zastoupení bylo v ledvinách a mozku.



**Obrázek 14 Kyselina palmitoolejová – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních**

Zdroj: vlastní zpracování

Graficky znázorněná deskriptivní statistika POA a statisticky významné rozdíly jsou uvedené na obrázku 15.



**Obrázek 15 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – kyselina palmitoolejová**

Zdroj: vlastní zpracování

Obsah POA v tkáních skupiny A a B se statisticky významně lišil v srdci, nadledvinách, svalu a podkožním tuku. Vyšší hodnoty byly zaznamenány ve všech případech pro skupinu B. Při porovnání s ostatními tkáněmi se obsah POA v podkožním tuku výrazně liší. Kompletní statisticky významné rozdíly jsou znázorněné v tabulce 15.

**Tabulka 15 Statisticky významné rozdíly – kyselina palmitoolejová**

Skupina A	Skupina B
srdce	< srdce
játra	= játra
ledviny	= ledviny
nadledviny	< nadledviny
sval	< sval
tuk	< tuk
mozek	= mozek

Zdroj: vlastní zpracování

#### 4.1.5 Kyselina stearová

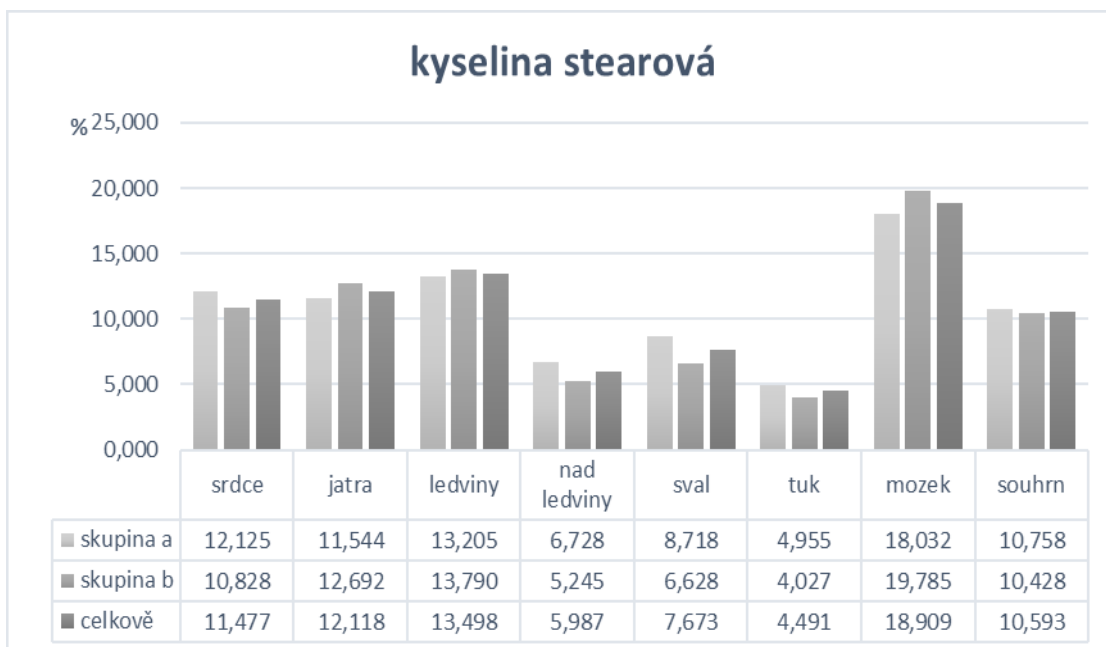
Pro SA je deskriptivní statistika uvedená v tabulce 16.

**Tabulka 16 Kyselina stearová – deskriptivní statistika**

SA	srdce A	srdce B	játra A	játra B	ledviny A	ledviny B	nadledviny A	nadledviny B	sval A	sval B	tuk A	tuk B	mozek A	mozek B
počet hodnot	9	9	9	10	10	9	9	10	10	8	10	10	10	9
min.	9,767	8,189	6,964	9,128	11,000	11,426	5,645	4,665	7,311	6,052	3,604	2,078	14,465	17,226
max.	14,976	13,237	14,988	16,644	14,304	15,524	8,492	6,077	10,891	7,082	6,572	5,578	22,012	21,351
arit. průměr	12,125	10,828	11,544	12,692	13,205	13,790	6,728	5,245	8,718	6,628	4,955	4,027	18,032	19,785
SD	1,881	1,423	2,767	2,737	0,966	1,430	0,909	0,580	1,168	0,377	1,032	1,106	2,736	1,470
medián	11,985	10,952	12,575	13,261	13,084	14,145	6,779	5,291	8,495	6,635	5,026	4,160	17,834	19,714
25% percentil	10,112	9,958	9,067	9,416	12,873	11,937	5,653	4,824	7,626	6,224	3,915	3,253	15,388	18,554
75% percentil	13,802	11,573	14,454	15,120	14,096	14,806	7,090	5,678	9,619	7,025	5,755	4,791	20,507	21,163
normalita	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano

Zdroj: vlastní zpracování

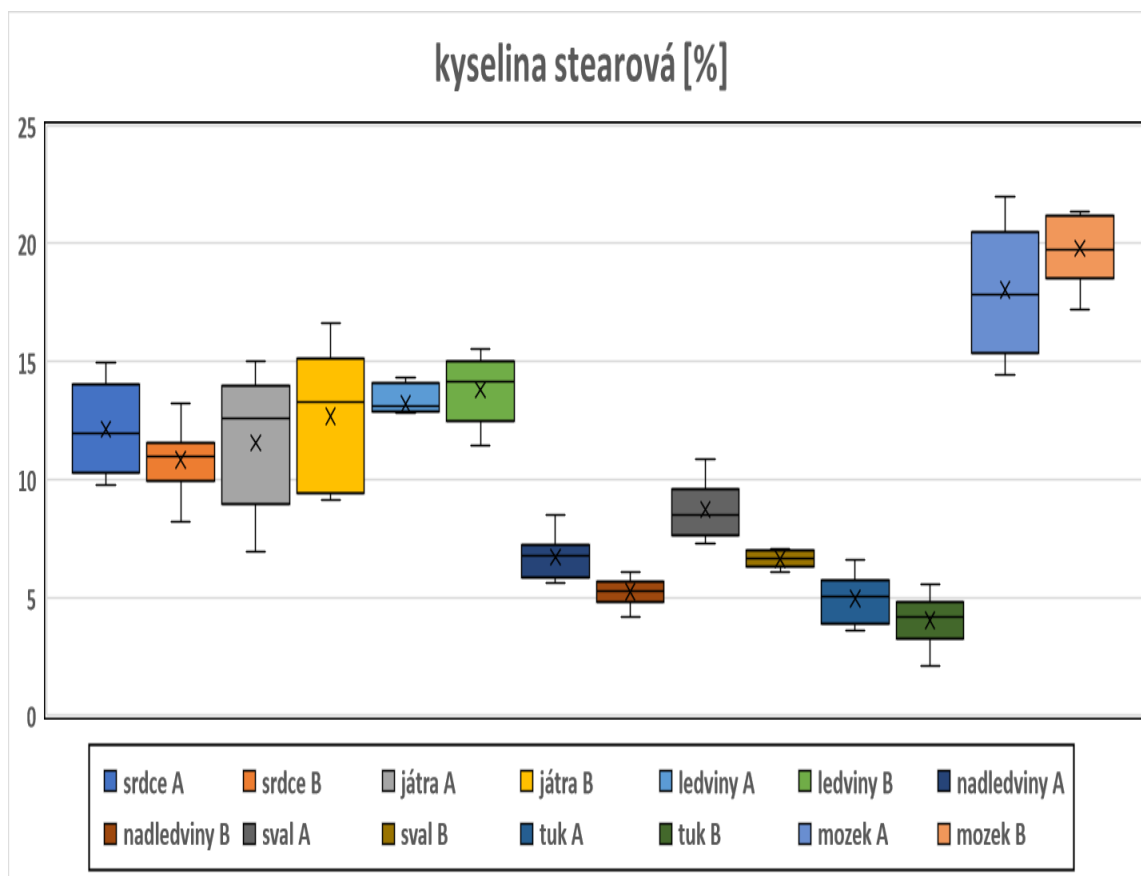
Na obrázku 16 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení kyseliny stearové v analyzovaných tkáních a skupinách mezi sebou i celkově. Vyšší zastoupení SA je u skupiny A i B v mozku, poměrně nízké zastoupení SA je v nadledvinách, svalu a podkožním tuku u obou skupin. Získané hodnoty se v tkáních vzájemně neliší.



**Obrázek 16 Kyselina stearová – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních**

Zdroj: vlastní zpracování

Graficky znázorněná deskriptivní statistika SA a statisticky významné rozdíly jsou uvedené na obrázku 17.



**Obrázek 17 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – kyselina stearová**

Zdroj: vlastní zpracování

Obsah SA v tkáních skupiny A a B se statisticky významně lišil v nadledvinách, svalu, podkožním tuku a mozku. Vyšší hodnota pro skupinu A byla zaznamenána u nadledvin, svalu a v podkožním tuku. Naopak v mozku byly vyšší hodnoty SA ve skupině B. Kompletní statisticky významné rozdíly jsou znázorněné v tabulce 17.

**Tabulka 17 Statisticky významné rozdíly – kyselina stearová**

Skupina A	Skupina B
srdce	= srdce
játra	= játra
ledviny	= ledviny
nadledviny	> nadledviny
sval	> sval
tuk	> tuk
mozek	< mozek

Zdroj: vlastní zpracování

#### 4.1.6 Kyselina olejová

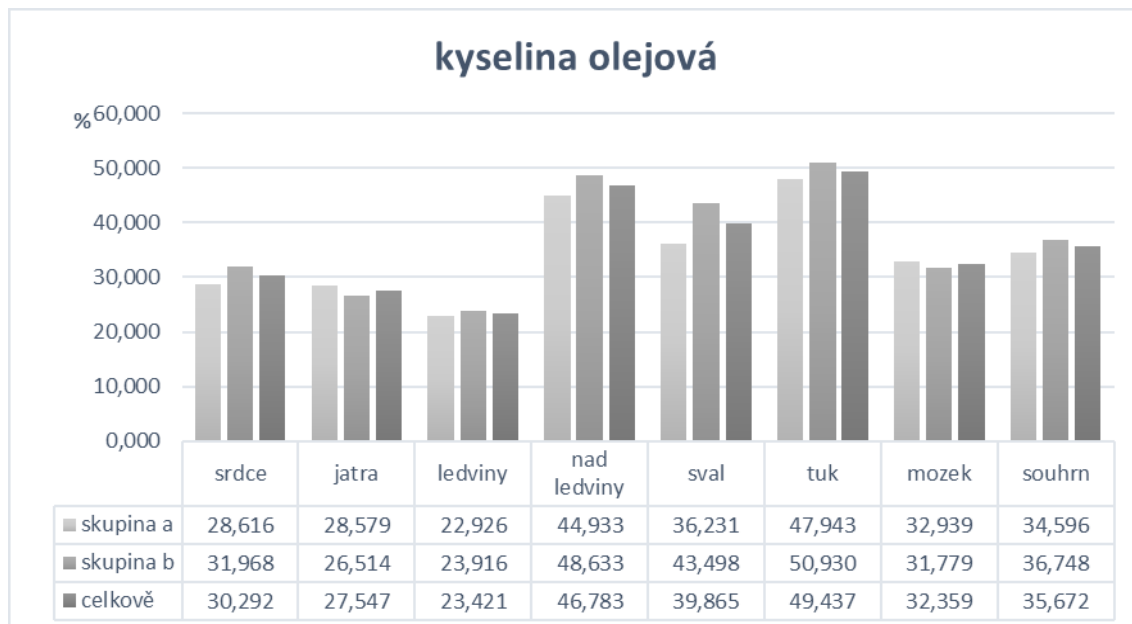
Pro OA je deskriptivní statistika uvedená v tabulce 18.

**Tabulka 18 Kyselina olejová – deskriptivní statistika**

OA	srdce A	srdce B	játra A	játra B	ledviny A	ledviny B	nadledviny A	nadledviny B	sval A	sval B	tuk A	tuk B	mozek A	mozek B
počet hodnot	9	8	8	10	10	8	10	10	10	10	9	10	9	9
min.	19,595	28,139	23,189	19,133	19,748	21,764	39,921	45,300	31,363	37,894	44,001	45,253	28,582	27,874
max.	37,219	40,120	38,509	36,971	28,935	27,018	49,681	52,829	39,230	47,499	51,327	55,582	37,242	35,641
arit. průměr	28,616	31,968	28,579	26,514	22,926	23,916	44,933	48,633	36,231	43,498	47,943	50,930	32,939	31,779
SD	6,177	4,363	5,752	5,761	2,828	1,721	2,902	2,673	2,932	3,383	2,247	3,446	3,252	2,209
medián	26,471	29,666	26,225	24,802	22,521	23,656	45,241	48,698	37,171	44,688	48,092	51,408	34,411	31,629
25% percentil	22,521	28,788	21,588	22,347	20,229	22,617	42,947	46,326	32,795	40,213	44,855	47,580	29,023	30,516
75% percentil	33,470	35,285	30,662	32,629	24,878	28,454	46,680	50,923	38,625	46,320	49,197	53,568	35,412	33,385
normalita	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano

Zdroj: vlastní zpracování

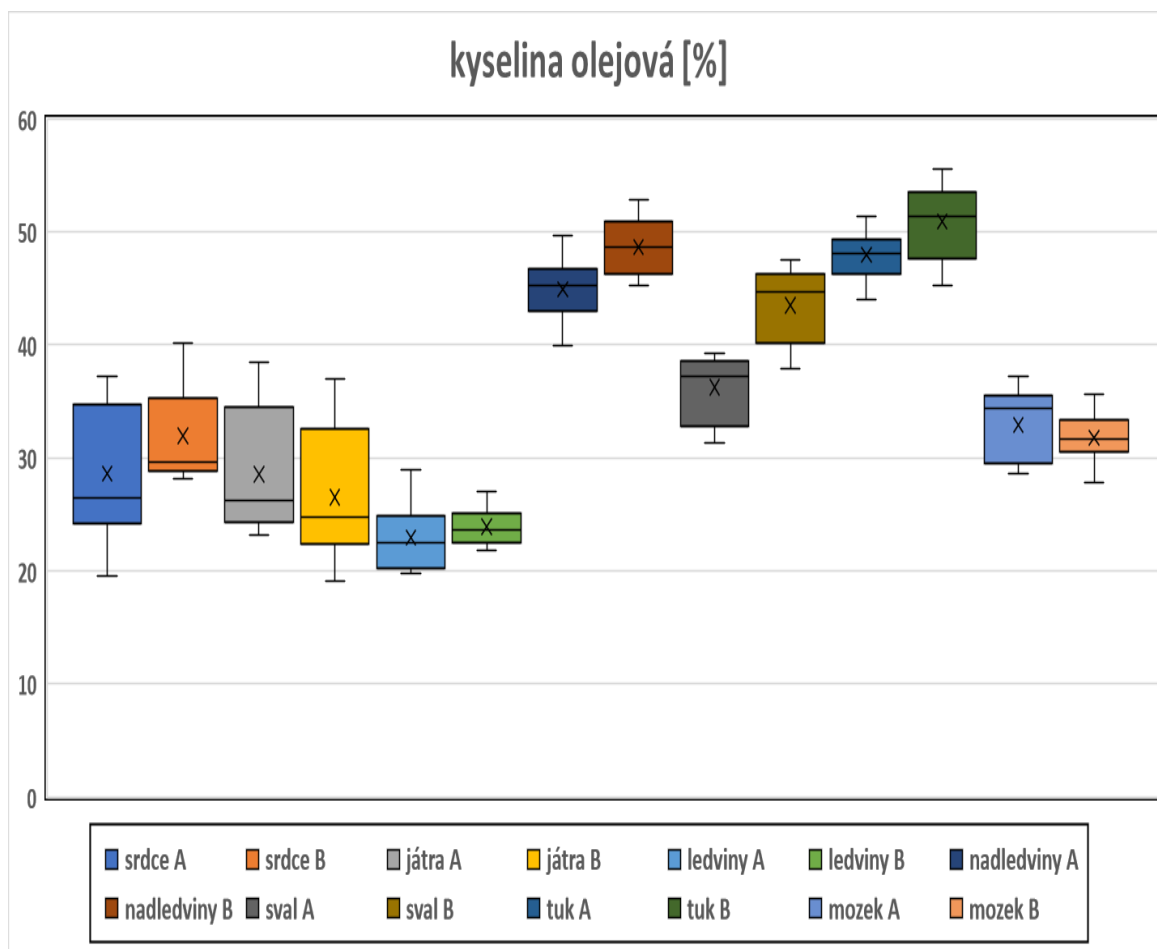
Na obrázku 18 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení kyseliny olejové v analyzovaných tkáních a skupinách mezi sebou i celkově. Vzájemné hodnoty se u OA v jednotlivých tkáních výrazně neliší. Pouze u nadledviny, svalu a podkožního tuku je patrné zvýšení OA.



**Obrázek 18 Kyselina olejová – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních**

Zdroj: vlastní zpracování

Graficky znázorněná deskriptivní statistika OA a statisticky významné rozdíly jsou uvedené na obrázku 19.



**Obrázek 19 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – kyselina olejová**

Zdroj: vlastní zpracování

Obsah OA v tkáních skupiny A a B se statisticky významně lišil v nadledvinách, svalu a podkožním tuku. Vyšší hodnoty byly zaznamenány vždy pro skupinu B. Mimo jiné je v těchto třech tkáních znatelný rozdíl v obsahu OA. Kompletní statisticky významné rozdíly jsou znázorněny v tabulce 19.

**Tabulka 19 Statisticky významné rozdíly – kyselina olejová**

Skupina A	Skupina B
srdce	= srdce
játra	= játra
ledviny	= ledviny
nadledviny	< nadledviny
sval	< sval
tuk	< tuk
mozek	= mozek

Zdroj: vlastní zpracování



#### 4.1.7 Kyselina linolová

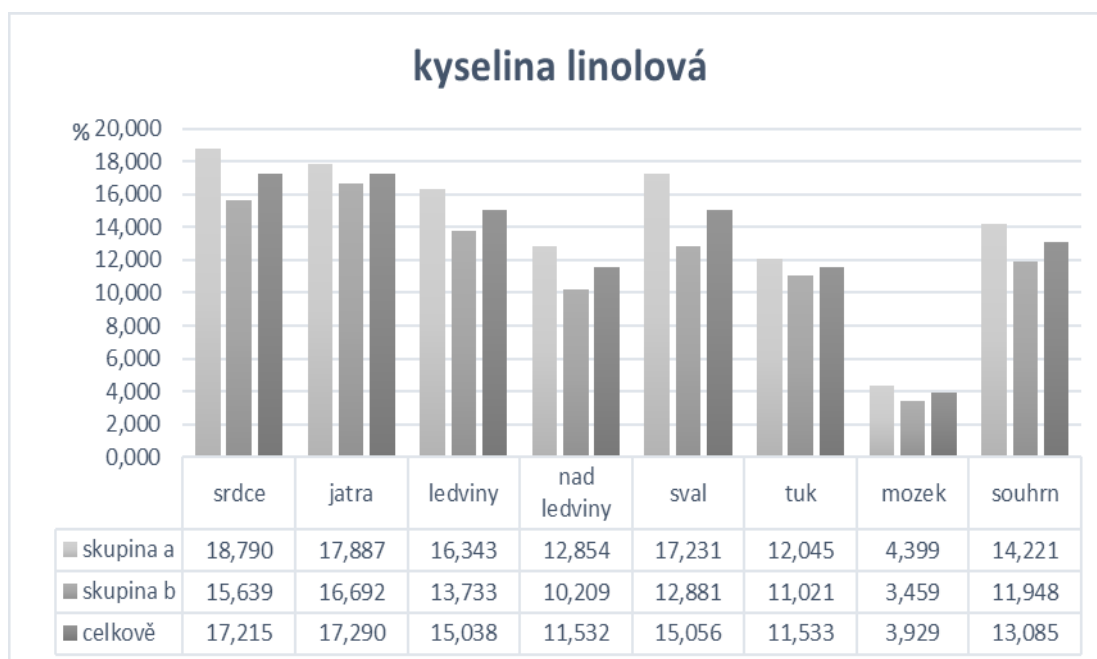
Pro LA je deskriptivní statistika uvedená v tabulce 20.

**Tabulka 20 Kyselina linolová – deskriptivní statistika**

LA	srdce A	srdce B	játra A	játra B	ledviny A	ledviny B	nadledviny A	nadledviny B	sval A	sval B	tuk A	tuk B	mozek A	mozek B
počet hodnot	9	10	8	9	9	10	8	9	9	10	8	9	9	10
min.	14,646	13,481	13,024	11,751	11,497	10,200	10,040	7,033	12,612	10,836	10,883	9,343	2,922	1,744
max.	21,700	17,643	24,200	19,459	17,664	16,686	19,677	12,387	19,644	15,817	15,734	12,636	6,397	5,861
arit. průměr	18,790	15,639	17,887	16,692	16,343	13,733	12,854	10,209	17,231	12,881	12,045	11,021	4,399	3,459
SD	2,649	1,532	3,284	2,418	1,943	1,909	3,115	1,733	2,103	1,483	1,566	1,103	1,229	1,367
medián	19,935	15,546	17,088	16,891	16,968	13,586	11,859	10,824	17,498	12,690	11,535	10,984	3,962	3,281
25% percentil	16,411	14,026	12,176	14,124	16,015	12,458	10,700	8,819	16,384	11,791	11,040	10,033	3,244	2,102
75% percentil	21,626	17,107	19,223	18,861	17,619	15,238	15,894	11,933	19,528	13,819	13,135	12,161	5,690	4,465
normalita	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano

Zdroj: vlastní zpracování

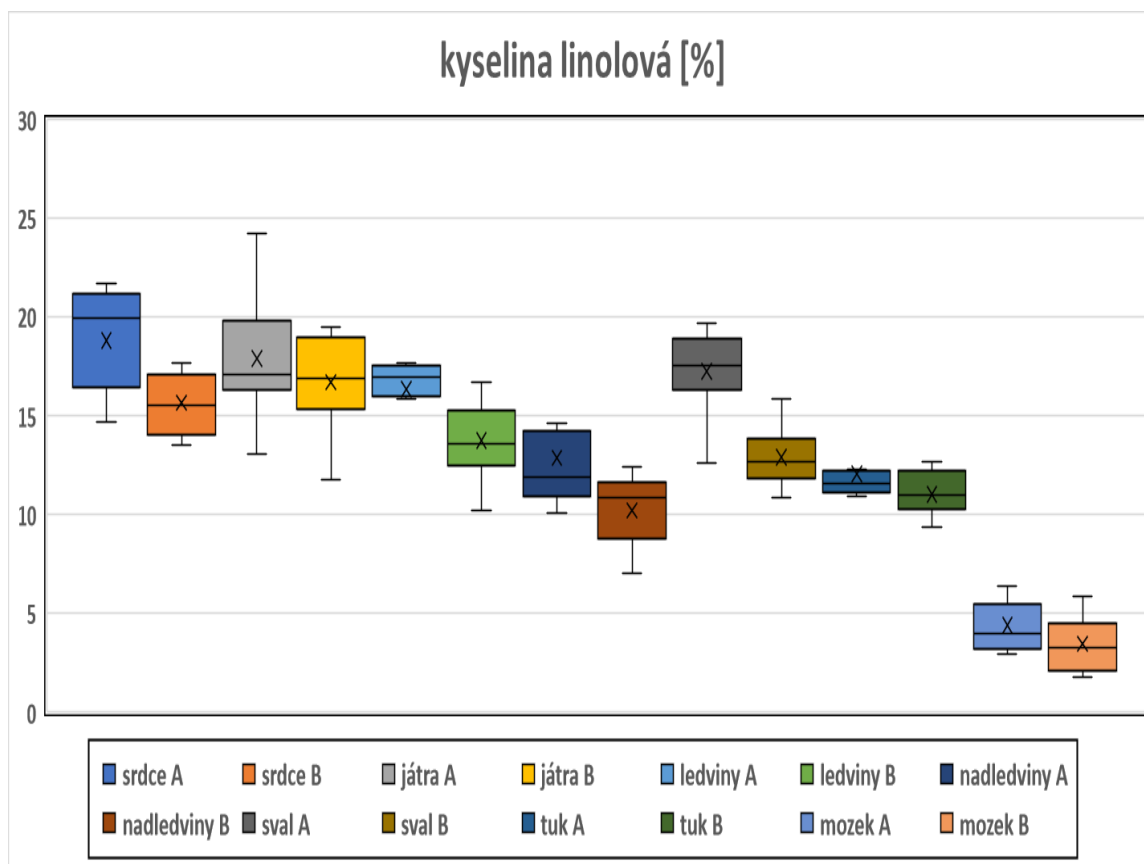
Na obrázku 20 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení kyseliny linolové v analyzovaných tkáních a skupinách mezi sebou i celkově. Při porovnání s ostatními tkáněmi je procentuální zastoupení LA zřetelně menší v mozku, a to u obou skupin i celkově.



