Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

LDL lipoproteiny

Kristýna Koucká

Bakalářská práce

2019

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2017/2018

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení:	**Kristýna Koucká**
Osobní číslo:	**C15223**
Studijní program:	**B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor:	**Klinická biologie a chemie**
Název tématu:	**LDL lipoproteiny**
Zadávající katedra:	**Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování:

Seznamte se s metabolizmem, detailním složením a funkcemi LDL lipoproteinů v lidském organizmu, s možnostmi jejich modifikace a následně změněným metabolizmem, s možným zapojením v patogenetických procesech, především ve vztahu k ateroskleróze a diabetu mellitu. Proveďte literární rešerši k této problematice, při vyhledávání literárních údajů využijte databázi MEDLINE.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce

Vedoucí bakalářské práce: **MUDr. Vladimíra Nováková Mužáková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **27. listopadu 2017**

Termín odevzdání bakalářské práce: **4. července 2018**

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.

prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2018

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 3. 7. 2019 ……

Koucká Kristýna

Poděkování

Na tomto místě bych velice ráda poděkovala své vedoucí bakalářské práce MUDr. Vladimíře Novákové Mužákové, PhD za cenné rady, připomínky, trpělivost a ochotný přístup při konzultacích. Dále bych chtěla poděkovat své rodině, přátelům a příteli Filipovi za jejich podporu po celou dobu studia.

ANOTACE

LDL lipoproteiny jsou částice sloužící pro transport cholesterolu z jater do tkání. Obsahují ve své struktuře apoprotein B-100, triacylglyceroly, estery cholesterolu, cholesterol, fosfolipidy a řadu dalších látek jako jsou ceramidy, sfingomyelin, glykosfingolipidy a sfingosin-1-fosfát. Lipidové i proteinové části LDL mohou být modifikovány, a to především oxidací nebo glykací. Takto pozměněné se podílejí na patogenezi řady onemocnění, a to především tvorbou pěnových buněk a jejich akumulací ve stěnách arterií.

KLÍČOVÁ SLOVA

LDL, lipoproteiny, ateroskleróza, diabetes mellitus

TITLE

LDL lipoproteins

ANNOTATION

LDL is a type of lipoprotein which supplies tissues with cholesterol. LDL molecule contains apoprotein B-100, triacyglycerols, cholesterol esters, cholesterol, phospholipids and many other substances like ceramides, sphingomyelin, glycosphingolipids and sphingosine-1-phosphate. Both lipid and protein parts may be modified, especially by oxidation and glycation. Modified LDL are involved in pathogenesis of number of diseases, mainly by formation of foam cells and their accumulation in the artery walls.

KEYWORDS

LDL, lipoproteins, atherosclerosis, diabetes mellitus

OBSAH

ÚVOD 13

1. LIPOPROTEINY 14

1.1 Dělení lipoproteinů 15

2. LDL 16

2.1 Složení LDL 16

2.1.1 Apoprotein B-100 17

2.1.2 Sfingolipidy 17

2.1.2.1 Ceramidy 18

2.1.2.1 Sfingomyelin 19

2.1.2.2 Glykosfingolipidy 19

2.1.2.3 Sfingosin-1-fosfát 20

2.2 Metabolismus lipoproteinů 20

2.2.1 Chylomikrony 20

2.2.2 VLDL 21

2.2.3 LDL 21

2.3 Vznik LDL podtříd 22

2.4 Typy LDL 23

2.4.1 LDL I 24

2.4.2 LDL II 24

2.4.3 LDL III 24

2.4.4 LDL IV 24

2.4.5 Lipoprotein (a) 25

2.4.6 Elektronegativní LDL 26

2.5 LDL receptory 26

2.6 Scavenger receptory 26

2.6.1 Scavenger receptory typu A 27

2.6.2 Scavenger receptory typu B 28

2.6.3 Scavenger receptory typu C 28

2.6.4 Scavenger receptory typu D 28

2.6.5 Scavenger receptory typu E 29

2.6.6 Scavenger receptory typu F 29
2.6.7 Toll-like receptory 29
2.7 Modifikace LDL 29
2.7.1 Oxidované LDL 30
2.7.2 Malondialdehydové LDL 31
2.7.3 Glykované LDL 32
2.7.4 Karbamylované LDL 32
2.7.5 Desialylované LDL 33
3. VLIV LDL V ATEROSKLEÓZE 35
3.1 VLIV OXIDOVANÉHO LDL 36
4. VLIV LDL V DIABETES MELLITUS 37
ZÁVĚR 40
SEZNAM LITERATURY 41