**Obrázek 20 Kyselina linolová – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních**

Zdroj: vlastní zpracování

Graficky znázorněná deskriptivní statistika LA a statisticky významné rozdíly jsou uvedené na obrázku 21.



**Obrázek 21 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – kyselina linolová**

Zdroj: vlastní zpracování

Obsah LA v tkáních skupiny A a B se statisticky významně lišil v srdci, ledvinách, nadledvinách a svalu. Vyšší hodnoty v těchto tkáních byly vždy ve skupině A. Ve svalu byl obsah LA v porovnání s ostatními tkáněmi ve velmi širokém rozmezí hodnot. Kompletní statisticky významné rozdíly jsou znázorněné v tabulce 21.

**Tabulka 21 Statisticky významné rozdíly – kyselina linolová**

Skupina A	Skupina B
	srdce > srdce
	játra = játra
	ledviny > ledviny
	nadledviny > nadledviny
	sval > sval
	tuk = tuk
	mozek = mozek

Zdroj: vlastní zpracování

#### 4.1.8 Kyselina $\gamma$ -linolenová

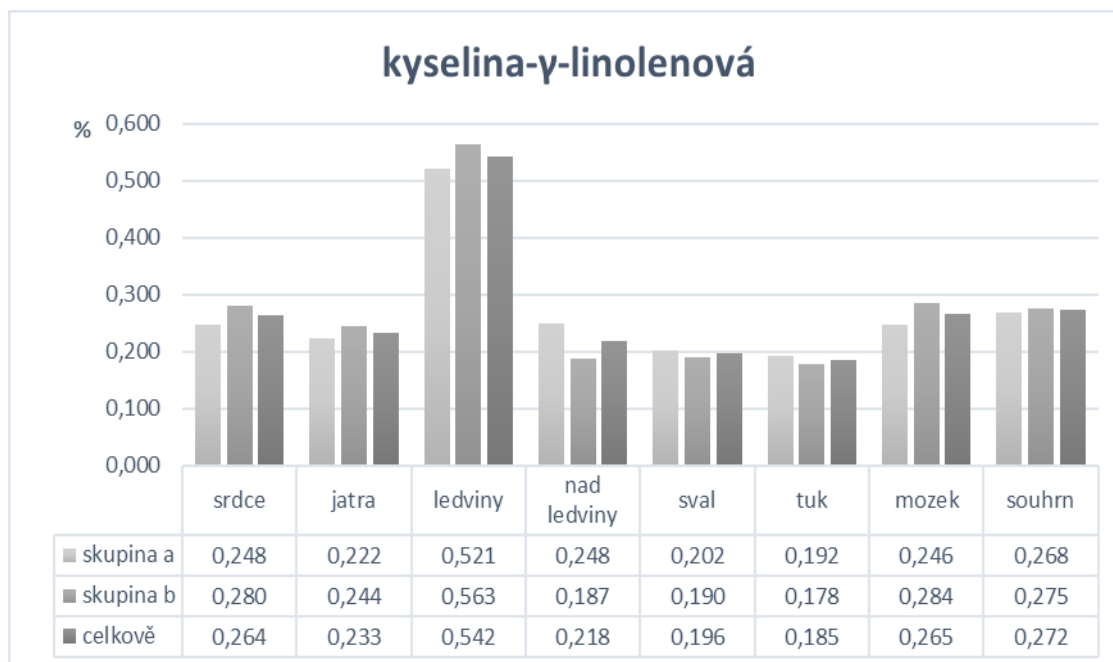
Pro GLA je deskriptivní statistika uvedená v tabulce 22.

**Tabulka 22 Kyselina  $\gamma$ -linolenová – deskriptivní statistika**

GLA	srdce A	srdce B	játra A	játra B	ledviny A	ledviny B	nadledviny A	nadledviny B	sval A	sval B	tuk A	tuk B	mozek A	mozek B
počet hodnot	9	9	10	10	10	10	10	10	9	10	10	10	10	10
min.	0,188	0,200	0,093	0,117	0,316	0,061	0,186	0,064	0,133	0,061	0,110	0,080	0,209	0,244
max.	0,323	0,381	0,308	0,462	0,610	0,823	0,333	0,375	0,228	0,221	0,267	0,274	0,305	0,333
arit. průměr	0,248	0,280	0,222	0,244	0,521	0,563	0,248	0,187	0,190	0,130	0,192	0,178	0,246	0,284
SD	0,047	0,056	0,075	0,103	0,091	0,233	0,051	0,094	0,030	0,046	0,043	0,064	0,030	0,029
medián	0,268	0,266	0,249	0,217	0,547	0,637	0,258	0,187	0,195	0,124	0,192	0,192	0,247	0,285
25% percentil	0,199	0,243	0,162	0,185	0,485	0,414	0,197	0,118	0,170	0,101	0,162	0,124	0,221	0,258
75% percentil	0,288	0,329	0,291	0,305	0,591	0,706	0,283	0,227	0,221	0,159	0,221	0,225	0,263	0,305
normalita	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano

Zdroj: vlastní zpracování

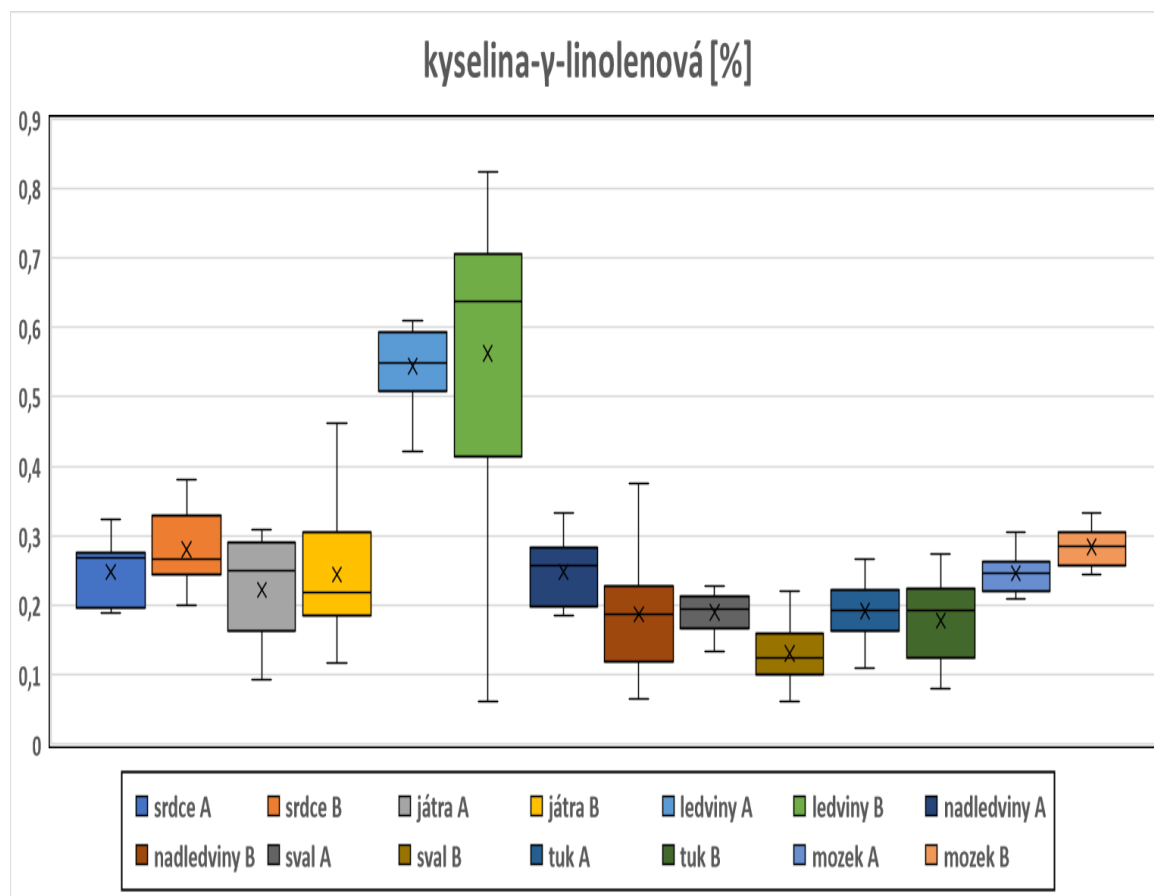
Na obrázku 22 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení kyseliny- $\gamma$  v analyzovaných tkáních a skupinách mezi sebou i celkově. Pokud porovnáme jednotlivé tkáně mezi sebou je znatelné vyšší zastoupení GLA v ledvinách, a to ve všech kategoriích.



**Obrázek 22 Kyselina  $\gamma$ -linolenová – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních**

Zdroj: vlastní zpracování

Graficky znázorněná deskriptivní statistika GLA a statisticky významné rozdíly jsou uvedené na obrázku 23.



**Obrázek 23 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – kyselina  $\gamma$ -linolenová**

Zdroj: vlastní zpracování

Obsah GLA v tkáních skupiny A a B se statisticky významně lišil v nadledvinách, svalu a mozku. Vyšší hodnoty v nadledvinách a svalové tkáni byly v obou případech pro skupinu A. Naopak v mozku se vyšší hodnota GLA nacházela ve skupině B. Kompletní statisticky významné rozdíly jsou znázorněné v tabulce 23.

**Tabulka 23 Statisticky významné rozdíly –  $\gamma$ -linolenová**

Skupina A	Skupina B
srdce	= srdce
játra	= játra
ledviny	= ledviny
nadledviny	> nadledviny
sval	> sval
tuk	= tuk
mozek	< mozek

Zdroj: vlastní zpracování

#### 4.1.9 Kyselina $\alpha$ -linolenová

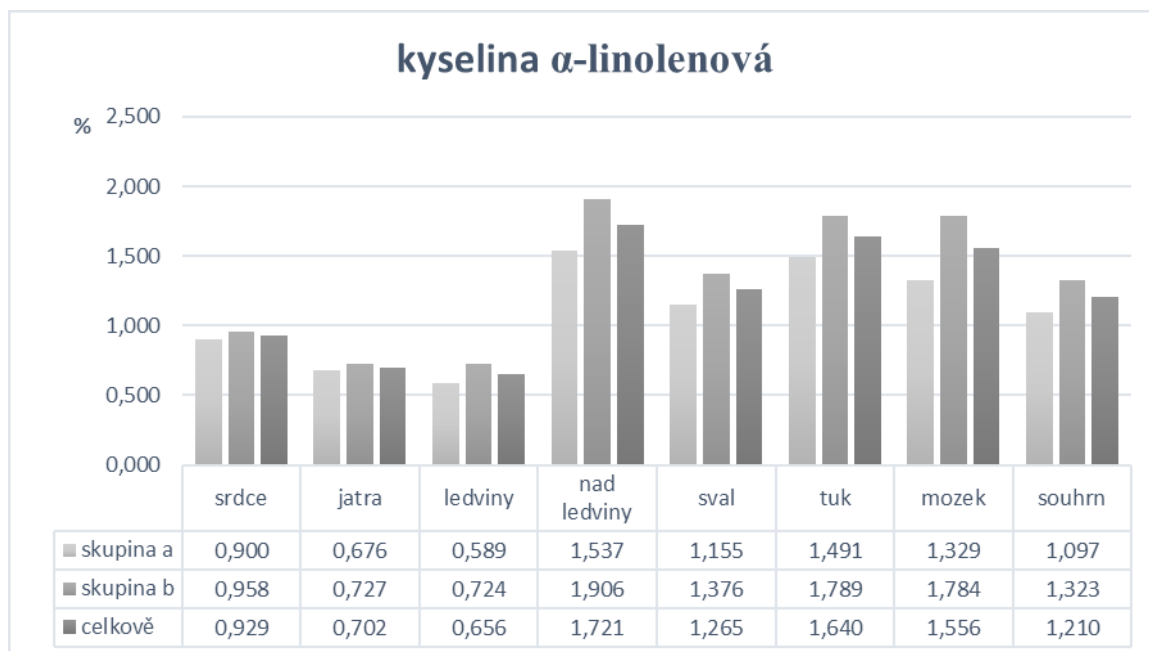
Pro ALA je deskriptivní statistika uvedená v tabulce 24.

**Tabulka 24 Kyselina  $\alpha$ -linolenová – deskriptivní statistika**

ALA	srdce A	srdce B	játra A	játra B	ledviny A	ledviny B	nadledviny A	nadledviny B	sval A	sval B	tuk A	tuk B	mozek A	mozek B
počet hodnot	10	9	9	9	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
min.	0,435	0,699	0,359	0,541	0,438	0,463	1,197	1,338	1,055	0,861	1,064	1,090	0,834	0,822
max.	1,559	1,219	0,897	0,960	0,744	0,968	1,810	2,493	1,362	2,039	1,715	2,349	1,779	2,722
arit. průměr	0,900	0,958	0,676	0,727	0,589	0,724	1,537	1,906	1,155	1,376	1,491	1,789	1,329	1,784
SD	0,312	0,188	0,166	0,133	0,129	0,163	0,193	0,332	0,098	0,340	0,192	0,386	0,352	0,628
medián	0,909	0,961	0,721	0,676	0,565	0,657	1,521	1,939	1,130	1,376	1,477	1,865	1,395	1,721
25% percentil	0,696	0,774	0,574	0,640	0,480	0,612	1,387	1,645	1,073	1,128	1,409	1,493	0,999	1,326
75% percentil	1,060	1,139	0,874	0,836	0,690	0,886	1,721	2,109	1,216	1,590	1,653	2,057	1,622	2,366
normalita	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano

Zdroj: vlastní zpracování

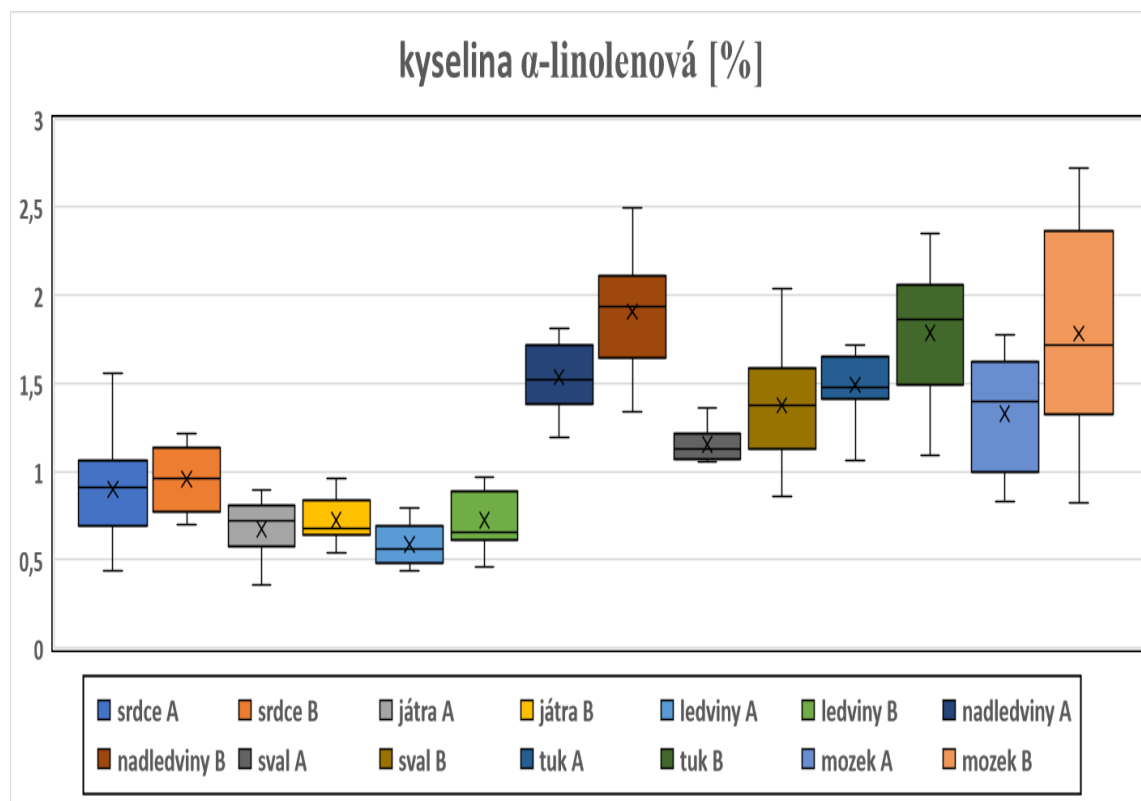
Na obrázku 24 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení kyseliny  $\alpha$ -linolenové v analyzovaných tkáních a skupinách mezi sebou i celkově. Ve všech tkáních převládá vyšší zastoupení ALA ve skupině B. Nejnižší hodnoty zaznamenané u obou skupin se nacházejí v srdci, játrech a v ledvinách.



**Obrázek 24 Kyselina  $\alpha$ -linolenová – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních**

Zdroj: vlastní zpracování

Graficky znázorněná deskriptivní statistika ALA a statisticky významné rozdíly jsou uvedené na obrázku 25.



**Obrázek 25 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – kyselina  $\alpha$ -linolenová**

Zdroj: vlastní zpracování

Obsah ALA v tkáních skupiny A a B se statisticky významně lišil v naprosté většině případů, pouze v srdci a játrech nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly. Vyšší hodnoty byly ve všech případech ve skupině B. Kompletní statisticky významné rozdíly jsou znázorněné v tabulce 25.

**Tabulka 25 Statisticky významné rozdíly – kyselina  $\alpha$ -linolenová**

Skupina A	Skupina B
srdce	= srdce
játra	= játra
ledviny	< ledviny
nadledviny	< nadledviny
sval	< sval
tuk	< tuk
mozek	< mozek

Zdroj: vlastní zpracování

#### 4.1.10 Kyselina meadová

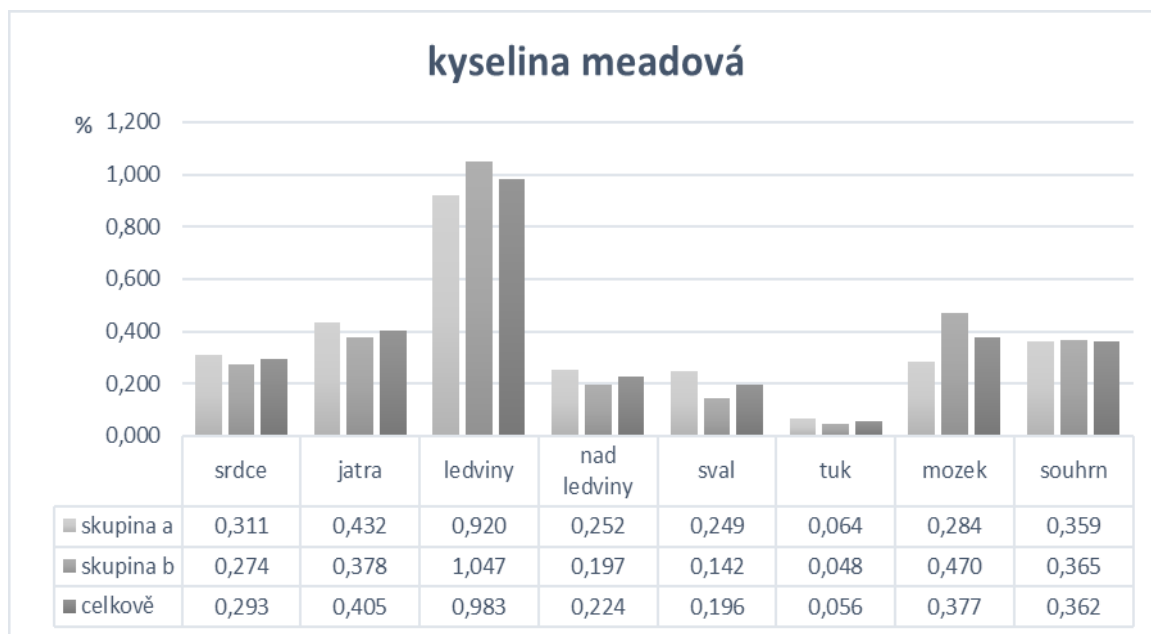
Pro MA je deskriptivní statistika uvedena v tabulce 26.

**Tabulka 26 Kyselina meadová – deskriptivní statistika**

MA	srdce A	srdce B	játra A	játra B	ledviny A	ledviny B	nadledviny A	nadledviny B	sval A	sval B	tuk A	tuk B	mozek A	mozek B
počet hodnot	10	9	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
min.	0,207	0,195	0,171	0,161	0,658	0,519	0,114	0,105	0,163	0,079	0,043	0,037	0,142	0,283
max.	0,392	0,375	0,651	0,577	1,136	1,389	0,470	0,324	0,445	0,251	0,105	0,057	0,361	0,676
arit. průměr	0,311	0,274	0,432	0,378	0,920	1,047	0,252	0,197	0,249	0,142	0,064	0,048	0,284	0,470
SD	0,064	0,062	0,171	0,136	0,173	0,264	0,110	0,070	0,091	0,056	0,019	0,006	0,057	0,124
medián	0,308	0,280	0,501	0,370	0,965	1,088	0,231	0,199	0,233	0,137	0,058	0,048	0,299	0,480
25% percentil	0,270	0,210	0,252	0,272	0,732	0,944	0,173	0,137	0,166	0,095	0,049	0,043	0,267	0,364
75% percentil	0,387	0,322	0,554	0,496	1,062	1,214	0,331	0,245	0,290	0,180	0,076	0,054	0,305	0,562
normalita	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano

Zdroj: vlastní zpracování

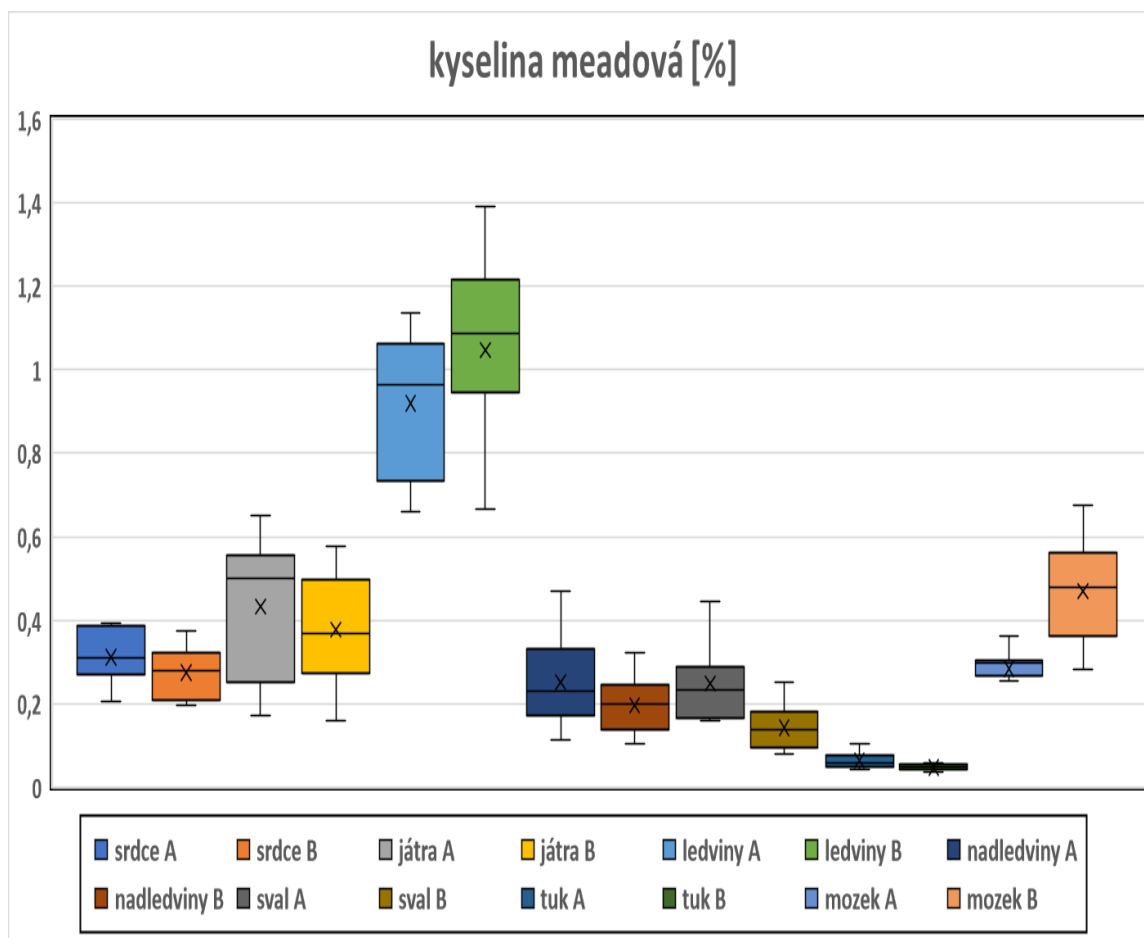
Na obrázku 26 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení kyseliny meadové v analyzovaných tkáních a skupinách mezi sebou i celkově. Nejnížší hodnoty jsou patrné v podkožním tuku, naopak výrazně nejvyšší procentuální zastoupení se nachází v ledvinách.



**Obrázek 26 Kyselina meadová – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních**

Zdroj: vlastní zpracování

Graficky znázorněná deskriptivní statistika MA a statisticky významné rozdíly jsou uvedené na obrázku 27.



**Obrázek 27 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – kyselina meadová**

Zdroj: vlastní zpracování

Obsah MA v tkáních skupiny A a B se statisticky významně lišil ve svalu, břišní tkáni a mozkové tkáni. Vyšší hodnoty ve svalu a podkožním tuku byly ve skupině A. Naopak v mozku se vyšší hodnota nacházela ve skupině B. Kompletní statisticky významné rozdíly jsou znázorněné v tabulce 27.

**Tabulka 27 Statisticky významné rozdíly – kyselina meadová**

Skupina A	Skupina B
srdce	= srdce
játra	= játra
ledviny	= ledviny
nadledviny	= nadledviny
sval	> sval
tuk	> tuk
mozek	< mozek

Zdroj: vlastní zpracování



#### 4.1.11 Kyselina dihomo- $\gamma$ -linolenová

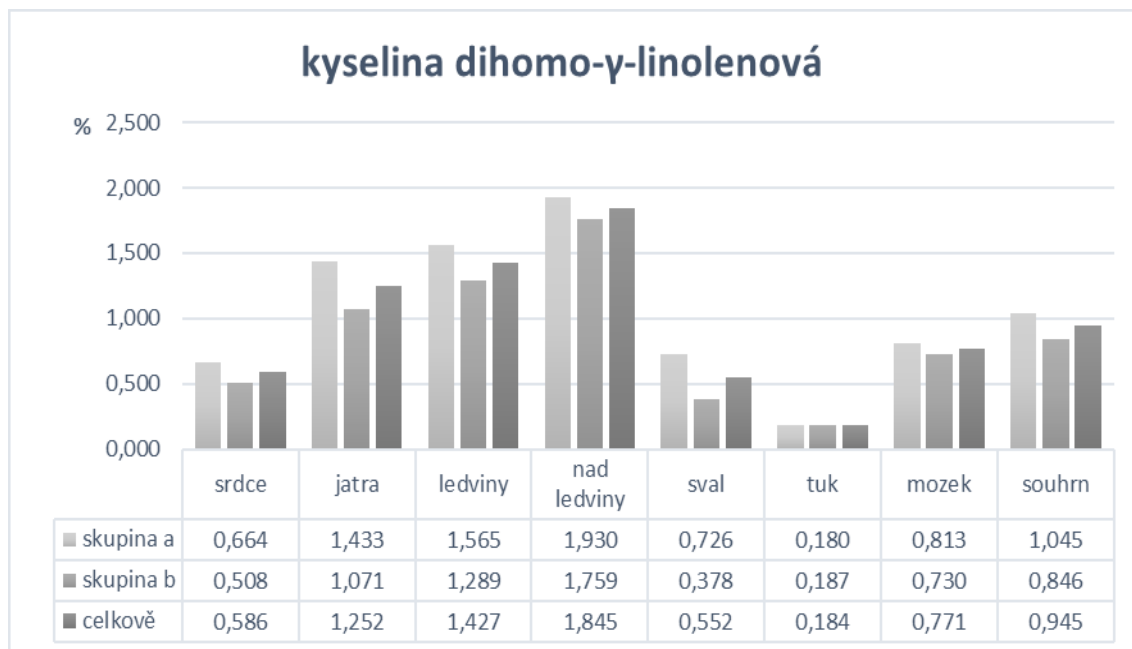
Pro DGLA je deskriptivní statistika uvedena v tabulce 28.

**Tabulka 28 Kyselina dihomo- $\gamma$ -linolenová – deskriptivní statistika**

DGLA	srdce A	srdce B	játra A	játra B	ledviny A	ledviny B	nadledviny A	nadledviny B	sval A	sval B	tuk A	tuk B	mozek A	mozek B
počet hodnot	10	9	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
min.	0,526	0,397	0,321	0,521	1,120	0,799	0,761	0,950	0,552	0,264	0,134	0,111	0,507	0,563
max.	0,886	0,611	2,181	1,543	2,130	2,027	3,383	3,024	0,942	0,519	0,242	0,243	1,008	0,930
arit. průměr	0,664	0,508	1,433	1,071	1,565	1,289	1,930	1,759	0,726	0,378	0,180	0,187	0,813	0,730
SD	0,099	0,065	0,638	0,355	0,370	0,362	0,897	0,740	0,116	0,099	0,037	0,049	0,182	0,100
medián	0,664	0,498	1,701	1,179	1,516	1,231	2,099	1,477	0,729	0,345	0,172	0,203	0,898	0,728
25% percentil	0,581	0,469	0,848	0,740	1,227	1,095	1,018	1,088	0,635	0,295	0,152	0,132	0,598	0,662
75% percentil	0,697	0,564	1,901	1,368	1,858	1,460	2,602	2,358	0,802	0,492	0,219	0,227	0,942	0,790
normalita	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano

Zdroj: vlastní zpracování

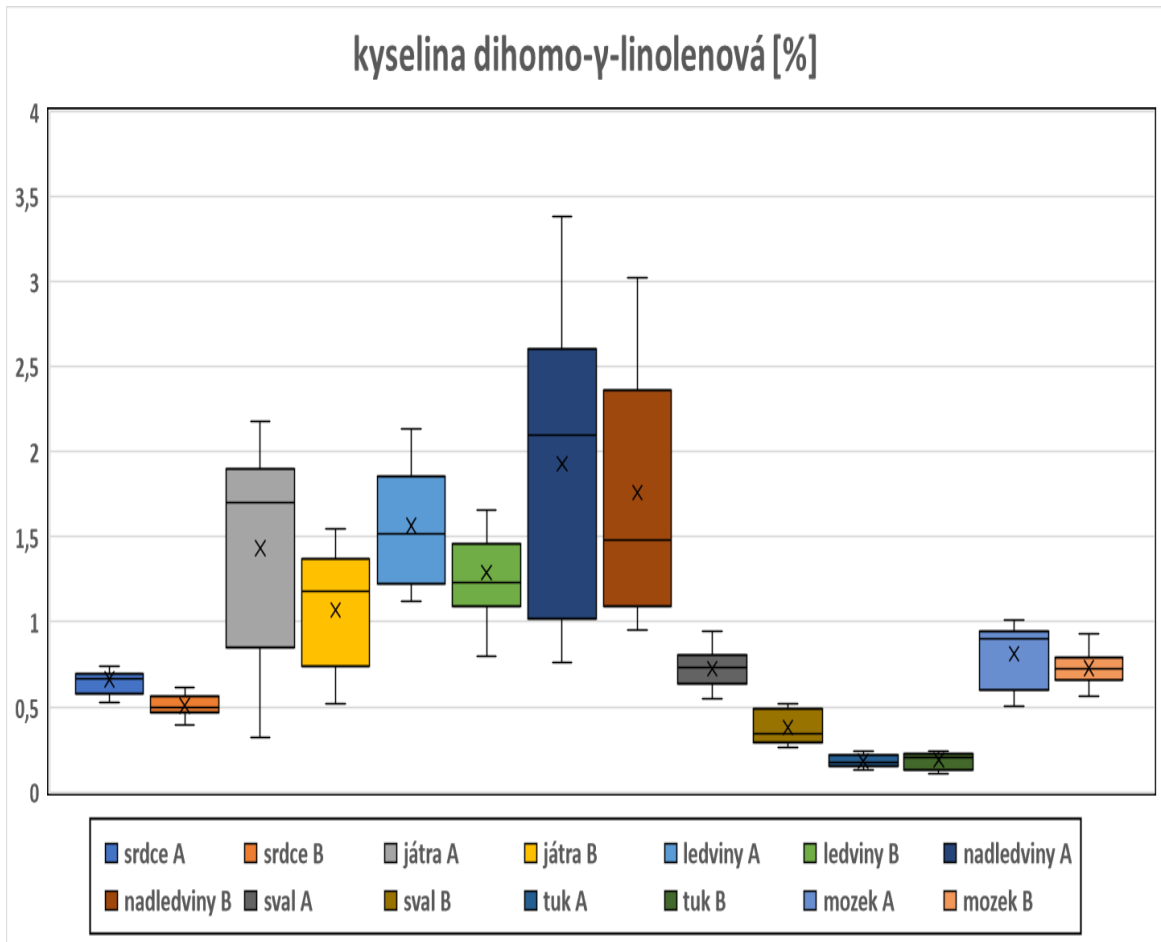
Na obrázku 28 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení kyseliny dihomo- $\gamma$ -linolenové v analyzovaných tkáních a skupinách mezi sebou i celkově. I zde nejnižší hodnoty DGLA představuje podkožní tuk. Naopak vyšší procentuální zastoupení DGLA je u všech tkáních ve skupině A.



**Obrázek 28 Kyselina dihomo- $\gamma$ -linolenová – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních**

Zdroj: vlastní zpracování

Graficky znázorněná deskriptivní statistika DGLA a statisticky významné rozdíly jsou uvedené na obrázku 29.



**Obrázek 29 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – kyselina dihomo- $\gamma$ -linolenová**

Zdroj: vlastní zpracování

Obsah DGLA v tkáních skupiny A a B se statisticky významně lišil v srdci a svalové tkáni. Vyšší hodnoty byly zaznamenány v obou případech pro skupinu A. Kompletní statisticky významné rozdíly jsou znázorněny v tabulce 29.

**Tabulka 29 Statisticky významné rozdíly – kyselina dihomo- $\gamma$ -linolenová**

Skupina A	Skupina B
srdce	> srdce
játra	= játra
ledviny	= ledviny
nadledviny	= nadledviny
sval	> sval
tuk	= tuk
mozek	= mozek

Zdroj: vlastní zpracování

#### 4.1.12 Kyselina arachidonová

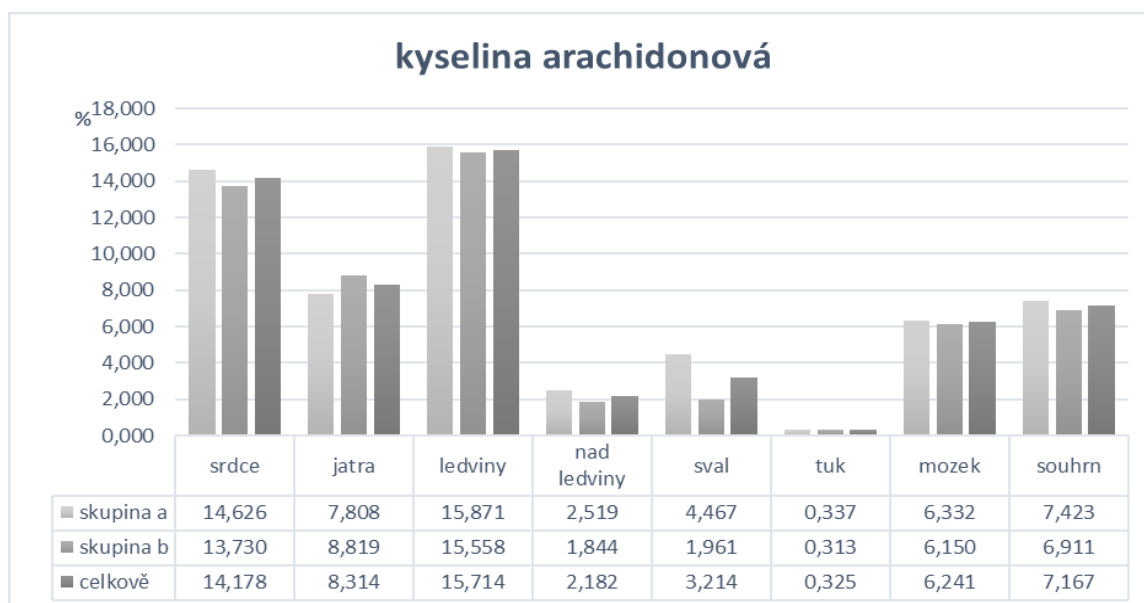
Pro AA je deskriptivní statistika uvedená v tabulce 30.

**Tabulka 30 Kyselina arachidonová – deskriptivní statistika**

AA	srdce A	srdce B	játra A	játra B	ledviny A	ledviny B	nadledviny A	nadledviny B	sval A	sval B	tuk A	tuk B	mozek A	mozek B
počet hodnot	9	9	10	10	10	9	10	10	10	10	10	10	10	10
min.	9,052	10,317	1,361	2,609	11,874	9,461	0,836	0,949	3,065	0,988	0,253	0,209	4,563	4,041
max.	17,772	16,514	13,375	13,800	19,384	18,045	4,934	3,051	6,956	2,781	0,459	0,398	8,569	7,543
arit. průměr	14,626	13,730	7,808	8,819	15,871	15,558	2,519	1,844	4,467	1,961	0,337	0,313	6,332	6,150
SD	3,042	2,433	4,003	3,395	2,215	2,719	1,247	0,621	1,313	0,624	0,072	0,060	1,452	1,081
medián	15,289	14,506	8,599	9,759	16,099	16,988	2,482	1,833	3,952	1,812	0,324	0,329	5,890	6,260
25% percentil	11,988	10,874	3,602	5,607	14,404	13,013	1,602	1,451	3,619	1,527	0,262	0,251	5,041	5,477
75% percentil	17,418	15,703	11,103	10,880	17,184	17,269	3,128	2,172	5,296	2,674	0,401	0,355	7,909	7,109
normalita	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano

Zdroj: vlastní zpracování

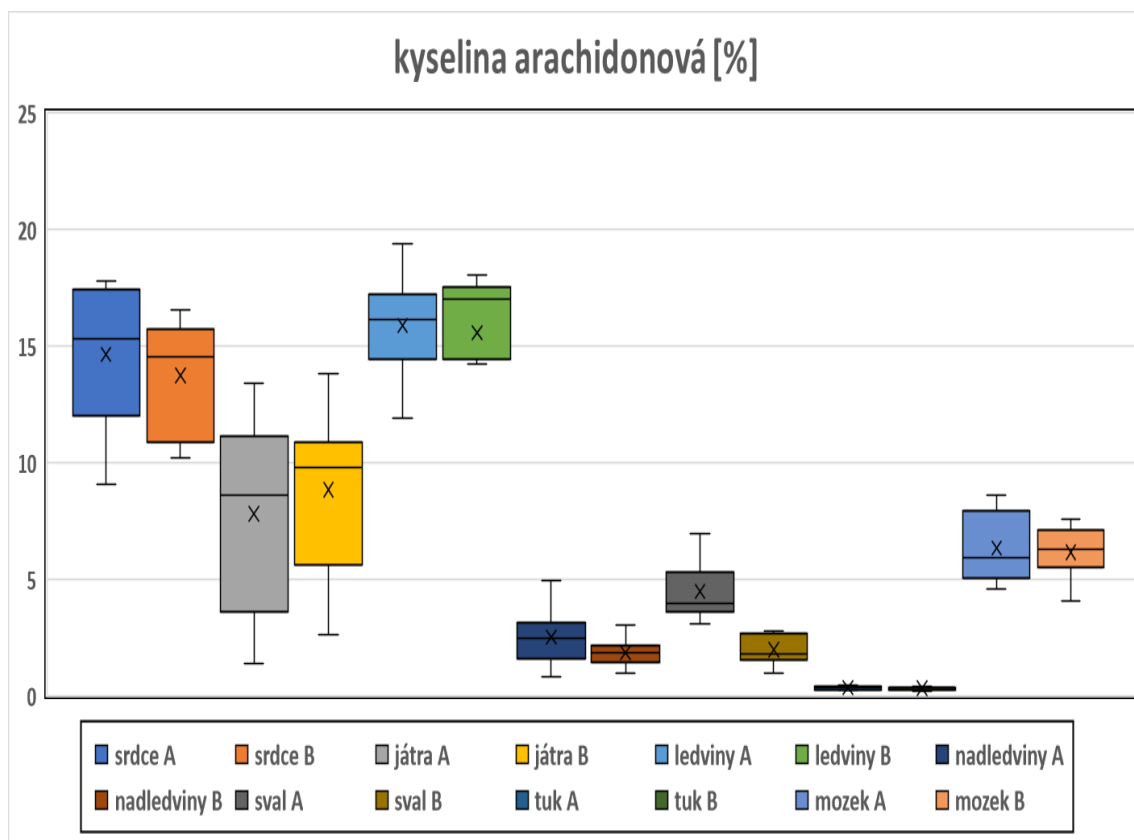
Na obrázku 30 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení kyseliny arachidonové v analyzovaných tkáních a skupinách mezi sebou i celkově. Velmi nízké procentuální zastoupení AA se nachází v nadledvinách a svalu, nejnižší je v podkožním tuku. V porovnání s ostatními tkáněmi jsou hladiny AA vysoké v srdci a ledvinách u obou skupin i celkově.



**Obrázek 30 Kyselina arachidonová – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních**

Zdroj: vlastní zpracování

Graficky znázorněná deskriptivní statistika AA a statisticky významné rozdíly jsou uvedené na obrázku 31.



**Obrázek 31 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – kyselina arachidinová**

Zdroj: vlastní zpracování

Obsah AA v tkáních skupiny A a B se statisticky významně lišil pouze ve svalové tkáni. Vyšší hodnota byla zaznamenána pro skupinu A. Hodnoty AA v břišní tkáni byly velmi malé a zcela totožné, narozdíl od ostatních tkání. Kompletní statisticky významné rozdíly jsou znázorněné v tabulce 31.

**Tabulka 31 Statisticky významné rozdíly – kyselina arachidinová**

Skupina A	Skupina B
srdce	= srdce
játra	= játra
ledviny	= ledviny
nadledviny	= nadledviny
sval	> sval
tuk	= tuk
mozek	= mozek

Zdroj: vlastní zpracování

#### 4.1.13 Kyselina eikosapentaenová

Pro EPA je deskriptivní statistika uvedená v tabulce 32.