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek č. 1 Struktura LDL lipoproteinu (Zhong, 2019) 14
Obrázek č. 2 Syntéza ceramidu a sfingomyelinu ze sfingeninu (Murray, 2002) 18
Obrázek č. 3 Metabolismus chylomikronů (Murray, 2002) 21
Obrázek č. 4 Metabolismus VLDL a vznik LDL (Murray, 2002) 22
Obrázek č. 5 Cesty vzniku různých typů LDL (Ivanova, 2017) 24
Obrázek č. 6 Scavenger receptory (Prabhudas, 2017) 27
Obrázek č. 7 OxLDL a jejich vliv na vznik aterosklerózy (Maiolino, 2013) 36
Obrázek č. 8 Schéma znázorňující patologické události spojené s ceramidy (Iqbal, 2017) 38

SEZNAM TABULEK

Tabulka č. 1 Složení, původ a procentuální zastoupení látek v jednotlivých typech lipoproteinů (Murray, 2002) 15

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

ACAT	acyl-CoA cholesterolacyltransferáza
AGEs	konečné produkty glykace
apo (a)	apoprotein (a)
apo A-I	apoprotein A-I
apo B-100	apoprotein B-100
bFGF	bazický fibroblastový růstový faktor
CD87	urokinázový receptor
CE	esterifikovaný cholesterol
CETP	cholesterol transfer protein
CRP	C-reaktivní protein
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EC	endotelové buňky
ELISA	enzymově značený imunotest
FFA	volné mastné kyseliny
G-CSF	růstový faktor pro granulocytární řadu leukocytů
HA	kyselina hyaluronová
HDL	lipoprotein o vysoké hustotě
HL	jaterní lipáza
HMG-CoA reduktáza	3-hydroxy-3-methylglutaryl-koenzymA reduktáza
HOCl	kyselina chlorná
HOSCN	kyselina hypothiokyanová
HSL	hormon senzitivní lipáza
HSP	proteiny teplotního šoku
CH	volný cholesterol
ICAM-1	intercelulární adhezivní molekuly
IDL	lipoprotein o střední hustotě
IgG	imunoglobulin G
ICHS	ischemická choroba srdeční
IL-8	interleukin-8
IgM	imunoglobulin M
LDL	lipoprotein o nízké hustotě
LOX-1	lektin-like oxidovaný LDL receptor-1

Lp (a)	lipoprotein (a)
LPC	lysofosfatidylcholin
LPL	lipoproteinová lipáza
M-CSF	růstový faktor pro makrofágy
MCP-1	chemotaktický protein monocytů
MDA	malondialdehyd
MDA-LDL	malondialdehydované LDL
mmLDL	minimálně modifikované LDL
MMPs	matrixová metaloproteináza
mRNA	messengerová ribonukleová kyselina
MTP	mikrozomální triglyceridový transferový protein
NADPH	nikotinamiddinukleotid fosfát
NAFLD	nealkoholové ztučnění jater
NO	oxid dusnatý
NOS	syntáza oxidu dusnatého
oxLDL	oxidované LDL
PAI-I	inhibitor plazminogenového aktivátoru
PDGF	destičkový růstový faktor
PGE2	prostaglandin E2
PL	fosfolipidy
PLA2	fosfolipáza A2
RAGE	receptor pro konečné produkty glykace
ROS	reaktivní formy kyslíku
SM	sfingomyelin
SMC	buňky hladké svaloviny
SPT	palmitoyltransferáza
SR	*scavenger* receptor
SR – A4	*scavenger* receptor A4
SRCR	doména *scavenger* receptoru bohatá na cystein
TAG	triacyglyceroly
TMAO	trimethylamin N-oxid
TNF-α	tumor nekrotizující faktor-alfa
TLR	toll-like receptor
TLR2	toll-like receptor 2

TLR4	toll-like receptor 4
uPA	aktivátor urokinázového typu
VCAM-1	vaskulární adhezní molekula
VLDL	lipoprotein o velmi nízké hustotě

ÚVOD

Lipoproteiny hrají v lidské organizmu důležitou roli. Podílí se na přenosu lipidů z hepatocytů a enterocytů do tkání a z nich zpět do hepatocytů.

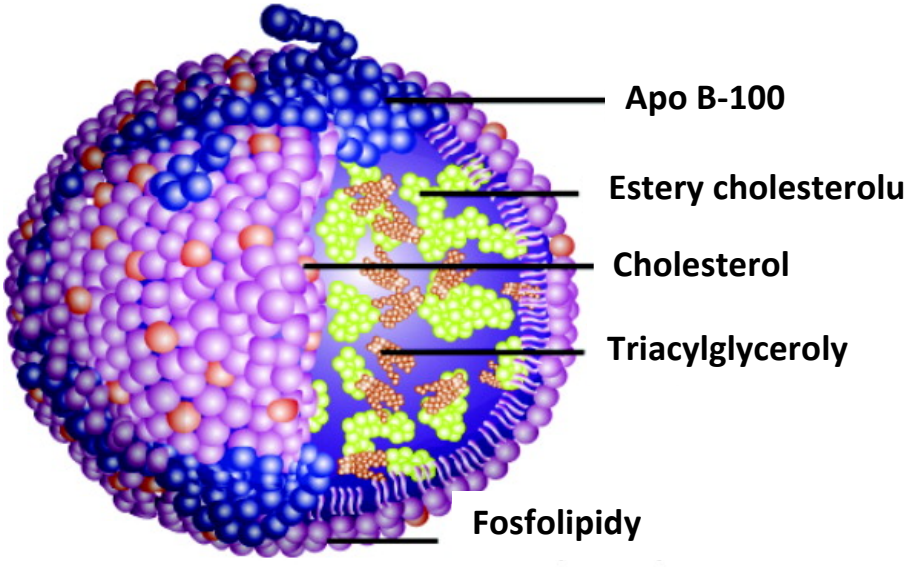
Rozlišujeme několik druhů lipoproteinů, dle velikosti a hustoty, na chylomikrony, lipoproteiny o velmi nízké hustotě, lipoproteiny o střední hustotě, lipoproteiny o nízké hustotě a lipoproteiny o vysoké hustotě. Zatímco lipoproteiny o vysoké hustotě mají funkci antioxidační a protizánětlivou, lipoproteiny o nízké hustotě jsou snadno oxidovatelné a podporují tvorbu zánětu v těle.

Lipoproteiny o nízké hustotě obsahují ve své struktuře fosfolipidy, triacylglyceroly, cholesterol, estery cholesterolu, apoprotein B-100 a další řadu látek jako jsou ceramidy, sfingomyelin, glykosfingolipidy a sfingosin-1-fosfát. LDL lipoproteiny jsou vychytávány pomocí specifických LDL receptorů, které se nachází na cytoplazmatické straně buněčné membrány. Tyto částice mohou být pozměněny několika mechanismy, především oxidací a glykací, kdy se modifikují lipidové i proteinové části. Modifikované LDL jsou vychytávány tzv. *scavenger* receptory, kdy dochází k ukládání cholesterolu v buňkách a vzniku pěnových buněk. LDL lipoproteiny představují hlavní riziko v rozvoji aterosklerózy, která může být i průvodním jevem diabetu mellitu.