**Tabulka 32 Kyselina eikosapentaenová – deskriptivní statistika**

EPA	srdce A	srdce B	játra A	játra B	ledviny A	ledviny B	nadledviny A	nadledviny B	sval A	sval B	tuk A	tuk B	mozek A	mozek B
počet hodnot	10	9	10	10	10	10	10	10	8	10	8	10	10	8
min.	0,173	0,239	0,085	0,154	0,656	0,768	0,099	0,078	0,137	0,069	0,066	0,059	2,187	3,373
max.	0,496	0,764	0,551	0,677	1,657	1,620	0,452	0,580	0,221	0,335	0,120	0,232	5,053	4,591
arit. průměr	0,325	0,496	0,313	0,440	1,088	1,269	0,252	0,286	0,158	0,177	0,091	0,128	3,658	4,182
SD	0,120	0,173	0,153	0,161	0,362	0,320	0,127	0,154	0,037	0,094	0,022	0,056	0,934	0,404
medián	0,292	0,470	0,339	0,460	1,056	1,373	0,276	0,241	0,147	0,143	0,086	0,125	3,566	4,138
25% percentil	0,217	0,361	0,132	0,306	0,697	0,990	0,135	0,162	0,133	0,098	0,072	0,073	2,958	3,684
75% percentil	0,472	0,658	0,424	0,568	1,444	1,475	0,344	0,409	0,272	0,264	0,145	0,172	4,593	4,553
normalita	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano

Zdroj: vlastní zpracování

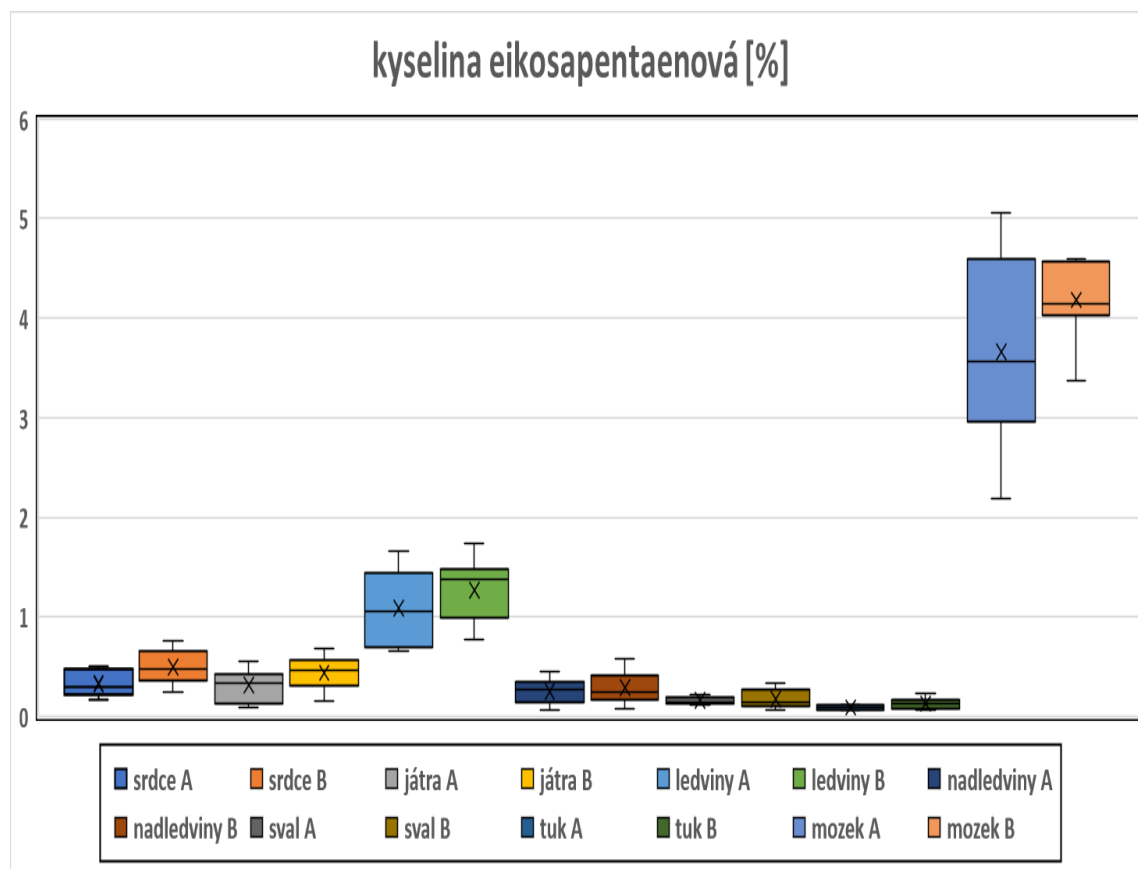
Na obrázku 32 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení kyseliny eikosapentaenové v analyzovaných tkáních a skupinách mezi sebou i celkově. Poměrně vysoké zastoupení EPA jsme zaznamenali v mozku převážně ve skupině B. U ostatních tkání se procentuální zastoupení EPA pohybuje pod 1 % (u ledvin těsně nad 1 %).



**Obrázek 32 Kyselina eikosapentaenová – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních**

Zdroj: vlastní zpracování

Graficky znázorněná deskriptivní statistika EPA a statisticky významné rozdíly jsou uvedené na obrázku 33.



**Obrázek 33 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – kyselina eikosapentaenová**

Zdroj: vlastní zpracování

Obsah EPA v tkáních skupiny A a B se statisticky významně lišil v srdci, játrech a břišní tkáni. Vyšší hodnoty byly ve všech případech pro skupinu B. Obsah EPA v mozku byl v obou skupinách velmi vysoký v porovnání s ostatními tkáněmi. Kompletní statisticky významné rozdíly jsou znázorněné v tabulce 33.

**Tabulka 33 Statisticky významné rozdíly – kyselina eikosapentaenová**

Skupina A	Skupina B
srdce	< srdce
játra	< játra
ledviny	= ledviny
nadledviny	= nadledviny
sval	= sval
tuk	< tuk
mozek	= mozek

Zdroj: vlastní zpracování

#### 4.1.14 Kyselina dokosahexaenová

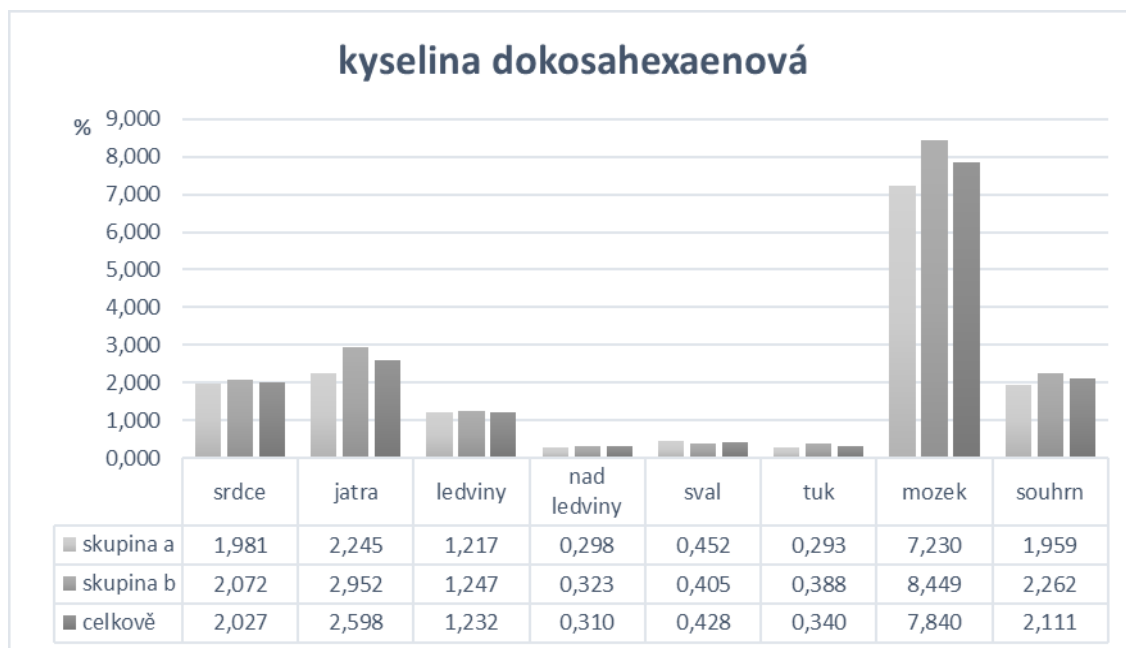
Pro DHA je deskriptivní statistika uvedená v tabulce 34.

**Tabulka 34 Kyselina dokosahexaenová – deskriptivní statistika**

DHA	srdce A	srdce B	játra A	játra B	ledviny A	ledviny B	nadledviny A	nadledviny B	sval A	sval B	tuk A	tuk B	mozek A	mozek B
počet hodnot	9	9	10	10	10	9	10	10	9	10	9	10	10	9
min.	1,137	0,985	0,373	0,835	0,774	0,999	0,129	0,165	0,227	0,216	0,189	0,274	4,375	6,454
max.	3,057	2,955	4,316	4,317	1,838	1,554	0,591	0,555	0,603	0,588	0,389	0,693	10,498	10,786
arit. průměr	1,981	2,072	2,245	2,952	1,217	1,247	0,298	0,323	0,452	0,405	0,293	0,388	7,230	8,449
SD	0,549	0,664	1,296	1,114	0,303	0,182	0,156	0,148	0,131	0,121	0,072	0,138	1,980	1,362
medián	1,850	2,264	2,203	3,225	1,205	1,169	0,221	0,256	0,444	0,420	0,298	0,317	6,770	8,270
25% percentil	1,662	1,490	1,082	2,142	1,039	1,111	0,184	0,196	0,356	0,291	0,229	0,296	5,779	7,575
75% percentil	2,317	2,567	3,195	3,851	1,369	1,410	0,412	0,476	0,602	0,508	0,373	0,496	8,828	9,446
normalita	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano

Zdroj: vlastní zpracování

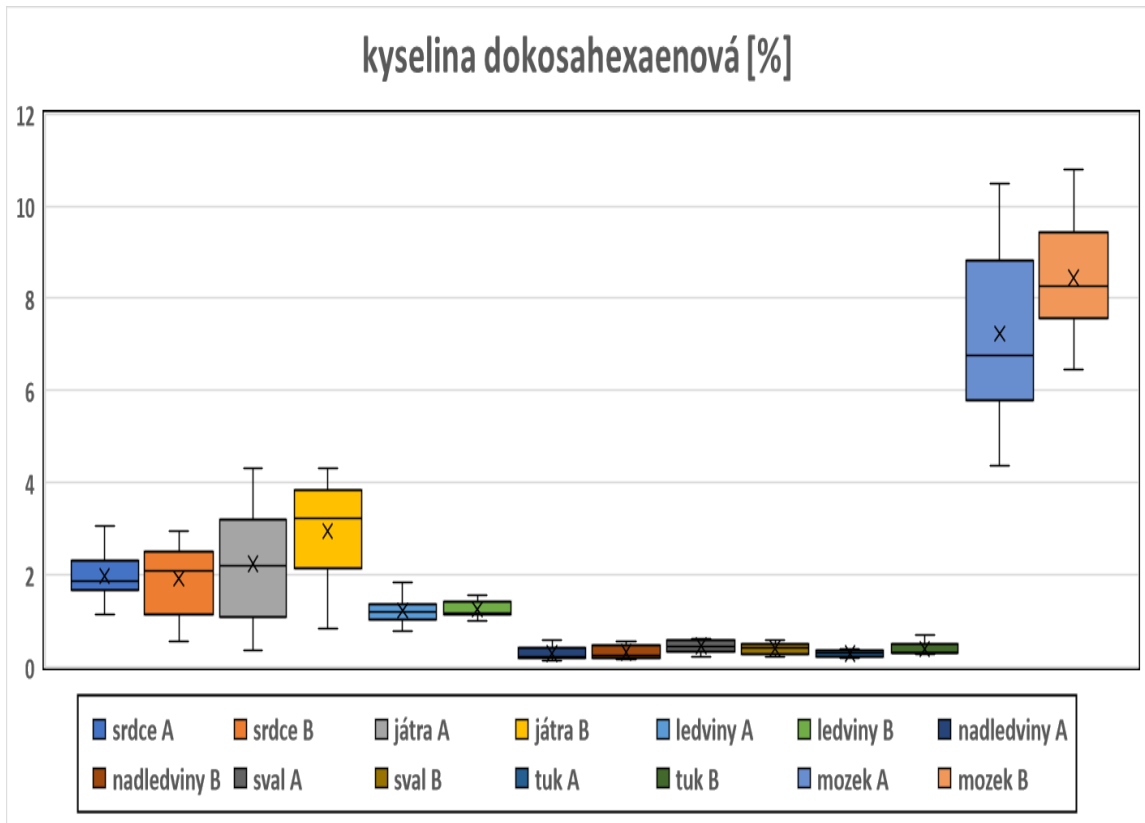
Na obrázku 34 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení kyseliny dokosahexaenové v analyzovaných tkáních a skupinách mezi sebou i celkově. I zde je patrné velmi vysoké procentuální zastoupení DHA v mozku, převažující ve skupině B. U ostatních tkání je zastoupení vyrovnané u obou skupin a nepřekračuje hranici 3 %.



**Obrázek 34 Kyselina dokosahexaenová – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních**

Zdroj: vlastní zpracování

Graficky znázorněná deskriptivní statistika DHA a statisticky významné rozdíly jsou uvedené na obrázku 35.



**Obrázek 35 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – kyselina dokosahexaenová**

Zdroj: vlastní zpracování

Obsah DHA v tkáních skupiny A a B se statisticky významně lišil pouze v břišní tkáni. Vyšší hodnota byla zaznamenána pro skupinu B. Obsah DHA v mozku byl v obou skupinách velmi vysoký v porovnání s ostatními tkáněmi. Kompletní statisticky významné rozdíly jsou znázorněné v tabulce 35.

**Tabulka 35 Statisticky významné rozdíly – kyselina dokosahexaenová**

Skupina A	Skupina B
srdce	= srdce
játra	= játra
ledviny	= ledviny
nadledviny	= nadledviny
sval	= sval
tuk	< tuk
mozek	= mozek

Zdroj: vlastní zpracování



## 4.2 Výsledky dalších sledovaných parametrů

### 4.2.1 Suma nasycených mastných kyselin

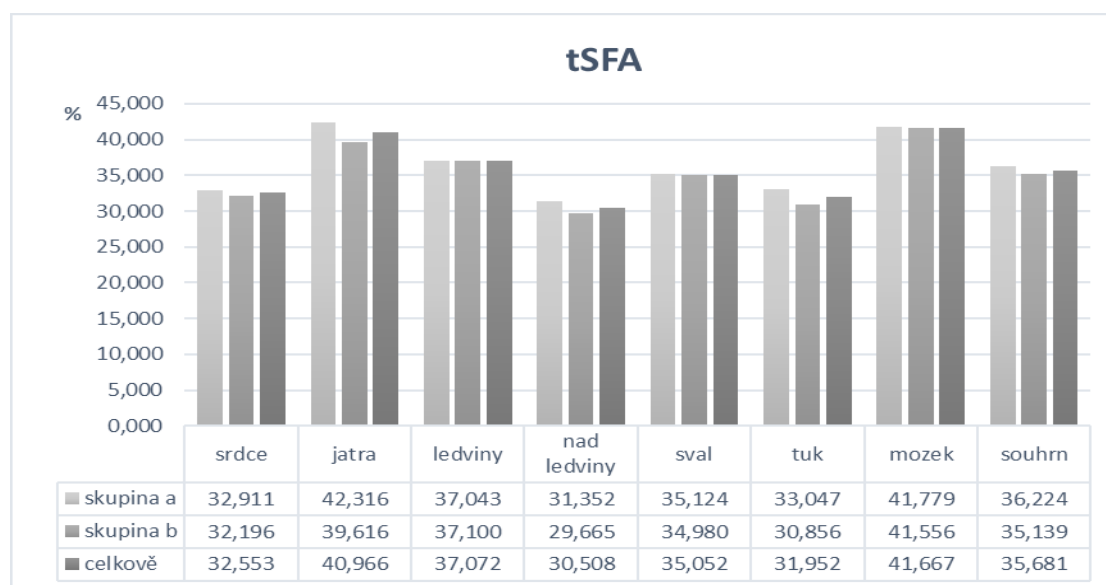
Pro tSFA je deskriptivní statistika uvedená v tabulce 36.

**Tabulka 36 tSFA [%] – deskriptivní statistika**

tSFA	srdce A	srdce B	játra A	játra B	ledviny A	ledviny B	nadledviny A	nadledviny B	sval A	sval B	tuk A	tuk B	mozek A	mozek B
počet hodnot	8	9	9	8	10	7	9	10	7	9	8	9	9	9
min.	31,254	28,314	37,710	37,490	34,437	35,687	29,723	25,739	34,015	31,347	30,565	26,456	38,611	38,247
max.	34,648	38,109	48,641	42,003	39,519	39,022	35,998	34,501	36,766	39,540	34,918	34,973	46,327	44,881
arit. průměr	32,911	32,196	42,316	39,616	37,043	37,100	31,352	29,665	35,124	34,980	33,047	30,856	41,779	41,556
SD	1,100	2,563	3,057	1,447	1,554	1,132	2,858	2,974	0,955	2,538	1,740	3,305	2,598	1,907
medián	33,111	31,953	41,879	40,054	37,292	37,002	30,291	30,070	0,955	34,409	33,137	32,147	40,749	41,671
25% percentil	31,574	31,252	40,474	38,502	35,466	36,082	29,977	26,709	34,087	32,469	30,604	26,693	39,933	40,436
75% percentil	33,534	32,485	43,492	41,097	37,960	38,501	33,517	31,943	36,245	36,927	34,781	33,349	43,450	42,752
normalita	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano

Zdroj: vlastní zpracování

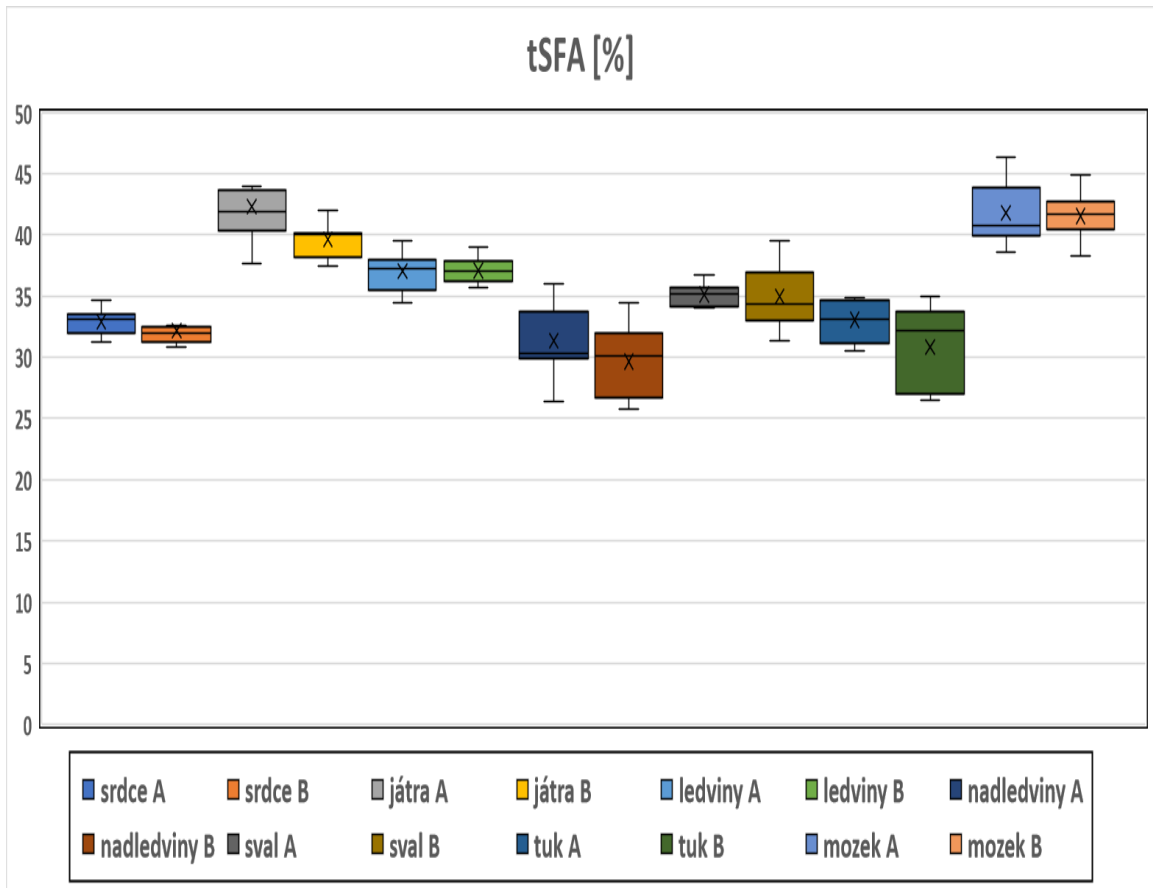
Na obrázku 36 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení tSFA v analyzovaných tkáních a skupinách mezi sebou i celkově. Mezi procentuálním zastoupením tSFA v jednotlivých tkáních nejsou výrazné rozdíly.



**Obrázek 36 tSFA [%] - průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních**

Zdroj: vlastní zpracování

Graficky znázorněná deskriptivní statistika tSFA a statisticky významné rozdíly jsou uvedené na obrázku 37.



**Obrázek 37 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – tSFA [%]**

Zdroj: vlastní zpracování

Obsah tSFA v tkáních skupiny A a B se statisticky významně lišil pouze v játrech. Vyšší hodnota tSFA byla zaznamenána ve skupině A. Hodnoty v ostatních tkáních se u porovnávaných skupin prakticky shodovaly. Kompletní statisticky významné rozdíly jsou znázorněné v tabulce 37.

**Tabulka 37 Statisticky významné rozdíly – tSFA [%]**

Skupina A	Skupina B
srdce	= srdce
játra	> játra
ledviny	= ledviny
nadledviny	= nadledviny
sval	= sval
tuk	= tuk
mozek	= mozek

Zdroj: vlastní zpracování

## 4.2.2 Suma mononenasycených mastných kyselin

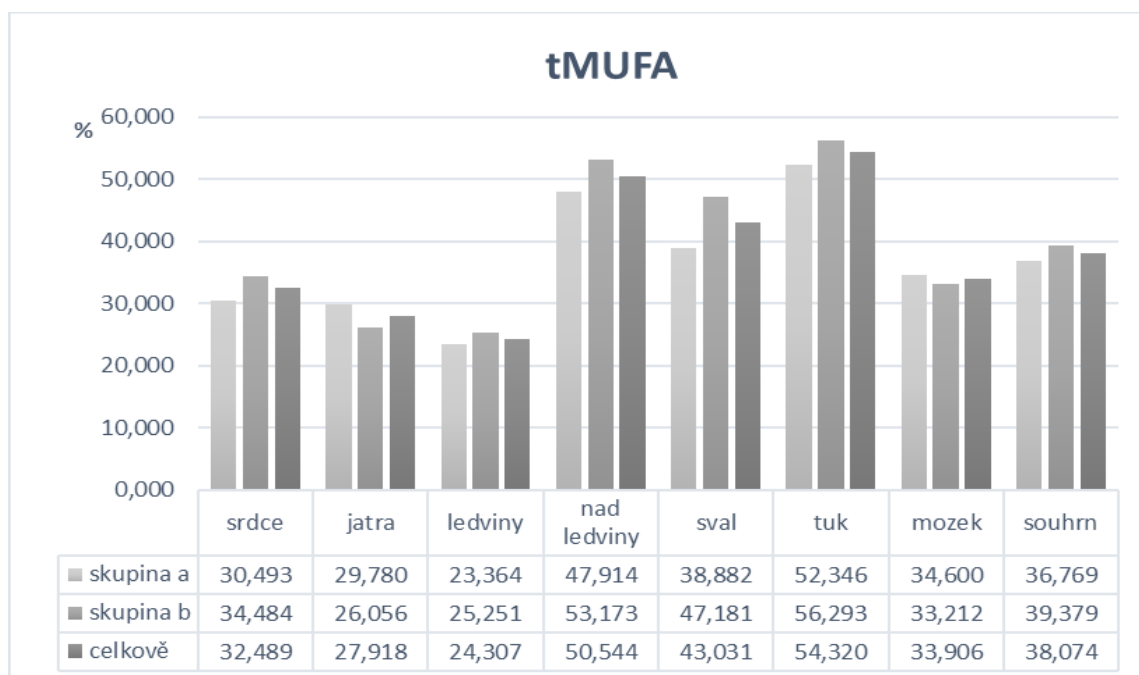
Pro tMUFA je deskriptivní statistika uvedená v tabulce 38.