1. LIPOPROTEINY

Lipidy mají v lidském organismu mnoho funkcí. Slouží jako zdroj energie díky vysokému energetickému obsahu, jsou součástí membrán a mají také termoregulační a mechanickou ochrannou funkci. Lipidy jsou v krevní plazmě transportovány ve formě lipoproteinů, jelikož jim jejich hydrofobní charakter neumožňuje vyskytovat se volně v hydrofilním prostředí (Trojan, 2003; Murray 2002).

Lipoproteiny jsou částice (viz obr. 1), jejichž povrch je tvořen hydrofilními fosfolipidy (PL), volným cholesterolem (CH) a v jádru obsahují hydrofobní esterifikovaný cholesterol (CE) a nepolární triacylglyceroly (TAG). Každá částice navíc obsahuje bílkovinnou složku, která zajišťuje strukturální funkci celého komplexu a umožňuje vazbu na lipoproteinové receptory (Pan, 2016). Tyto bílkovinné složky se nazývají apoproteiny a rozdělují se do několika tříd. Úkolem lipoproteinů je přenos lipidů z enterocytů a hepatocytů a transport cholesterolu do buněk periferních tkání (Murray, 2002). Ke kvantifikaci těchto částic se využívá nukleární magnetická rezonanční spektroskopie (Orekhov, 2014).



Obrázek č. 1 Struktura LDL lipoproteinu (Zhong, 2019)

1.1 Dělení lipoproteinů

Lipoproteiny dělíme dle jejich velikosti a hustoty na chylomikrony, VLDL (lipoproteiny o velmi nízké hustotě), IDL (lipoproteiny o střední hustotě), LDL (lipoproteiny o nízké hustotě) a HDL (lipoproteiny o vysoké hustotě). Z tabulky 1 je zřejmé, že největší lipoproteinovou částicí jsou chylomikrony, které mají zároveň nejmenší hustotu. Chylomikrony se tvoří z přijatých lipidů v enterocytech a obsahují velké množství triacylglycerolů. Naopak nejmenší částicí s největší hustotou jsou HDL, které jsou tvořeny hepatocyty, ale mohou být produkovány i enterocyty. HDL obsahují nejmenší podíl triacyglycerolů, jsou tvořeny převážně proteiny a fosfolipidy (Murray, 2002).

			Chylomikrony	VLDL	IDL	LDL	HDL
Zdroj			enterocyty	hepatocyty	z VLDL	z IDL	hepatocyty, enterocyty
Průměr (nm)			90–1000	30-90	25-30	20-25	7,5-20
Hustota (mg/l)			<0,95	0,95-1,006	1,006-1,019	1,019-1,063	1,063-1,21
Složení	**Protein (%)**		1-2	7-10	11	21	33
	Celkový lipid (%)		98-99	90-93	89	79	67
	Procenta celkového lipidu	**TAG**	88	56	29	13	16
		PL	8	20	26	28	43
		CE	3	15	34	48	31
		CH	1	8	9	10	10

Tabulka č. 1 Složení, původ a procentuální zastoupení látek v jednotlivých typech lipoproteinů (Murray, 2002)

2. LDL

LDL částice můžeme považovat za dynamický koncept, který musí reagovat na měnící se podmínky prostředí během výměny lipidů. Velikost lipoproteinů o nízké hustotě se obvykle pohybuje v rozmezí od 20 do 25 nm, ale existují i případy, kdy byly zaznamenány částice o velikosti větší než 30 nm. Jejich hustota se pohybuje od 1,019 do 1,063 mg/l a jejich vznik vychází z lipoproteinů o velmi nízké hustotě (VLDL). Pro jejich analýzu se používá gradientová gelová elektroforéza (Orekhov, 2014; Ivanova, 2017) nebo spektroskopická nukleární magnetická rezonance (Williams, 2014).

2.1 Složení LDL

Každá částice obsahuje molekulu apoproteinu B-100 (apo B-100), dalších 80-100 molekul sekundárních proteinů, přibližně 3000 molekul kyseliny linolové, v průměru 1500 molekul esterifikovaného a neesterifikovaného cholesterolu a různý počet triacylglycerolů a fosfolipidů složených hlavně z fosfatidylcholinu a sfingomyelinu. Apoprotein B-100 je v LDL částicích důležitý pro stabilizaci, udržování jejich struktury a vychytávání LDL lipoproteinů pomocí LDL receptorů.

Hydrofobní lipidové jádro tvoří estery cholesterolu a triacylglyceroly, což představuje více než 40 % hmotnosti částice. Jádro je obklopeno fosfolipidovou vrstvou, která odpovídá asi 20 % hmotnosti a volný cholesterol vklíněný do obalu představuje asi 15 % celkové hmotnosti částice.

Nedávné 3D snímky ukazují, že LDL mají tvar diskoidální částice se dvěma plochými povrchy na protilehlých koncích. Fosfolipidová vrstva je umístěná na plochých stranách, které leží paralelně s vrstvami esterů cholesterolu, zatímco apo B-100 obklopuje částici po stranách.

Fosfatidylcholin je v lipoproteinech nejčastěji zastoupeným fosfolipidem, jako druhý se objevuje sfingomyelin. Cholesterol interaguje s fosfatidylcholinem a sfingomyelinem.

Bylo prokázáno, že střevní mikroflóra metabolizuje fosfatidylcholin na cholin, trimethylamin N-oxid (TMAO) a betain na katabolity, které zvyšují riziko vzniku kardiovaskulárních onemocnění a aterosklerózy.

Při ateroskleróze a dalších zánětlivých stavech, prozánětlivé faktory stimulují sekreci Zn^{2+} dependentní sfingomyelinázy produkované endotelovými buňkami a makrofágy, které hydrolyzují LDL sfingomyelin na ceramid (Orekhov, 2014).

2.1.1 Apoprotein B-100

Apoprotein B-100 je glykoprotein obsahující 4536 aminokyselin, který slouží jako vazebný ligand pro LDL receptory (Khattari, 2017). Přibližně z 5 % je tvořen sacharidy jako je glukóza, galaktóza, glukosamin, manóza, fukóza a kyselina sialová. Je syntetizován na ribozomech drsného endoplazmatického retikula hepatocytů a v hladkém endoplazmatickém retikulu se integruje do lipoproteinů (Murray, 2002).

Má z 25 % strukturu α-helixu a přibližně z 50 % strukturu β-skládaného listu s pěti velkými lipidovými doménami.

Pro molekulu apo B-100 byla navržena struktura: NH_2-α_1-β_1-α_2-β_2-α_3-COOH, která ukazuje na přítomnost dvou amfipatických β-skládaných listů střídajících se se dvěma amfipatickými α-helixy a třetím N-terminálním amfipatickým α-helixem. Molekula apo B-100 představuje 25 % hmotnosti LDL částice (Orekhov, 2014).

K vychytávání LDL dochází tak, že se apo B-100 naváže na specifické LDL receptory na buněčném povrchu (Murray, 2002).

Apo B-100 může být pozměněn oxidací nebo glykací, přednostně je glykován v malých denzních LDL než ve velkých lehkých částicích (Ivanova, 2017).

Při vzácném onemocnění abetalipoproteinémie se apo B-100 nesyntetizuje a dochází k hromadění lipidových kapének v enterocytech a hepatocytech, jelikož nedochází k tvorbě lipoproteinů obsahujících daný apoprotein (Murray, 2002).