**Tabulka 38 tMUFA [%] – deskriptivní statistika**

tMUFA	srdce A	srdce B	játra A	játra B	ledviny A	ledviny B	nadledviny A	nadledviny B	sval A	sval B	tuk A	tuk B	mozek A	mozek B
počet hodnot	9	8	7	8	9	8	9	10	9	9	7	9	9	9
min.	20,966	30,419	24,372	20,071	20,554	23,097	42,387	49,428	34,027	41,266	50,954	51,552	29,564	29,507
max.	39,675	42,944	40,848	36,317	26,570	28,377	53,352	59,511	43,116	50,392	55,206	63,201	39,419	37,300
arit. průměr	30,493	34,484	29,780	26,056	23,364	25,251	47,914	53,173	38,882	47,181	52,346	56,293	34,600	33,212
SD	6,658	4,663	5,442	4,654	2,243	1,765	3,414	3,343	3,397	3,178	1,490	4,330	3,781	2,280
medián	28,090	32,197	27,412	25,538	23,539	24,992	48,599	52,258	3,397	47,799	51,817	54,543	36,334	33,124
25% percentil	23,754	30,697	22,776	23,913	21,056	23,829	45,656	50,490	35,300	45,257	50,578	52,448	30,028	31,606
75% percentil	35,879	38,476	33,562	37,477	26,480	30,476	50,037	55,785	42,649	50,226	52,390	59,326	37,381	34,851
normalita	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano

Zdroj: vlastní zpracování

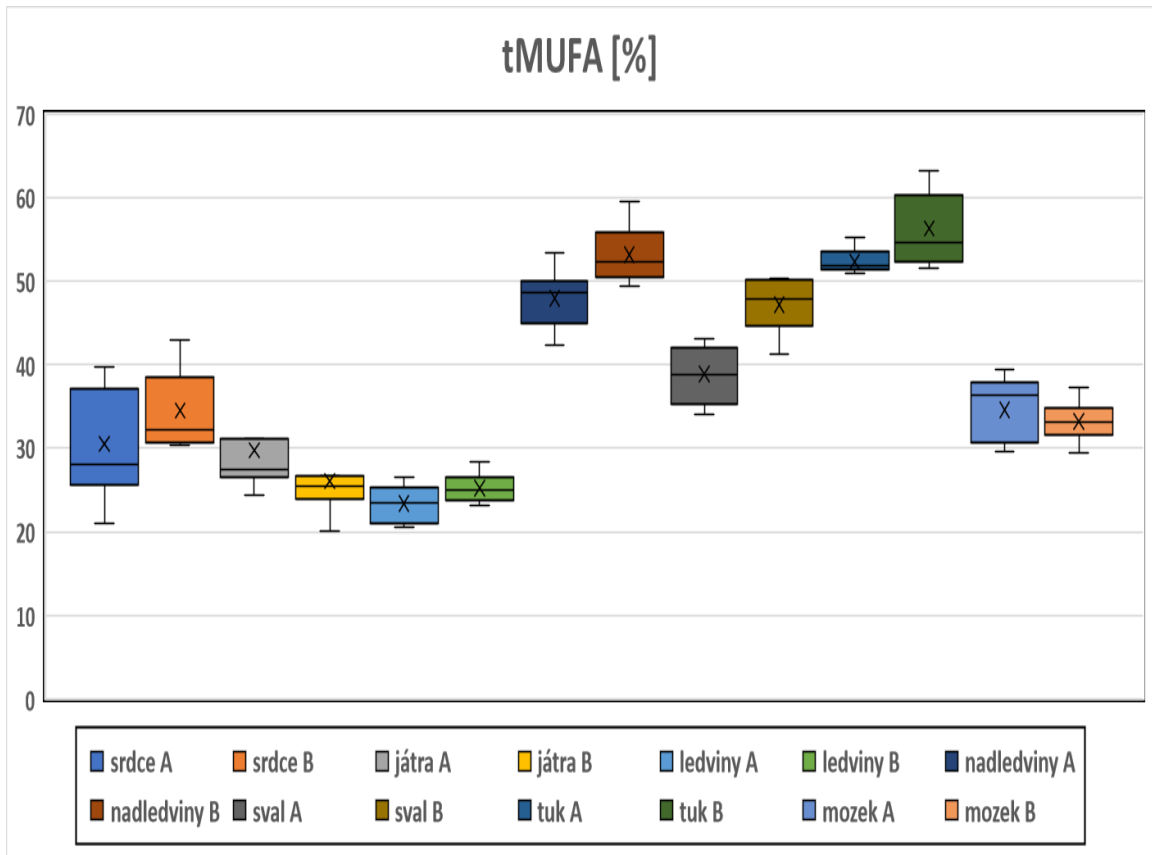
Na obrázku 38 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení tMUFA v analyzovaných tkáních a skupinách mezi sebou i celkově. V nadledvinách, svalu a podkožním tuku je patrné větší procentuální zastoupení na rozdíl od ostatních tkání. U většiny tkání i v celkovém souhrnu převažují vyšší hodnoty u skupiny B.



**Obrázek 38 tMUFA [%] – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních**

Zdroj: vlastní zpracování

Graficky znázorněná deskriptivní statistika tMUFA a statisticky významné rozdíly jsou uvedené na obrázku 39.



**Obrázek 39 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – tMUFA [%]**

Zdroj: vlastní zpracování

Obsah tMUFA v tkáních skupiny A a B se statisticky významně lišil v ledvinách, nadledvinách, svalu a podkožním tuku. Vyšší hodnoty tMUFA byly zaznamenány ve všech případech ve skupině B. Kompletní statisticky významné rozdíly jsou znázorněny v tabulce 39.

**Tabulka 39 Statisticky významné rozdíly – tMUFA [%]**

Skupina A	Skupina B
srdce	= srdce
játra	= játra
ledviny	< ledviny
nadledviny	< nadledviny
sval	< sval
tuk	< tuk
mozek	= mozek

Zdroj: vlastní zpracování

### 4.2.3 Suma $\omega$ -6 polynenasycených mastných kyselin

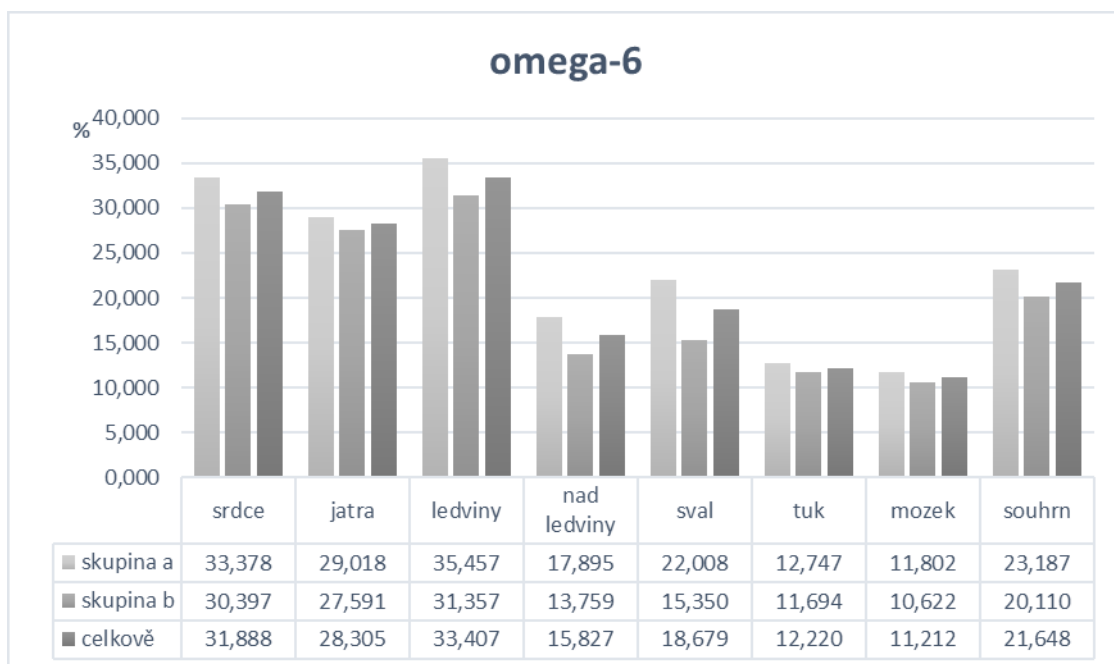
Pro  $\omega$ -6 PUFA je deskriptivní statistika uvedená v tabulce 40.

**Tabulka 40  $\omega$ -6 PUFA [%] – deskriptivní statistika**

omega-6	srdce A	srdce B	játra A	játra B	ledviny A	ledviny B	nadledviny A	nadledviny B	sval A	sval B	tuk A	tuk B	mozek A	mozek B
počet hodnot	7	9	8	9	8	9	8	9	8	10	8	9	9	10
min.	26,244	24,948	17,913	17,229	31,947	21,364	14,288	10,631	17,444	12,239	11,756	9,883	9,230	8,634
max.	38,219	34,197	39,667	32,356	38,573	28,716	28,243	17,294	27,174	19,270	16,467	13,400	12,673	12,253
arit. průměr	33,378	30,397	29,018	27,591	35,457	31,357	17,895	13,759	22,008	15,350	12,747	11,694	11,802	10,622
SD	5,232	3,418	6,469	4,915	2,340	4,224	4,596	2,123	2,819	1,905	1,579	1,132	1,011	1,141
medián	36,231	31,164	29,440	29,816	35,938	32,579	15,850	14,083	21,707	15,252	12,024	11,579	12,023	10,459
25% percentil	28,733	26,760	16,796	20,726	32,652	26,900	14,979	12,032	20,855	14,086	11,714	10,704	11,819	9,939
75% percentil	39,492	33,278	31,211	30,520	37,764	33,704	21,527	16,392	27,324	16,336	13,883	12,761	12,481	11,743
normalita	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano

Zdroj: vlastní zpracování

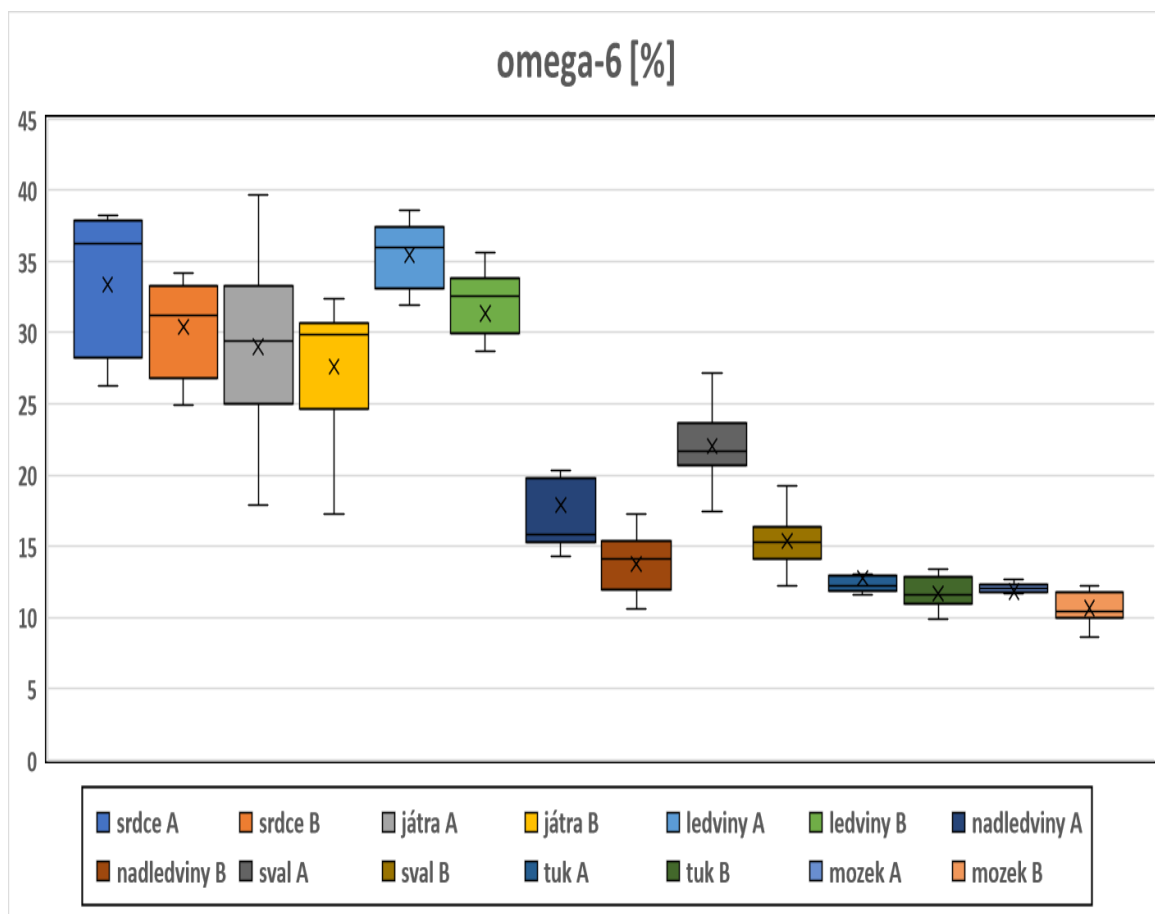
Na obrázku 40 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení  $\omega$ -6 PUFA v analyzovaných tkáních a skupinách mezi sebou i celkově. Nejnižší hodnoty se nacházejí u nadledvin, svalů, podkožním tuku a mozku. Největší rozdíl mezi jednotlivými skupinami jsme zaznamenali ve svalové tkáni.



**Obrázek 40  $\omega$ -6 PUFA [%] – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních**

Zdroj: vlastní zpracování

Graficky znázorněná deskriptivní statistika  $\omega$ -6 PUFA a statisticky významné rozdíly jsou uvedené na obrázku 41.



**Obrázek 41 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly –  $\omega$ -6 PUFA [%]**

Zdroj: vlastní zpracování

Obsah  $\omega$ -6 PUFA v tkáních skupiny A a B se statisticky významně lišil v ledvinách, nadledvinách, svalu a mozku. Vyšší hodnoty  $\omega$ -6 PUFA byly zaznamenány ve všech případech ve skupině A. Kompletní statisticky významné rozdíly jsou znázorněny v tabulce 41.

**Tabulka 41 Statisticky významné rozdíly –  $\omega$ -6 PUFA [%]**

Skupina A	Skupina B
srdce	= srdce
játra	= játra
ledviny	> ledviny
nadledviny	> nadledviny
sval	> sval
tuk	= tuk
mozek	> mozek

Zdroj: vlastní zpracování

#### 4.2.4 Suma $\omega$ -3 polynenasycených mastných kyselin

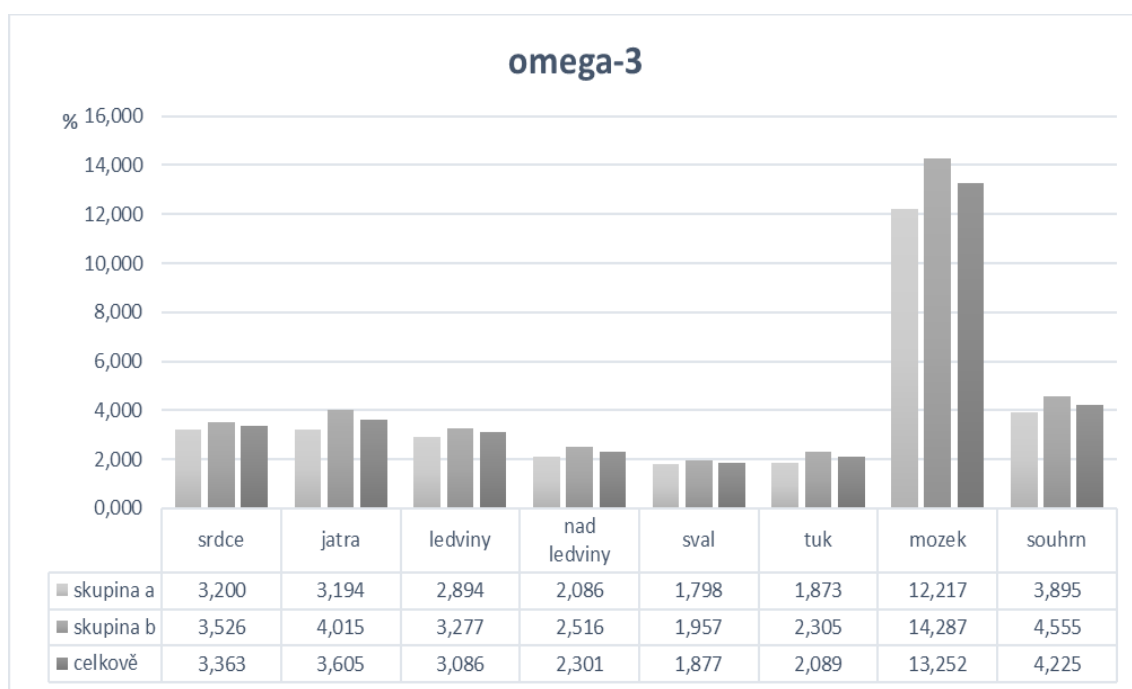
Pro  $\omega$ -3 PUFA je deskriptivní statistika uvedená v tabulce 42.

**Tabulka 42  $\omega$ -3 PUFA [%] – deskriptivní statistika**

omega-3	srdce A	srdce B	játra A	játra B	ledviny A	ledviny B	nadledviny A	nadledviny B	sval A	sval B	tuk A	tuk B	mozek A	mozek B
počet hodnot	9	9	9	9	10	9	10	10	8	10	8	10	10	8
min.	2,577	2,358	1,355	1,756	2,279	2,869	1,653	1,796	1,594	1,473	1,533	1,833	8,776	12,718
max.	3,692	4,379	5,259	5,411	3,752	3,825	2,711	3,108	1,939	2,501	2,151	2,816	16,627	15,520
arit. průměr	3,200	3,526	3,194	4,015	2,894	3,277	2,086	2,516	1,798	1,957	1,873	2,305	12,217	14,287
SD	0,352	0,772	1,408	1,218	0,541	0,309	0,393	0,449	0,122	0,368	0,179	0,354	2,382	1,135
medián	3,240	3,711	3,058	4,380	2,869	3,182	2,037	2,560	1,819	1,940	1,896	2,378	11,894	14,338
25% percentil	2,930	2,781	1,924	3,044	2,314	2,955	1,811	2,164	1,709	1,599	1,811	1,975	10,401	12,970
75% percentil	3,475	4,251	4,424	4,930	3,314	3,500	2,506	2,893	1,933	2,381	2,229	2,596	14,099	15,431
normalita	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano

Zdroj: vlastní zpracování

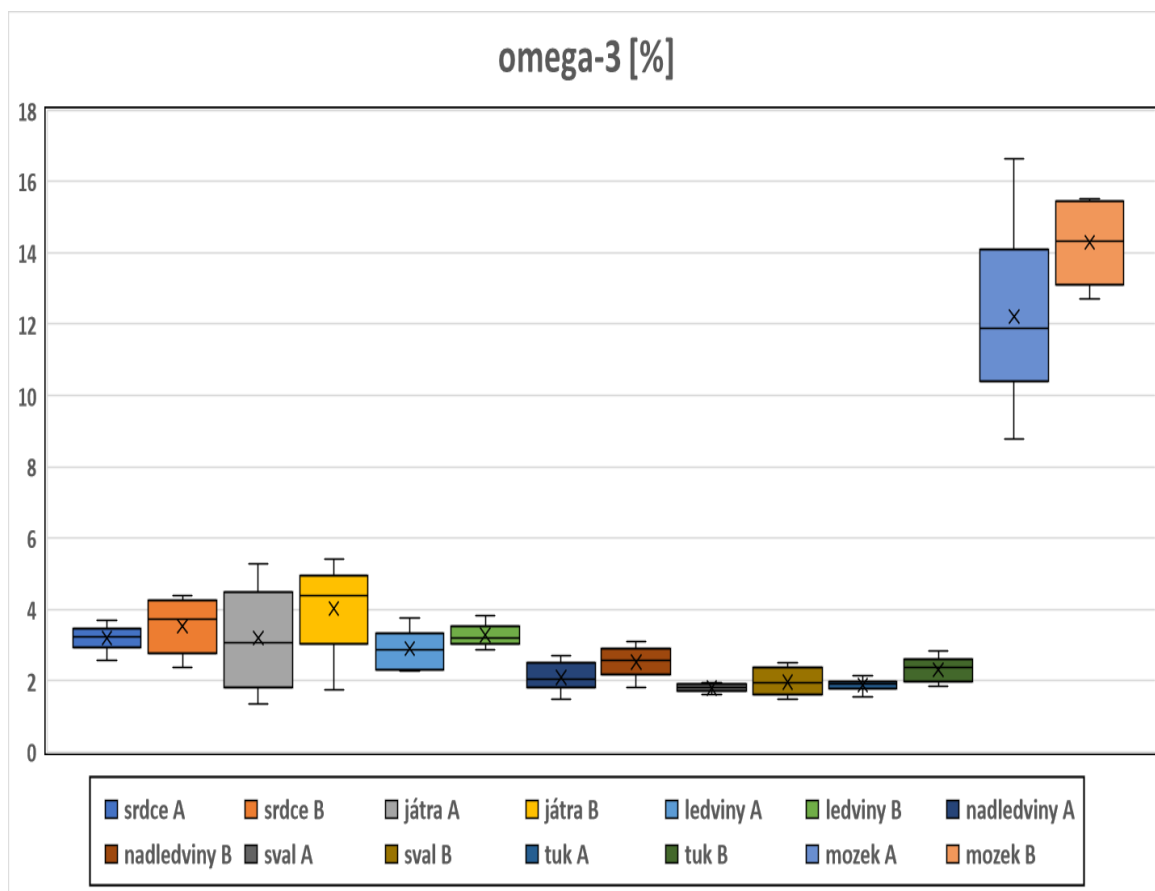
Na obrázku 42 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení  $\omega$ -3 PUFA v analyzovaných tkáních a skupinách mezi sebou i celkově. Výrazně nejvyšší hodnoty sumy  $\omega$ -3 PUFA se nachází v mozku u obou skupin, zejména ve skupině B. Získané hodnoty v ostatních tkáních se mezi sebou výrazně neliší.