2.1.2 Sfingolipidy

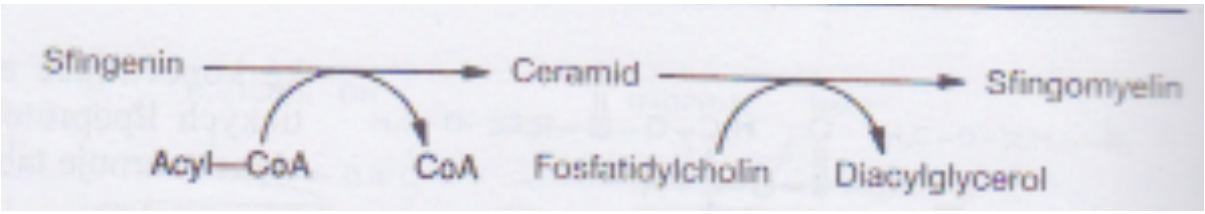
Sfingolipidy jsou molekuly, které mají různou strukturu i funkci. Tvoří strukturální lipidy, ale i signální molekuly. Buněčné a plazmatické koncentrace sfingolipidů se mění při několika metabolických poruchách a mohou sloužit jako prognostické nebo diagnostické markery kardiovaskulárních onemocnění či diabetu. Plasma obsahuje více než 200 druhů sfingolipidů. Sfingolipidy mohou být přeneseny z jednoho lipoproteinu do druhého. Komplexní sfingolipidy v lipoproteinech mohou být degradovány na jiné sfingolipidy nebo syntetizovány ze sfingolipidů přítomných v lipoproteinech. Některé genetické poruchy související s metabolismem sfingolipidů jsou spojeny se zvýšeným rizikem kardiovaskulárních a metabolických onemocnění (Iqbal, 2017).

2.1.2.1 *Ceramidy*

Ceramidy (N-acylsfingeniny) jsou komplexy sfingolipidů, které se nacházejí v lipoproteinech. Jsou syntetizovány v Golgiho aparátu ze sfingeninu pomocí acyl-CoA (viz obr. 2). Acylová skupina je tvořena nasycenými mastnými kyselinami s dlouhým řetězcem nebo monoenovými mastnými kyselinami (Murray, 2002). Tvoří 3 % plazmových sfingolipidů. Mají silnou biologickou aktivitu, hrají ústřední roli v buněčné stresové odpovědi, signalizaci zánětu a apoptóze.

V případě dyslipidémie nebo kalorického přebytku jsou ceramidy syntetizovány *de novo* z mastných kyselin (kyselina palmitová, stearová, lignocerová, nervonová) a akumulují se ve tkáních nevhodných pro ukládání tuků.

Zvýšený obsah ceramidů v LDL podporuje pronikání LDL do cévní stěny. Lipoproteiny uvnitř arteriálního plaku obsahují 50násobné množství ceramidů. Podílejí se na aktivaci destiček a dysfunkci endotelu prostřednictvím rozpojení drah oxidu dusnatého (NO) (Matsuzawa, 2014; Meeusen, 2017).



Obrázek č. 2 Syntéza ceramidu a sfingomyelinu ze sfingeninu (Murray, 2002)

Množství ceramidu v lipoproteinech negativně koreluje s obsahem sfingomyelinu. U lidí je VLDL a LDL výrazně obohaceno ceramidem a dihydroceramidem, zatímco HDL jich obsahuje jen malé množství. LDL obohacené o ceramid vykazují vysoce proaterogenní účinky, a tím zvyšují rychlost agregace LDL částic, indukují tvorbu pěnových buněk a zvyšují remodelaci arteriální matrix. Pokud dochází k větším přeměnám sfingomyelinu na ceramid, zvyšuje se tím i náchylnost LDL k oxidaci. Bylo zjištěno, že ceramid aktivuje reaktivní formy kyslíku (ROS), mitochondriální oxidační poškození a apoptózu v buňkách cév. Ceramid může zesílit zánět pomocí vlastních metabolitů, sfingosinu a sfingosin-1-fosfátu (Orekhov, 2014).

Bylo zjištěno, že pacienti s abetalipoproteinemií vykazují ve srovnání s rodiči a sourozenci o 80 % méně plazmatických ceramidů. U myší bez jaterního a střevního mikrozomálního triglyceridového transferového proteinu (MTP) bylo zjištěno snížení

plazmatických ceramidů o více než 90 %. MTP může hrát klíčovou roli v transportu ceramidů do plazmy.