**Obrázek 42  $\omega$ -3 PUFA [%] – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních**

Zdroj: vlastní zpracování

Graficky znázorněná deskriptivní statistika  $\omega$ -3 PUFA a statisticky významné rozdíly jsou uvedené na obrázku 43.



**Obrázek 43 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly –  $\omega$ -3 PUFA [%]**

Zdroj: vlastní zpracování

Obsah  $\omega$ -3 PUFA v tkáních skupiny A a B se statisticky významně lišil v ledvinách, nadledvinách, podkožním tuku a mozku. Vyšší hodnoty  $\omega$ -3 PUFA byly zaznamenány ve všech případech ve skupině B. Obsah  $\omega$ -3 PUFA v mozku byl u obou skupin ve srovnání s ostatními tkáněmi velmi vysoký. Kompletní statisticky významné rozdíly jsou znázorněny v tabulce 43.

**Tabulka 43 Statisticky významné rozdíly –  $\omega$ -3 PUFA [%]**

Skupina A	Skupina B
srdce	= srdce
játra	= játra
ledviny	< ledviny
nadledviny	< nadledviny
sval	= sval
tuk	< tuk
mozek	< mozek

Zdroj: vlastní zpracování



## 4.2.5 Poměr kyseliny olejové a kyseliny stearové

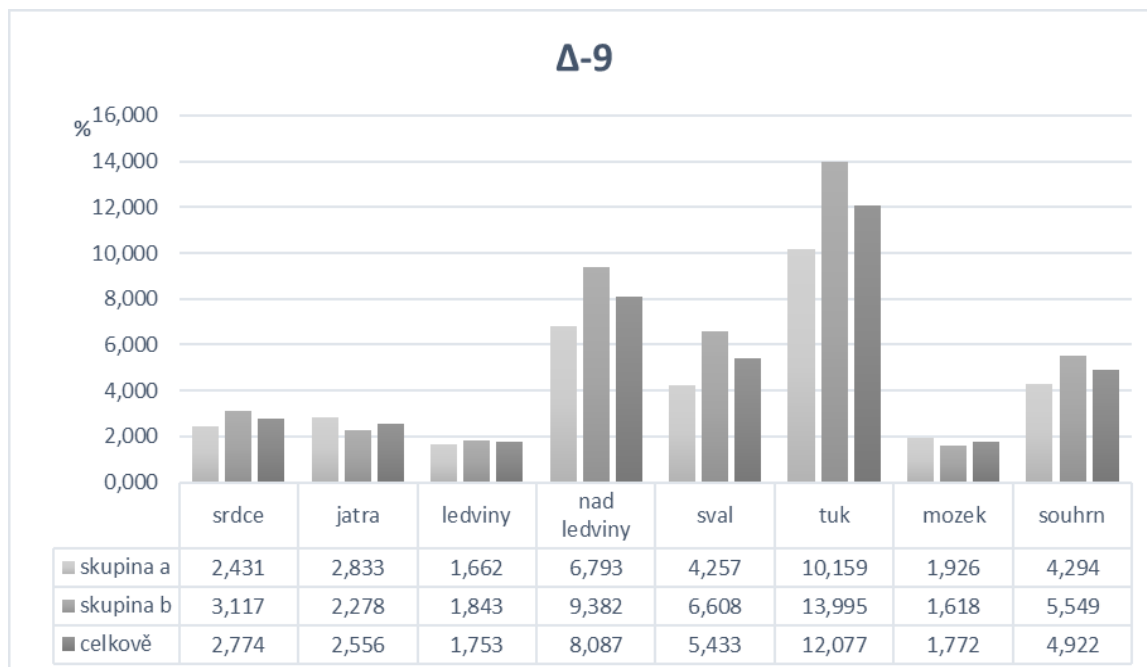
Pro  $\Delta$ -9 je deskriptivní statistika uvedena v tabulce 44.

**Tabulka 44  $\Delta$ -9 – deskriptivní statistika**

$\Delta$ -9	srdce A	srdce B	játra A	játra B	ledviny A	ledviny B	nadledviny A	nadledviny B	sval A	sval B	tuk A	tuk B	mozek A	mozek B
počet hodnot	8	8	8	10	9	9	9	10	10	8	9	10	9	9
min.	1,308	2,426	1,624	1,255	1,381	1,404	4,832	7,922	2,880	5,350	7,459	8,113	1,298	1,332
max.	3,811	4,899	5,530	4,050	1,953	2,867	8,801	10,879	5,366	7,485	12,624	25,450	2,575	1,923
arit. průměr	2,431	3,117	2,833	2,278	1,662	1,843	6,793	9,382	4,257	6,608	10,159	13,995	1,926	1,618
SD	0,829	0,847	1,358	1,028	0,205	0,451	1,061	1,202	0,852	0,689	2,283	5,555	0,445	0,201
medián	2,187	2,725	2,368	1,843	1,695	1,743	6,839	9,260	0,852	6,736	10,003	12,776	2,085	1,701
25% percentil	1,623	2,515	1,498	1,442	1,453	1,544	6,326	8,248	3,410	5,760	7,862	9,950	1,415	1,439
75% percentil	3,291	3,595	3,209	3,530	1,926	2,289	7,624	10,629	5,073	7,283	12,406	17,047	2,262	1,768
normalita	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano

Zdroj: vlastní zpracování

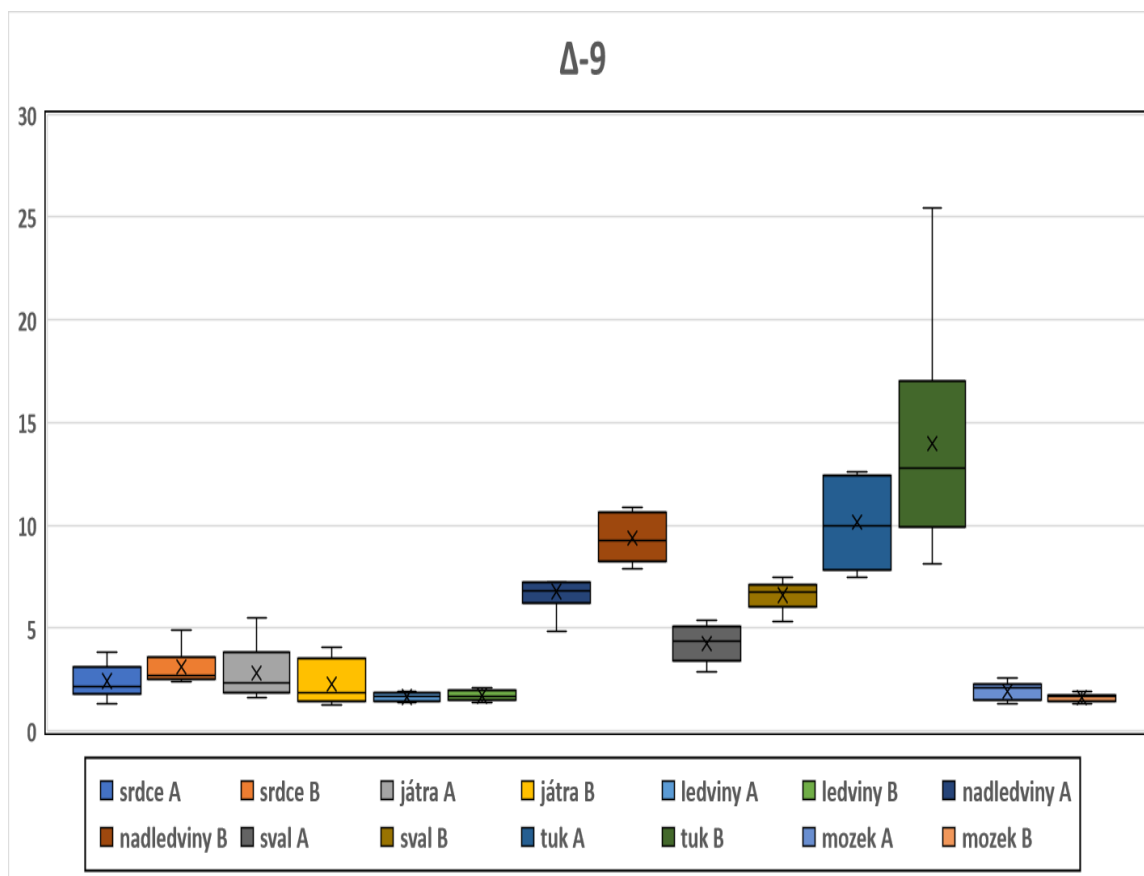
Na obrázku 44 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení poměru  $\Delta$ -9 v analyzovaných tkáních a skupinách mezi sebou i celkově. Nejvyšší hodnoty se opět nacházejí v nadledvinách, svalu a podkožním tuku. Je u nich patrné i vyšší zastoupení  $\Delta$ -9 ve skupině B.



**Obrázek 44  $\Delta$ -9 - průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních**

Zdroj: vlastní zpracování

Graficky znázorněná deskriptivní statistika  $\Delta$ -9 a statisticky významné rozdíly jsou uvedené na obrázku 45.



**Obrázek 45 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly –  $\Delta$ -9**

Zdroj: vlastní zpracování

Obsah  $\Delta$ -9 v tkáních skupiny A a B se statisticky významně lišil v nadledvinách, svalu, podkožním tuku a mozku. Vyšší hodnoty  $\Delta$ -9 ve skupině B se nacházely v nadledvinách, svalu a podkožním tuku. Naopak vyšší obsah  $\Delta$ -9 v mozku se nacházel ve skupině A. Kompletní statisticky významné rozdíly jsou znázorněné v tabulce 45.

**Tabulka 45 Statisticky významné rozdíly –  $\Delta$ -9**

Skupina A	Skupina B
srdce	= srdce
játra	= játra
ledviny	= ledviny
nadledviny	< nadledviny
sval	< sval
tuk	< tuk
mozek	> mozek

Zdroj: vlastní zpracování

## 4.2.6 Poměr kyseliny arachidonové a kyseliny eikosapentaenové

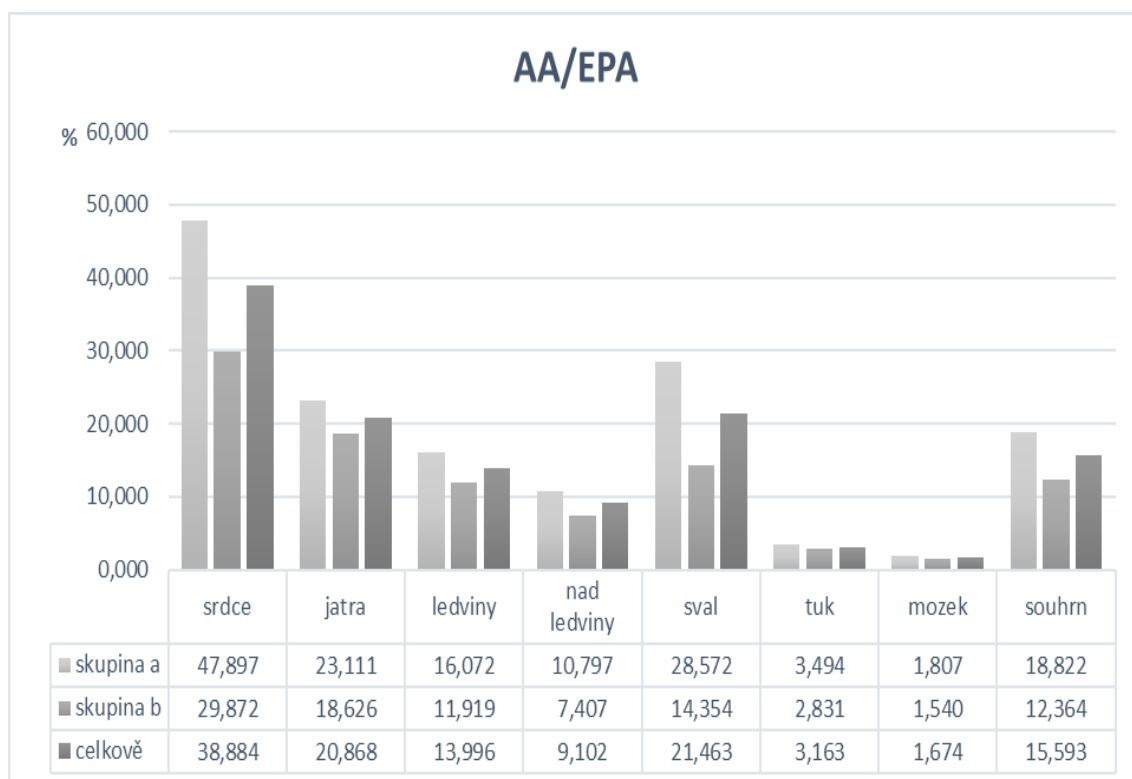
Pro AA/EPA je deskriptivní statistika uvedená v tabulce 46.

**Tabulka 46 AA/EPA – deskriptivní statistika**

AA/EPA	srdce A	srdce B	játra A	játra B	ledviny A	ledviny B	nadledviny A	nadledviny B	sval A	sval B	tuk A	tuk B	mozek A	mozek B
počet hodnot	9	9	9	9	10	9	10	10	8	10	9	10	10	9
min.	27,138	18,996	16,076	16,347	10,058	8,399	6,784	3,645	18,048	3,543	1,553	1,307	1,544	1,189
max.	87,931	47,820	28,914	21,767	27,659	13,674	16,781	12,224	40,035	22,744	4,898	4,657	3,604	1,840
arit. průměr	47,897	29,872	23,111	18,626	16,072	11,919	10,797	7,407	28,572	14,354	3,494	2,831	1,807	1,540
SD	17,899	8,302	3,909	2,040	5,870	1,581	2,965	2,476	8,386	7,470	1,031	1,104	0,633	0,236
medián	50,894	31,074	23,406	18,894	14,569	12,174	10,075	6,565	25,725	17,383	3,533	2,898	1,596	1,552
25% percentil	34,017	23,480	21,094	16,602	10,948	10,892	8,897	6,067	17,609	6,544	2,345	1,834	1,584	1,359
75% percentil	53,135	32,605	28,388	20,723	19,609	12,941	12,728	9,680	36,407	20,925	4,190	3,647	1,659	1,823
normalita	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano

Zdroj: vlastní zpracování

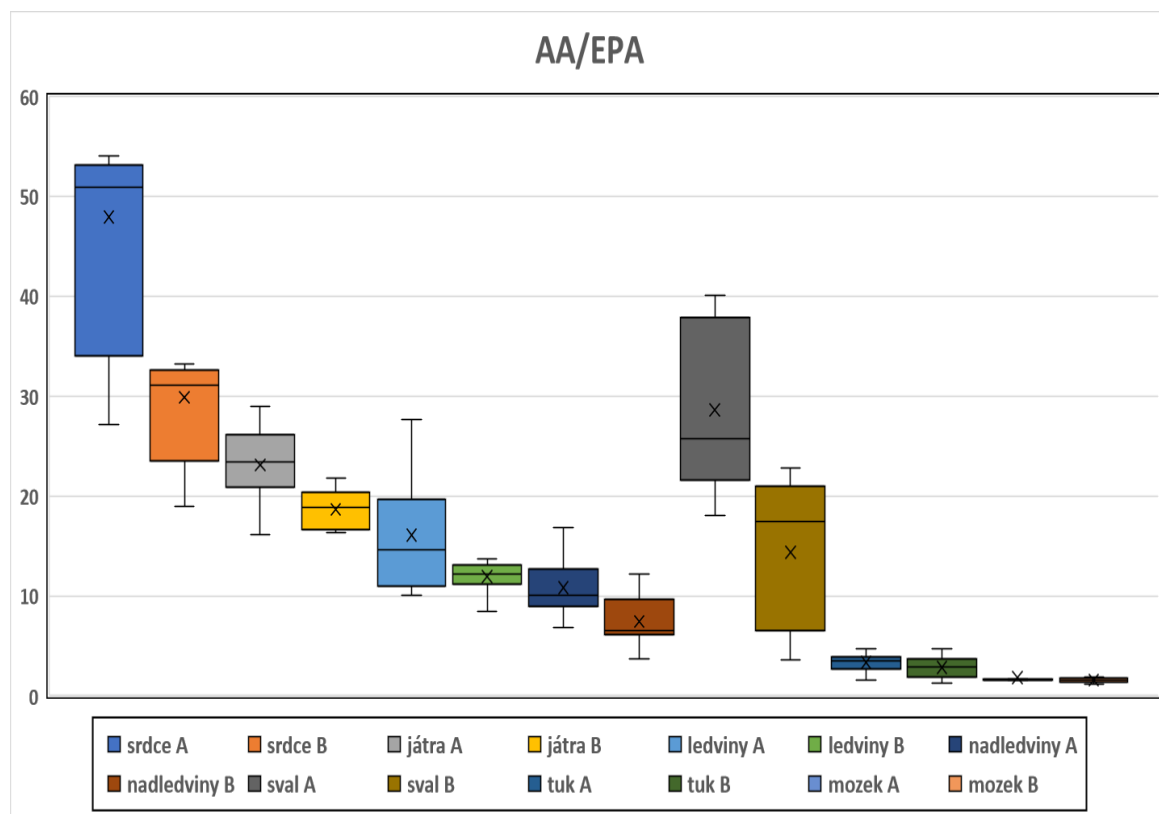
Na obrázku 46 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení poměru AA/EPA v analyzovaných tkáních a skupinách mezi sebou i celkově. S výjimkou mozku se u ostatních tkání nachází procentuálně vyšší zastoupení poměru AA/EPA ve skupině A.



**Obrázek 46 AA/EPA – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních**

Zdroj: vlastní zpracování

Graficky znázorněná deskriptivní statistika AA/EPA a statisticky významné rozdíly jsou uvedené na obrázku 47.



**Obrázek 47 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – AA/EPA**

Zdroj: vlastní zpracování

Obsah AA/EPA v tkáních skupiny A a B se statisticky významně lišil v srdci, játrech, ledvinách, nadledvinách a svalu. Vyšší hodnoty AA/EPA ve všech případech se nacházely ve skupině A. Hodnoty AA/EPA v srdci a svalu byly v porovnání s ostatními tkáněmi velmi odlišné. Naopak v mozku se hodnoty prakticky nelišily a byly velmi malé. Kompletní statisticky významné rozdíly jsou znázorněné v tabulce 47.

**Tabulka 47 Statisticky významné rozdíly – AA/EPA**

Skupina A	Skupina B
srdce	> srdce
játra	> játra
ledviny	> ledviny
nadledviny	> nadledviny
sval	> sval
tuk	= tuk
mozek	= mozek

Zdroj: vlastní zpracování

## 4.2.7 Poměr kyseliny arachidonové a kyseliny dihomo- $\gamma$ -linolenové

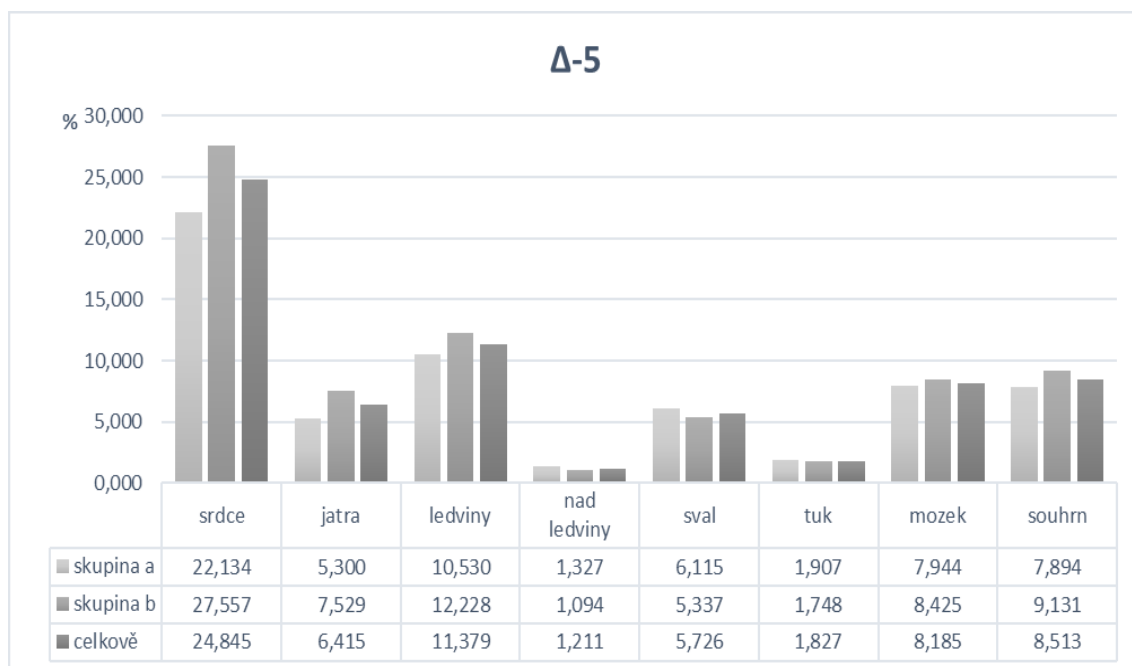
Pro  $\Delta$ -5 je deskriptivní statistika uvedena v tabulce 48.

**Tabulka 48  $\Delta$ -5 – deskriptivní statistika**

$\Delta$ -5	srdce A	srdce B	játra A	játra B	ledviny A	ledviny B	nadledviny A	nadledviny B	sval A	sval B	tuk A	tuk B	mozek A	mozek B
počet hodnot	9	9	10	9	10	9	10	10	10	10	10	10	10	10
min.	17,085	18,978	4,036	5,008	7,655	7,624	0,892	0,699	4,834	2,786	1,312	0,969	5,115	7,179
max.	30,200	41,623	7,497	10,304	15,502	21,902	1,750	1,494	8,065	8,286	2,493	2,449	9,601	10,257
arit. průměr	22,134	27,557	5,300	7,529	10,530	12,228	1,327	1,094	6,115	5,337	1,907	1,748	7,944	8,425
SD	4,276	6,970	1,068	1,652	2,392	4,142	0,256	0,228	1,238	1,685	0,415	0,420	1,487	1,029
medián	21,923	25,813	5,204	7,361	10,360	11,977	1,344	1,069	1,238	5,289	1,852	1,857	8,256	8,119
25% percentil	18,314	21,806	4,194	6,720	8,672	9,418	1,096	0,991	4,983	4,230	1,525	1,449	6,817	7,567
75% percentil	25,229	31,376	5,867	9,871	12,317	12,945	1,507	1,192	7,254	6,502	2,360	2,022	9,109	9,365
normalita	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ano

Zdroj: vlastní zpracování

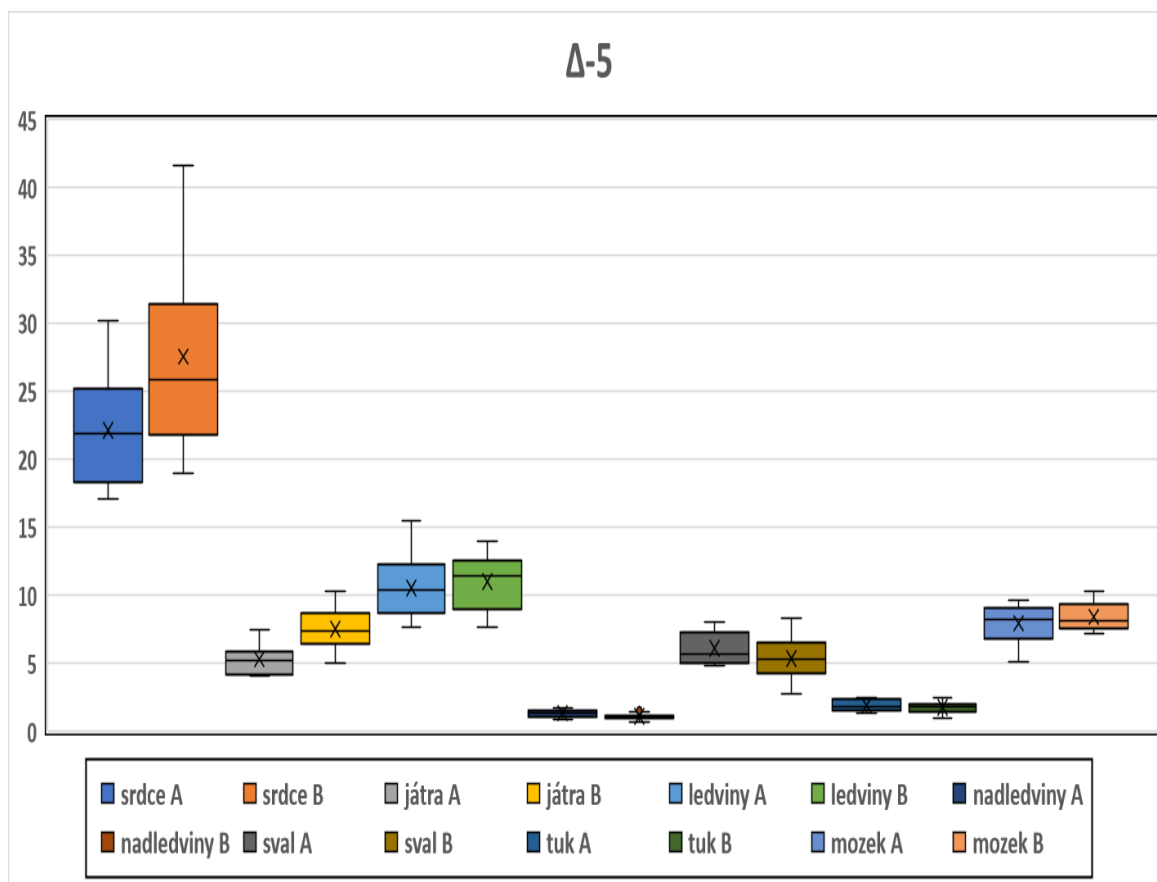
Na obrázku 48 je znázorněno průměrné procentuální zastoupení poměru  $\Delta$ -5 v analyzovaných tkáních a skupinách mezi sebou i celkově. Největší zastoupení poměru  $\Delta$ -5 jsme zaznamenali v srdeční tkáni, konkrétně ve skupině B. Naopak nejnižší hodnoty se nacházejí v nadledvinách a podkožním tuku.



**Obrázek 48  $\Delta$ -5 - průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních**

Zdroj: vlastní zpracování

Graficky znázorněná deskriptivní statistika  $\Delta$ -5 a statisticky významné rozdíly jsou uvedené na obrázku 49.



**Obrázek 49 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly –  $\Delta$ -5**

Zdroj: vlastní zpracování

Obsah  $\Delta$ -5 v tkáních skupiny A a B se statisticky významně lišil v srdci, játrech a nadledvinách. Vyšší hodnoty  $\Delta$ -5 ve skupině B se nacházely v srdci a játrech. Naopak vyšší obsah  $\Delta$ -5 v nadledvinách se nacházel ve skupině A. Kompletní statisticky významné rozdíly jsou znázorněné v tabulce 49.

**Tabulka 49 Statisticky významné rozdíly –  $\Delta$ -5**

Skupina A	Skupina B
srdce	< srdce
játra	< játra
ledviny	= ledviny
nadledviny	> nadledviny
sval	= sval
tuk	= tuk
mozek	= mozek

Zdroj: vlastní zpracování

### 4.3 Souhrn statisticky významných rozdílů

Statisticky významné rozdíly jednotlivých mastných kyselin v konkrétní tkáni souhrnně zobrazuje tabulka 30. Pokud byl nalezen statisticky významný rozdíl pro skupinu A nebo B, v tabulce je příslušná skupina se zjištěnou vyšší hodnotou tučně vyznačena.

**Tabulka 50 Shrnutí statisticky významných rozdílů**

	Srdce	Játra	Ledviny	Nadledviny	Sval	Tuk	Mozek
C12:0	x	<b>A</b>	x	x	x	x	x
C14:0	x	<b>A</b>	x	x	x	x	x
PA	x	x	x	x	x	<b>A</b>	<b>A</b>
POA	<b>B</b>	x	x	<b>B</b>	<b>B</b>	<b>B</b>	x
SA	x	x	x	<b>A</b>	<b>A</b>	<b>A</b>	<b>B</b>
OA	x	x	x	<b>B</b>	<b>B</b>	<b>B</b>	x
LA	<b>A</b>	x	<b>A</b>	<b>A</b>	<b>A</b>	x	x
xGLA	x	x	x	<b>A</b>	<b>A</b>	x	<b>B</b>
ALA	x	x	<b>B</b>	<b>B</b>	<b>B</b>	<b>B</b>	<b>B</b>
MA	x	x	x	x	<b>A</b>	<b>A</b>	<b>B</b>
DGLA	<b>A</b>	x	x	x	<b>A</b>	x	x
AA	x	x	x	x	<b>A</b>	x	x
EPA	<b>B</b>	<b>B</b>	x	x	x	<b>B</b>	x
DHA	x	x	x	x	x	<b>B</b>	x
tSFA	x	<b>A</b>	x	x	x	x	x
tMUFA	x	x	<b>B</b>	<b>B</b>	<b>B</b>	<b>B</b>	x
Omega-6	x	x	<b>A</b>	<b>A</b>	<b>A</b>	x	<b>A</b>
Omega-3	x	x	<b>B</b>	<b>B</b>	x	<b>B</b>	<b>B</b>
$\Delta$ -9	x	x	x	<b>B</b>	<b>B</b>	<b>B</b>	<b>A</b>
AA/EPA	<b>A</b>	<b>A</b>	<b>A</b>	<b>A</b>	<b>A</b>	x	x
$\Delta$ -5	<b>B</b>	<b>B</b>	x	<b>A</b>	x	x	x

Zdroj: vlastní zpracování

V srdci byl statisticky významný rozdíl nalezen šestkrát. Vyšší hodnoty ve skupině A byly zjištěné u LA, DGLA a u poměru AA/EPA. Ve skupině B byly vyšší hodnoty zaznamenané u POA, EPA a u poměru  $\Delta$ -5.

V játrech byl statisticky významný rozdíl nalezen šestkrát. Vyšší hodnoty ve skupině A byly zjištěné u C12:0, C14:0, tSFA a u poměru AA/EPA. Ve skupině B byly vyšší hodnoty zaznamenané u EPA a poměru  $\Delta$ -5.

V ledvinách byl statisticky významný rozdíl nalezen šestkrát. Vyšší hodnoty ve skupině A byly zjištěné u LA,  $\omega$ -6 a poměru AA/EPA. Ve skupině B byly vyšší hodnoty zaznamenané u ALA, tMUFA a  $\omega$ -3.

V nadledvinách byl statisticky významný rozdíl nalezen dvanáctkrát. Vyšší hodnoty ve skupině A byly zjištěné u SA, LA, GLA,  $\omega$ -6 a poměru AA/EPA a  $\Delta$ -5. Ve skupině B byly vyšší hodnoty zaznamenané u POA, OA, ALA, tMUFA,  $\omega$ -3 a poměru  $\Delta$ -9.

Ve svalové tkáni byl statisticky významný rozdíl nebyl nalezen třináctkrát. Vyšší hodnoty ve skupině A byly zjištěné u SA, LA, GLA, MA, DGLA, AA,  $\omega$ -6 a u poměru AA/EPA. Ve skupině B byly vyšší hodnoty zaznamenané u POA, OA, ALA, tMUFA a  $\Delta$ -9.

V břišní podkožní tukové tkáni byl statisticky významný rozdíl nalezen jedenáctkrát. Vyšší hodnoty ve skupině A byly zjištěné u PA, SA a MA. Ve skupině B byly vyšší hodnoty zaznamenané u POA, OA, ALA, EPA, DHA, tMUFA,  $\omega$ -3 a  $\Delta$ -9.

V mozku byl statisticky významný rozdíl nalezen osmkrát. Vyšší hodnoty ve skupině A byly zjištěné u PA,  $\omega$ -6 a  $\Delta$ -9. Ve skupině B byly vyšší hodnoty zaznamenané u SA, GLA, ALA, MA a  $\omega$ -3.

V případě tSFA je statisticky významný rozdíl pouze v játrech u skupiny A.

Naopak u tMUFA je rozdíl v ledvinách, nadledvinách, svalu a břišní podkožní tukové tkáni (skupina B).

U  $\omega$ -6 PUFA je rozdíl v ledvinách, nadledvinách, svalu a mozku (skupina A).

Naopak u  $\omega$ -3 PUFA je rozdíl v ledvinách, nadledvinách, břišní podkožní tukové tkáni a mozku (skupina B).

Poměry  $\Delta$ -9 jsou statisticky odlišné v nadledvinách, svalu, břišní podkožní tukové tkáni (skupina B) a u mozku (skupina A).

U poměru AA/EPA je rozdíl v srdci, játrech, ledvinách, nadledvinách a svalu (skupina A).

U posledního poměru  $\Delta$ -5 je rozdíl v srdci, játrech (skupina B) a nadledvinách (skupina A).



## 5. Diskuze

Cíl této diplomové práce bylo stanovení hladin jednotlivých mastných kyselin v sedmi tkáních lidského organismu. Jednalo se o subendokardiální tkáň z levé komory – srdeční tkáň, tkáň z parenchymu jater, korovou část ledvin, tkáň nadledvin, kosterní sval – biceps pravé ruky, břišní podkožní tukovou tkáň a mozkovou tkáň – kůru z frontálního laloku. Ve spolupráci s Fakultní nemocnicí v Hradci králové, konkrétně s Ústavem soudního lékařství Lékařské fakulty Univerzity Karlovy jsme v průběhu sedmi měsíců sbírali vzorky biologického materiálu.

Vzorky byly odebrány od 20 zemřelých (6 žen a 14 mužů), které jsme rozdělili do dvou skupin podle příčin úmrtí. Ve skupině A se nacházejí náhle zemřelí jedinci, jinak zdraví, bez patologie. Jedná se o 4 ženy a 6 mužů, průměrný věk v této skupině byl  $29,3 \pm 7,7$  (medián 26,0). Příčinou úmrtí bylo ve většině případů oběšení, dopravní úraz a pracovní úraz. Bližší charakteristika skupiny A je zanesena do tabulky 6. Tato skupina zemřelých podle dostupných údajů netrpěla žádným chronickým onemocněním, který by mohlo mít vliv na skladbu mastných kyselin v organismu.

Ve skupině B se nacházejí polymorbidní, dlouhodobě nemocní pacienti. Jedná se o 2 ženy a 8 mužů, průměrný věk v této skupině byl  $75,0 \pm 9,7$  let (medián 74,5). U těchto jedinců bylo při pitvě potvrzeno chronické onemocnění, nejčastěji ateroskleróza, ICHS, DM 2, CHOPN, arteriální hypertenze a demence. V době úmrtí u této skupiny předpokládáme zánětlivý proces. Bližší charakteristika skupiny B je zanesena v tabulce 7.

Příprava vzorků i samotné měření plynovým chromatogramem probíhala na oddělení Centra výzkumu a vývoje Fakultní nemocnice Hradec Králové. I přes maximální snahu o přesnost a preciznost při přípravě vzorků mohli již v předanalytickém procesu vznikat nepřesnosti. Jednalo se například o velmi tuhé vzorky svalové tkáně a podkožního tuku, které nemusely být v procesu homogenizace nebo extrakce dokonale zpracovány. K negativnímu ovlivnění vzorku mohlo dojít také při skladování nebo ve fázi samotného odběru. Pravděpodobně z těchto důvodů se při chromatografickém zpracování v některých případech objevily odlišné hodnoty identifikovaných mastných kyselin. Výrazně odlišné hodnoty jsme již v prvotním statistickém zpracování vyloučili a dále s nimi nepracovali.

Při statistickém porovnávání jednotlivých mastných kyselin a dalších sledovaných parametrů (tMUFA, tSFA,  $\omega$ -3 PUFA,  $\omega$ -6 PUFA,  $\Delta$ -9 OA/SA, AA/EPA,  $\Delta$ -5 AA/DGLA) jsme dospěli k zjištěním uvedených v podkapitole 4.3 a tabulce 50.

Je všeobecně známo, že mediátoři vytvoření z EPA, spadající do kategorie  $\omega$ -3 PUFA, mají protizánětlivé účinky. Na druhou stranu eikosanoidy vytvořené z AA ( $\omega$ -6 PUFA) zánět podporují. Z tohoto tvrzení vyplývá a naše studie to potvrzuje, že při probíhajícím zánětlivém procesu jsou hladiny  $\omega$ -6 PUFA nízké. U chronicky nemocného pacienta se hladina  $\omega$ -6 vyčerpá na tvorbu prozánětlivých mediátorů, což je v souladu s naší prací. Vyšší hladina  $\omega$ -6 PUFA se při statisticky významném rozdílu vždy nacházela u zdravých jedinců bez prozánětlivých mediátorů ve skupině A (ledviny, nadledviny, sval, mozek). Vyšší statisticky významný obsah  $\omega$ -6 PUFA – LA, GLA, DGLA, AA jsme zjistili ve svalové tkáni, LA a DGLA v srdci, LA v ledvinách a LA a GLA v nadledvinách.

Statisticky významné vyšší hodnoty pro  $\omega$ -3 PUFA jsme naopak vždy objevili ve skupině B (ledviny, nadledviny, tuk a mozek). Statisticky vyšší hodnoty ALA ve skupině B se prokázaly v ledvinách, nadledvinách, svalu, břichu a mozku. U EPA se vyšší hodnoty nacházely v srdci, játrech a břišní podkožní tukové tkáni. U poslední zmiňované tkáně jsme zaznamenali i vyšší hladiny DHA.

Skladba PUFA v mozku je důležitá pro správné zrání mozku a její deficit se může podílet na rozvoji Alzheimerovy choroby a jiných demencí ve stáří. V mozkové tkáni mají  $\omega$ -3 PUFA efekt protizánětlivý a neuroprotektivní. Naopak  $\omega$ -6 PUFA jsou prozánětlivé. Zdravá bilance  $\omega$ -6/  $\omega$ -3 podporuje fungování mozku (Janssen & Kiliaan, 2014). Převážně v dětství a ve stáří je zásobování mozku  $\omega$ -3 PUFA zásadní, nedostatek ve stáří může způsobit zhoršení funkce mozku (Simopoulos, 2011). Nejpočetnější v mozku je AA a DHA, představují asi jednu pětinu suché hmotnosti mozku. DHA představuje 10-15 % mozkových mastných kyselin nebo asi 5 g v dospělém mozku (Domenichiello, Kitson, & Bazinet, 2015).

V naší studii jsme zaznamenali vysoké procentuální zastoupení EPA (celkový průměr 3,920, v ostatních tkáních nepřekračuje hranici 1,00) a DHA (celkový průměr 7,84, v ostatních tkáních není překročeno hranice 3,00) v mozkové tkáni. I přes výše uvedené poznatky bylo vyšší zastoupení EPA i DHA v obou případech ve skupině B. Hladina AA v mozku byla v obou skupin prakticky stejná.

V kapitole 2.6 je vysvětlena biosyntéza PUFA, a právě na jejím základě jsme do kategorie další sledované parametry zařadili i poměr OA/SA (SA se štěpí působením  $\Delta$ -9 desaturázy na OA), AA/EPA (tyto dvě kyseliny jsou štěpeny stejnou desaturázou  $\Delta$ -5) a AA/DGLA (DGLA se štěpí  $\Delta$ -5 desaturázou na AA). Mezi skupinou  $\omega$ -3 a  $\omega$ -6 PUFA enzymatická přeměna není možná, ale díky systému elongáz a desaturáz se v metabolismu PUFA uplatňuje kompetitivní mechanismus. Díky tomu dochází při nadbytku jedné ze skupin k poklesu přeměny skupiny druhé. Poměr  $\Delta$ -9 v tkáních se statisticky významně lišil v nadledvinách, svalu, břišní tukové tkáni a mozku. Vyšší hodnoty  $\Delta$ -9 ve skupině B se nacházely v nadledvinách, svalu a břišní tkáni. Naopak v mozku byl poměr  $\Delta$ -9 vyšší ve skupině A. Poměr AA/EPA se statisticky významně lišil v srdci, játrech, ledvinách, nadledvinách a svalu. Ve všech případech se jednalo o vyšší hodnotu ve skupině A. V srdci byla hodnota nejvyšší, a to ve skupině A. U poměru  $\Delta$ -5 se v tkáních statisticky významně lišil v srdci, játrech a nadledvinách. Vyšší hodnoty  $\Delta$ -5 ve skupině B se nacházely v srdci a játrech, naopak vyšší obsah  $\Delta$ -9 jsme našli v nadledvinách. Nejvyšší hodnota se nacházela opět v srdci ale ve skupině B.

Pokud se podíváme blíže na skupinu B, tedy na polymorbidní pacienty, u všech lze najít srdeční onemocnění (AH, ICHS, fibrilace síní, ICHDK), z velké části i jaterní, renální nedostatečnost a Alzheimerovu či Parkinsonovu demenci. V subendokardiální tkáni ve skupině B se nacházely nižší hladiny C12, SA, LA, MA, DGLA, AA a hodnot tSFA,  $\omega$ -6 a velmi nízká hodnota poměru AA/EPA. Naopak vyšší byly hodnoty PAO, OA, GLA, ALA, EPA a hodnot tMUFA,  $\omega$ -3,  $\Delta$ -5 a  $\Delta$ -9 (v porovnání se skupinou A, nejedná se o statisticky významné rozdíly). V mozkové tkáni se nacházely nižší hladiny C14, PA, OA, LA, DGLA, AA, tMUFA,  $\omega$ -6, AA/EPA a  $\Delta$ -9. Naopak vyšší hodnoty byly u C12, SA, GLA, ALA, MA, EPA, DHA,  $\omega$ -3 a  $\Delta$ -5 (v porovnání se skupinou A, nejedná se o statisticky významné rozdíly).

Stanovení obsahu jednotlivých mastných kyselin ve tkáních se zakládala na statistickém zpracování. Nelze ale vyvodit žádné určité závěry z důvodu velikosti a nesourodosti našich vzorků. V jednotlivých skupinách (A a B) se také nacházela proměnlivost ve vztahu k příjmu mastných kyselin, ve stravovacích návycích nebo v probíhajícím zánětlivému procesu (skupina B).

I přesto jsme touto metodou úspěšně stanovili spektrum mastných kyselin ve všech vzorcích, ale jelikož je toto téma stále velmi málo probádané, nelze z našich

zjištění vyvodit jasné závěry. Výzkum v oblasti stavu zásob mastných kyselin v lidském organismu, příjmu mastných kyselin a vztahu k jejich ukládání je zatím na začátku a není možné naše výsledky z dostupných zdrojů porovnat, popřípadě se jednotlivá tvrzení o PUFA a jejich množství v lidském organismu rozcházejí.

Námi vybraná tematika zatím přináší více otázek než odpovědí a může tedy poukázat na potřebu dalšího zkoumání. Upozorňuje také na potřebu konzumace přiměřeného množství PUFA v potravě u celé populace a klade důraz na doplňování zásob PUFA speciálně pro dlouhodobě nemocné pacienty. Metoda stanovení mastných kyselin, kterou jsme použili je pouze pro výzkumné účely s ohledem na skutečnost, že je možné ji provádět pouze u zemřelých osob. U žijících pacientů se k odběrů tkání používají pouze invazivní zákroky, například biopsie a odběr krve.

## 6. Závěr

Cílem diplomové práce bylo především stanovit zastoupení jednotlivých mastných kyselin v tkáních. Stanovená spektra statisticky porovnat a zjistit, zda se jednotlivý obsah mastných kyselin liší ve skupině náhle zemřelých, jinak zdravích jedinců a ve skupině polymorbidních, dlouhodobě nemocných pacientů. Spektrum mastných kyselin jsme analyzovali metodou plynové chromatografie s plamenově ionizační detekcí. Zpracovány byly data ze sedmi druhů tkání: subendokardiální tkáň z levé komory, tkáň z parenchymu jater, korová část ledvin, tkáň nadledviny, kosterní sval – biceps pravé ruky, břišní podkožní tuková tkáň a mozková tkáň – kůra z frontálního laloku.

V diplomové práci jsme popsali a zhodnotili získané výsledky a naznačili možné souvislosti zásob PUFA v organismu se zánětlivým procesem v dílčích tkáních. Naše studie potvrdila přítomnost nízkých hladin  $\omega$ -6 PUFA u chronicky nemocných pacientů z důvodu vyčerpání  $\omega$ -6 PUFA na tvorbu prozánětlivých mediátorů. V dalších kategoriích jsme se omezili pouze na popisné zhodnocení výsledků. Z důvodu omezené dostupnosti literatury a studií na danou problematiku je nutné k jednoznačným závěrům přinést další vědecké důkazy.

## Seznam tabulek

Tabulka 1 Přehled mastných kyselin .....	14
Tabulka 2 Srovnání účinků EPA a DHA .....	27
Tabulka 3 Relativní podíl různých tkání na RMR u dospělého člověka s normální tělesnou hmotností .....	32
Tabulka 4 Mini-Mental State Examination .....	35
Tabulka 5 Seznam odebíraných vzorků .....	44
Tabulka 6 Charakteristika skupiny A .....	45
Tabulka 7 Charakteristika skupiny B .....	46
Tabulka 8 <b>Kyselina laurová</b> – deskriptivní statistika .....	53
Tabulka 9 Statisticky významné rozdíly – kyselina laurová .....	54
Tabulka 10 <b>Kyselina myristová</b> – deskriptivní statistika .....	55
Tabulka 11 Statisticky významné rozdíly – kyselina myristová .....	56
Tabulka 12 <b>Kyselina palmitová</b> – deskriptivní statistika .....	57
Tabulka 13 Statisticky významné rozdíly – kyselina palmitová .....	58
Tabulka 14 <b>Kyselina palmitoolejová</b> – deskriptivní statistika .....	59
Tabulka 15 Statisticky významné rozdíly – kyselina palmitoolejová .....	60
Tabulka 16 <b>Kyselina stearová</b> – deskriptivní statistika .....	61
Tabulka 17 Statisticky významné rozdíly – kyselina stearová .....	62
Tabulka 18 <b>Kyselina olejová</b> – deskriptivní statistika .....	63
Tabulka 19 Statisticky významné rozdíly – kyselina olejová .....	64
Tabulka 20 <b>Kyselina linolová</b> – deskriptivní statistika .....	65
Tabulka 21 Statisticky významné rozdíly – kyselina linolová .....	66
Tabulka 22 <b>Kyselina <math>\gamma</math>-linolenová</b> – deskriptivní statistika .....	67
Tabulka 23 Statisticky významné rozdíly – $\gamma$ -linolenová .....	68
Tabulka 24 <b>Kyselina <math>\alpha</math>-linolenová</b> – deskriptivní statistika .....	69
Tabulka 25 Statisticky významné rozdíly – kyselina $\alpha$ -linolenová .....	70
Tabulka 26 <b>Kyselina meadová</b> – deskriptivní statistika .....	71
Tabulka 27 Statisticky významné rozdíly – kyselina meadová .....	72
Tabulka 28 <b>Kyselina dihomu-<math>\gamma</math>-linolenová</b> – deskriptivní statistika .....	73

Tabulka 29 Statisticky významné rozdíly – kyselina dihomo- $\gamma$ -linolenová.....	74
Tabulka 30 <b>Kyselina arachidonová</b> – deskriptivní statistika .....	75
Tabulka 31 Statisticky významné rozdíly – kyselina arachodinová.....	76
Tabulka 32 <b>Kyselina eikosapentaenová</b> – deskriptivní statistika.....	77
Tabulka 33 Statisticky významné rozdíly – kyselina eikosapentaenová .....	78
Tabulka 34 <b>Kyselina dokosahexaenová</b> – deskriptivní statistika .....	79
Tabulka 35 Statisticky významné rozdíly – kyselina dokosahexaenová.....	80
Tabulka 36 <b>tSFA [%]</b> – deskriptivní statistika.....	81
Tabulka 37 Statisticky významné rozdíly – tSFA [%] .....	82
Tabulka 38 <b>tMUFA [%]</b> – deskriptivní statistika.....	83
Tabulka 39 Statisticky významné rozdíly – tMUFA [%] .....	84
Tabulka 40 <b><math>\omega</math>-6 PUFA [%]</b> – deskriptivní statistika .....	85
Tabulka 41 Statisticky významné rozdíly – $\omega$ -6 PUFA [%] .....	86
Tabulka 42 <b><math>\omega</math>-3 PUFA [%]</b> – deskriptivní statistika .....	87
Tabulka 43 Statisticky významné rozdíly – $\omega$ -3 PUFA [%] .....	88
Tabulka 44 <b><math>\Delta</math>-9</b> – deskriptivní statistika.....	89
Tabulka 45 Statisticky významné rozdíly – $\Delta$ -9 .....	90
Tabulka 46 <b>AA/EPA</b> – deskriptivní statistika .....	91
Tabulka 47 Statisticky významné rozdíly – AA/EPA .....	92
Tabulka 48 <b><math>\Delta</math>-5</b> – deskriptivní statistika.....	93
Tabulka 49 Statisticky významné rozdíly – $\Delta$ -5 .....	94
Tabulka 50 Shrnutí statisticky významných rozdílů .....	95

## Seznam obrázků

Obrázek 1 Zkrácený zápis mastných kyselin .....	15
Obrázek 2 Schématické znázornění role CD36 .....	22
Obrázek 3 Klasifikace mastných kyselin s dlouhým řetězcem .....	24
Obrázek 4 Strukturní znázornění $\omega$ -3 PUFA .....	25
Obrázek 5 Strukturní znázornění kyseliny linolové .....	28
Obrázek 6 Biosyntéza PUFA.....	30
Obrázek 7 Standard mastných kyselin pro analýzu .....	49
Obrázek 8 <b>Kyselina laurová</b> – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních .....	53
Obrázek 9 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – kyselina laurová .....	54
Obrázek 10 <b>Kyselina myristová</b> – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních .....	55
Obrázek 11 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – kyselina myristová ....	56
Obrázek 12 <b>Kyselina palmitová</b> – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních .....	57
Obrázek 13 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – kyselina palmitová ....	58
Obrázek 14 <b>Kyselina palmitoolejová</b> – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních ...	59
Obrázek 15 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly - kyselina palmitoolejová	60
Obrázek 16 <b>Kyselina stearová</b> – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních .....	61
Obrázek 17 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – kyselina stearová .....	62
Obrázek 18 <b>Kyselina olejová</b> – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních .....	63
Obrázek 19 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – kyselina olejová .....	64
Obrázek 20 <b>Kyselina linolová</b> – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních .....	65
Obrázek 21 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – kyselina linolová.....	66
Obrázek 22 <b>Kyselina <math>\gamma</math>-linolenová</b> – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních .....	67
Obrázek 23 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – kyselina $\gamma$ -linolenová.	68
Obrázek 24 <b>Kyselina <math>\alpha</math>-linolenová</b> – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních .....	69
Obrázek 25 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – kyselina $\alpha$ -linolenová	70
Obrázek 26 <b>Kyselina meadová</b> – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních .....	71
Obrázek 27 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – kyselina meadová .....	72
Obrázek 28 <b>Kyselina dihomu-<math>\gamma</math>-linolenová</b> – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních .....	73



Obrázek 29 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly –DGLA .....	74
Obrázek 30 <b>Kyselina arachidonová</b> – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních .....	75
Obrázek 31 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – AA.....	76
Obrázek 32 <b>Kyselina eikosapentaenová</b> průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních	77
Obrázek 33 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – EPA .....	78
Obrázek 34 <b>Kyselina dokosahexaenová</b> průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních.	79
Obrázek 35 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – DHA .....	80
Obrázek 36 <b>tSFA [%]</b> - průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních .....	81
Obrázek 37 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – tSFA [%] .....	82
Obrázek 38 <b>tMUFA [%]</b> – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních.....	83
Obrázek 39 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – tMUFA [%] .....	84
Obrázek 40 <b><math>\omega</math>-6 PUFA [%]</b> – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních .....	85
Obrázek 41 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – $\omega$ -6 PUFA [%] .....	86
Obrázek 42 <b><math>\omega</math>-3 PUFA [%]</b> – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních .....	87
Obrázek 43 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – $\omega$ -3 PUFA [%].....	88
Obrázek 44 <b><math>\Delta</math>-9</b> - průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních .....	89
Obrázek 45 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – $\Delta$ -9 .....	90
Obrázek 46 <b>AA/EPA</b> – průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních .....	91
Obrázek 47 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – AA/EPA .....	92
Obrázek 48 <b><math>\Delta</math>-5</b> - průměrné zastoupení v jednotlivých tkáních .....	93
Obrázek 49 Graficky znázorněné statisticky významné rozdíly – $\Delta$ -5 .....	94

## Seznam literatury

- Barton, G. M. (2008). A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. *Journal of Clinical Investigation*, 118(2), 413–420.
- Bouwens, M., van de Rest, O., Dellschaft, N., Bromhaar, M. G., de Groot, L. C., Geleijnse, J. M., ... Afman, L. A. (2009). Fish-oil supplementation induces antiinflammatory gene expression profiles in human blood mononuclear cells. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 90(2), 415–424.
- Čabala, R. (2015). Plynová chromatografie, 1–16. Dostupné z: <<http://old.vscht.cz/anl/lach2/GC.pdf>> [cit.2019-04-05]
- Carrillo, C., Cavia, M. . del M., & Alonso-Torre, S. R. (2012). Antitumor effect of oleic acid; mechanisms of action: A review. *Nutrición Hospitalaria*, 27(6), 1860–1865.
- Chilton, F. H., Dutta, R., Reynolds, L. M., Sergeant, S., Mathias, R. A., & Seeds, M. C. (2017). Precision nutrition and omega-3 polyunsaturated fatty acids: A case for personalized supplementation approaches for the prevention and management of human diseases. *Nutrients*, 9(11), 1–26.
- Cordain, L., Eaton, S. B., Sebastian, A., Mann, N., Lindeberg, S., Watkins, B. A., ... Brand-Miller, J. (2005). Origins and evolution of the Western diet: health implications for the 21st century. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(2), 341–354.
- Curioni, C. C., Alves, N. N. R., & Zago, L. (2019). Omega-3 supplementation in the treatment of overweight and obese children and adolescents: A systematic review. *Journal of Functional Foods*, 52(November 2018), 340–347.
- de Vries, E. F. J. (2006). Imaging of cyclooxygenase-2 (COX-2) expression: Potential use in diagnosis and drug evaluation. *Current Pharmaceutical Design*, 12(30), 3847–3856.
- Dlouhý, M. P., Ph, D., & Anděl, M. (2009). Jak se mění pohled na tuky ve výživě. *Interní Medicína pro Praxi*, 11(12), 549–551.
- Domenichiello, A. F., Kitson, A. P., & Bazinet, R. P. (2015). Is docosahexaenoic acid synthesis from  $\alpha$ -linolenic acid sufficient to supply the adult brain? *Progress in Lipid Research*, 59, 54–66.
- Dunstan, J. A., Simmer, K., Dixon, G., & Prescott, S. L. (2008). Cognitive assessment of children at age 2(1/2) years after maternal fish oil supplementation in pregnancy: a randomised controlled trial. *Archives of Disease in Childhood. Fetal and Neonatal Edition*, 93(1), F45-50.
- Ebrahimi, M., Ghayour-Mobarhan, M., Rezaiean, S., Hoseini, M., Parizade, S. M. R., Farhoudi, F., ... Ferns, G. A. A. (2009). Omega-3 fatty acid supplements improve the cardiovascular risk profile of subjects with metabolic syndrome, including markers of inflammation and auto-immunity. *Acta Cardiologica*, 64(3), 321–327.

- EFSA Journal. (2012). Scientific Opinion on the Tolerable Upper Intake Level of eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA) and docosapentaenoic acid (DPA). *EFSA Journal*, 10(7).
- Emerging Risk Factors Collaboration, T. E. R. F., Di Angelantonio, E., Sarwar, N., Perry, P., Kaptoge, S., Ray, K. K., ... Danesh, J. (2009). Major lipids, apolipoproteins, and risk of vascular disease. *JAMA*, 302(18), 1993–2000.
- Frej, D. (2015). *Zánět: skrytý zabiják : příčiny, léčba, prevence*. Praha: Eminent.
- Freund-Levi, Y., Eriksdotter-Jönhagen, M., Cederholm, T., Basun, H., Faxén-Irving, G., Garlind, A., ... Palmblad, J. (2006).  $\omega$ -3 Fatty Acid Treatment in 174 Patients With Mild to Moderate Alzheimer Disease: OmegaAD Study. *Archives of Neurology*, 63(10), 1402.
- Gajos, G., Rostoff, P., Undas, A., & Piwowarska, W. (2010). Effects of Polyunsaturated Omega-3 Fatty Acids on Responsiveness to Dual Antiplatelet Therapy in Patients Undergoing Percutaneous Coronary Intervention: The OMEGA-PCI (OMEGA-3 Fatty Acids After PCI to Modify Responsiveness to Dual Antiplatelet Therapy) Study. *Journal of the American College of Cardiology*, 55(16), 1671–1678.
- Galán-Arriero, I., Serrano-Muñoz, D., Gómez-Soriano, J., Goicoechea, C., Taylor, J., Velasco, A., & Ávila-Martín, G. (2017). The role of Omega-3 and Omega-9 fatty acids for the treatment of neuropathic pain after neurotrauma. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1859(9), 1629–1635.
- Glatz, J. F. C., & Luiken, J. J. F. P. (2015). Fatty acids in cell signaling: Historical perspective and future outlook. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 92, 57–62.
- Glatz, J. F. C., & Luiken, J. J. F. P. (2017). From fat to FAT (CD36/SR-B2): Understanding the regulation of cellular fatty acid uptake. *Biochimie*, 136, 21–26.
- Glatz, J. F. C., Luiken, J. J. F. P., & Bonen, A. (2010). Membrane Fatty Acid Transporters as Regulators of Lipid Metabolism: Implications for Metabolic Disease. *Physiological Reviews*, 90(1), 367–417.
- Goyens, P. L. L., Spilker, M. E., Zock, P. L., Katan, M. B., & Mensink, R. P. (2005). Compartmental modeling to quantify  $\alpha$ -linolenic acid conversion after longer term intake of multiple tracer boluses. *Journal of Lipid Research*, 46(7), 1474–1483.
- Gu, Y., Nieves, J. W., Stern, Y., Luchsinger, J. A., & Scarmeas, N. (2010). Food combination and Alzheimer disease risk: a protective diet. *Archives of Neurology*, 67(6), 699–706.
- Hainer, V. (2011). *Základy klinické obezitologie. 2., přeprac. a dopl. vy.* Praha: Grada.
- Heinrich, K. (2015). *Výživa v medicíně a dietetika*. Praha: Grada.

- Holeček, M. (2016). *Regulace metabolismu základních živin u člověka*. Praha, Univerzita Karlova v Praze: nakladatelství Karolinum.
- Hussein, N., Ah-Sing, E., Wilkinson, P., Leach, C., Griffin, B. A., & Millward, D. J. (2005). Long-chain conversion of [<sup>13</sup>C]linoleic acid and α-linolenic acid in response to marked changes in their dietary intake in men. *Journal of Lipid Research*, 46(2), 269–280.
- Janssen, C. I. F., & Kiliaan, A. J. (2014). Long-chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFA) from genesis to senescence: The influence of LCPUFA on neural development, aging, and neurodegeneration. *Progress in Lipid Research*, 53, 1–17.
- Jiráček, R., & Zeman, M. (2007). Vliv omega-3 a omega-6 nenasycených mastných kyselin na psychické poruchy. *Ceska a Slovenska Psychiatrie*, 103(8), 420–426.
- Judge, M. P., Harel, O., & Lammi-Keefe, C. J. (2007). *Maternal consumption of a docosahexaenoic acid-containing functional food during pregnancy: benefit for infant performance on problem-solving but not on recognition memory tasks at age 9 mo 1-3*.
- Kelley, D. S., Siegel, D., Fedor, D. M., Adkins, Y., & Mackey, B. E. (2009). DHA supplementation decreases serum C-reactive protein and other markers of inflammation in hypertriglyceridemic men. *The Journal of Nutrition*, 139(3), 495–501.
- Kodíček, M., Valentová, O., & Hynek, R. (2018). *Biochemie: chemický pohled na biologický svět. 2. přepracované vydání*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze.
- Komprda, T. (2009). *Výživou ke zdraví*. Velké Bílovice: TeMi CZ.
- Kontrová, K., & Zídková, J. (2006). ROLE PROTEINU CD36 JAKO VÝZNAMNÉHO RIZIKOVÉHO FAKTORU KARDIOVASKULÁRNÍCH ONEMOCNĚNÍ. *Chemické Listy* 100, 23.
- Koolman, J., & Röhm, K.-H. (2012). *Barevný atlas biochemie. Ilustroval Jürgen WIRTH, přeložil Vladimír BENDA, přeložil Martin VEJRAŽKA*. Praha: Grada Publishing.
- Kuda, O., Rossmeisl, M., & Kopecky, J. (2018). Omega-3 fatty acids and adipose tissue biology. *Molecular Aspects of Medicine*, 64, 147–160.
- Kudo, I., & Murakami, M. (2002). Phospholipase A2 enzymes. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 68–69, 3–58.
- Ledvina, M., Stoklasová, A., & Cerman, J. (2009). *Biochemie pro studující medicíny. Vyd.2. V Praze: Karolinum, 2009*.
- Lev, E. I., Solodky, A., Harel, N., Mager, A., Brosh, D., Assali, A., ... Kornowski, R. (2010). Treatment of Aspirin-Resistant Patients With Omega-3 Fatty Acids Versus Aspirin Dose Escalation. *Journal of the American College of Cardiology*, 55(2), 114–121.

- Lincová, D., & Farghali, H. (2007). *Základní a aplikovaná farmakologie* (2., ). Praha: Galén.
- Literák, J., & Chromatografie, P. (n.d.). *Úvod GC Detektory Analýza Inv. chromatografie 2D-GC Derivatizace Plynová chromatografie C5060 Metody chemického výzkumu*. Dostupné z:< <https://is.muni.cz/el/1431/podzim2016/C5060/um/prezentace.pdf>> [cit. 2019-04-05]
- Lordan, R., Tsoupras, A., & Zabetakis, I. (2017). Phospholipids of Animal and Marine Origin: Structure, Function, and Anti-Inflammatory Properties. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 22(11).
- Lüllman, H., Mohr, K., & Hein, L. (2012). *Barevný atlas farmakologie* (Vyd.4.). Praha: Grada.
- Marádová, E. (2015). *Výživa a hygiena ve stravovacích službách* (Vydání čtv). Praha: Vysoká škola hotelová v Praze 8.
- Martin, S. A., Brash, A. R., & Murphy, R. C. (2016). The discovery and early structural studies of arachidonic acid. *Journal of Lipid Research*, 57(7), 1126–1132.
- Martínková, J. (2007). *Farmakologie pro studenty zdravotnických oborů*. Praha: Grada.
- Medzhitov, R. (2008a). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature* 2008 454:7203.
- Medzhitov, R. (2008b). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454(7203), 428–435.
- Murray, R. (2012). *Harperova ilustrovaná biochemie*. Praha: Galén.
- Nathan, C. (2002). Points of control in inflammation. *Nature*, 420(6917), 846–852.
- Nathan, C. (2006). Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. *Nature Reviews Immunology*, 6(3), 173–182.
- Novotný, D., Vaverková, H., Karásek, D., & Halenka, M. (2008). Adiponectin - A parameter with anti-inflammatory and anti-atherogenic potentials | Adiponektin - Parametr s protizánětlivým a protiaterogenním potenciálem. *Klinická Biochemie a Metabolismus*, 16(3), 171–177.
- Olsen, S. F., Østerdal, M. L., Salvig, J. D., Mortensen, L. M., Rytter, D., Secher, N. J., & Henriksen, T. B. (2008). Fish oil intake compared with olive oil intake in late pregnancy and asthma in the offspring: 16 y of registry-based follow-up from a randomized controlled trial. *American Journal of Clinical Nutrition*, 88(1), 167–175.
- Ramakrishnan, U., Stein, A. D., Parra-Cabrera, S., Wang, M., Imhoff-Kunsch, B., Juárez-Márquez, S., ... Martorell, R. (2010). Effects of docosahexaenoic acid supplementation during pregnancy on gestational age and size at birth: Randomized, double-blind, placebo-controlled trial in Mexico. *Food and Nutrition Bulletin*, 31(2 SUPPL.), 108–116.

- Saini, R. K., & Keum, Y. S. (2018). Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: Dietary sources, metabolism, and significance — A review. *Life Sciences*, 203(January), 255–267.
- Serhan, C. N., & Savill, J. (2005). Resolution of inflammation: the beginning programs the end. *Nature Immunology*, 6(12), 1191–1197.
- Simopoulos, A. P. (2011). Evolutionary Aspects of Diet: The Omega-6/Omega-3 Ratio and the Brain. *Molecular Neurobiology*, 44(2), 203–215.
- Sklenářová, H. (n.d.). *SEPARAČNÍ ANALYTICKÉ METODY-PLYNOVÁ CHROMATOGRRAFIE GC-plynová chromatografie Přístrojové vybavení*. Dostupné z: <[https://dl1.cuni.cz/pluginfile.php/250874/mod\\_resource/content/3/GC.pdf](https://dl1.cuni.cz/pluginfile.php/250874/mod_resource/content/3/GC.pdf)> [cit. 2019-04-05]
- Sokoła-Wysoczańska, E., Wysoczański, T., Wagner, J., Czyż, K., Bodkowski, R., Lochyński, S., & Patkowska-Sokoła, B. (2018). Polyunsaturated Fatty Acids and Their Potential Therapeutic Role in Cardiovascular System Disorders-A Review. *Nutrients*, 10(10).
- Štěpánková Hana. (2014). Mini-Mental State Examination – česká normativní studie | Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie. Dostupné z: <<http://www.csnn.eu/ceska-slovenska-neurologie-clanek/mini-mental-state-examination-ceska-normativni-studie-50969>> [cit. 2019-04-05]
- Swanson, D., Block, R., & Mousa, S. A. (2012). Omega-3 Fatty Acids EPA and DHA : Health. *An International Rrview Journal*, 1–7.
- Tully, A. M., Roche, H. M., Doyle, R., Fallon, C., Bruce, I., Lawlor, B., ... Gibney, M. J. (2003). Low serum cholesteryl ester-docosahexaenoic acid levels in Alzheimer's disease: a case–control study. *British Journal of Nutrition*, 89(04), 483.
- Veselý, J. (2012). Téma: Patofyziologická a klinická charakteristika SIRS a MODS « Tvorba a ověření e-learningového prostředí pro integraci výuky preklinických a klinických předmětů na LF a FZV UP Olomouc. Dostupné z: <<http://pfyziolklin.upol.cz/?p=2367>> [cit. 2018-12-17]
- Vrablík, M. (2007). OMEGA-3 MASTNÉ KYSELINY. *Interní Medicína*, 9(17), 262–264.
- Wang, D. D. (2018). Dietary n-6 polyunsaturated fatty acids and cardiovascular disease: Epidemiologic evidence. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 135(May), 5–9.
- Wilhelm, Z. (2013). Mastné kyseliny  $\omega$ -3 ; od teorie po klinickou praxi, 10(2), 72–76.
- Wilkins E., Wilson I., Wickramasinghe K., Bhatnagar P., Leal J., Luengo-Fernandez R., ... Townsend N. (2017). European Cardiovascular Disease Statistics 2017 edition. *European Heart Network, Brussels*, 192.
- Zachář, P., & Sýkora, D. (n.d.). *PLYNOVÁ CHROMATOGRRAFIE*. Dostupné z: <<http://old.vscht.cz/anl/lach2/GC.pdf>> [cit: 2019-04-05]

Zadák, Z. (2008). *Výživa v intenzivní péči. 2., rozš. a aktualiz. vyd. Praha: Galén.*

Zlobine, I., Gopal, K., & Ussher, J. R. (2016). Lipotoxicity in obesity and diabetes-related cardiac dysfunction. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1861(10), 1555–1568.