Enterocyty a hepatocyty mohou syntetizovat ceramidy pro jejich dodávání do jiných tkání. Předpokládá se, že transport ceramidů prostřednictvím lipoproteinů může být parakrinní mechanismus pro regulaci jiných buněk. Zvýšené plazmatické hladiny ceramidu jsou spojeny se zvýšeným rizikem kardiovaskulárního onemocnění. Diabetičtí pacienti mají zvýšené plazmatické hladiny ceramidu, což přispívá k inzulínové rezistenci (Iqbal, 2017).

2.1.2.1 *Sfingomyelin*

Sfingomyelin je syntetizován v Golgiho aparátu z ceramidu a fosfatidylcholinu za vzniku diacylglycerolu (Murray, 2002). Tvoří přibližně 87 % z celkového množství plazmatických sfingolipidů, což představuje 15–20 % z celkového množství fosfolipidů. Přibližně 63–75 % sfingomyelinu je spojeno s VLDL a LDL.

U pacientů s abetalipoproteinemií bylo prokázáno snížení hladiny sfingomyelinu o 40 % oproti kontrolní skupině. Podobně jako u ceramidů, mikrozomální triglyceridový transferový protein přenáší sfingomyelin mezi váčky *in vitro*, což naznačuje, že MTP může přenášet sfingomyelin do VLDL během biogenze. Vyšší plazmatické hladiny sfingomyelinu jsou spojeny se zvýšeným rizikem aterosklerózy a hromaděním v aterosklerotických placích a byly navrženy jako nezávislé rizikové faktory pro koronární srdeční onemocnění.

Sfingomyelinázy mohou hydrolyzovat LDL sfingomyelin v arteriální stěně zvýšením LDL ceramidu a agregaci lipoproteinů, což vede k rozvoji aterosklerózy (Iqbal, 2017).

Při nepřítomnosti enzymu sfingomyelinázy dochází k Niemann-Pickově chorobě, která se projevuje zvětšenými játry, slezinou a mentální retardací (Murray, 2002).

2.1.2.2 *Glykosfingolipidy*

Glykosfingolipidy tvoří přibližně 9-10 % plazmových sfingolipidů. Nachází se na vnější straně plazmatické membrány a jsou součástí glykokalyxu povrchu buňky, kde slouží např. jako receptory pro toxiny bakterií nebo antigeny tvořící systém AB0 krevních skupin (Murray, 2002). V plazmě je více než 50 různých druhů komplexních glykosfingolipidů.

Nejvíce zastoupené jsou glukosylceramidy, které jsou distribuovány na VLDL (8-14 %), LDL (46-60 %) a HDL (28-44 %). Mezi dále rozšířené glykosfingolipidy patří galaktosylceramidy, které jsou hlavními lipidy v myelinu.

V případě nedostatku enzymu β-galaktozidázy dochází k mentální retardaci z důvodu nepřítomnosti myelinu a onemocnění se nazývá Krabbeho choroba (Murray, 2002).

Inhibice syntézy glykosfingolipidů snižuje jejich plazmatickou koncentraci, a tím dochází ke zlepšení projevů aterosklerózy. O původu glykosfingolipidů v lipoproteinech je toho však známo jen velmi málo. Na rozdíl od ceramidu či sfingomyelinu mikrozomální triglyceridový transferový protein nepřenáší glykosfingolipidy mezi vezikuly *in vitro*.

Nedostatek MTP u lidí a myší nemá žádný vliv na plazmatické koncentrace glukosylceramidu. Je pravděpodobné, že hlavním zdrojem glykosfingolipidů v plazmě jsou HDL nebo dosud neidentifikovaný protein nebo proteiny (Iqbal, 2017).

Pokud není v metabolické dráze glykosfingolipidů přítomen lysosomální enzym glukocerebrosidáza, nedochází ke štěpení glukosylceramidu na glukózu a ceramid, ale k hromadění glukosylceramidu v buňkách retikuloendoteliálního systému, toto onemocnění se nazývá Gaucherova choroba a dochází při ní ke zvětšení jater a sleziny, erozi dlouhých kostí a mentální retardaci u dětí (Murray, 2002).

2.1.2.3 *Sfingosin-1-fosfát*

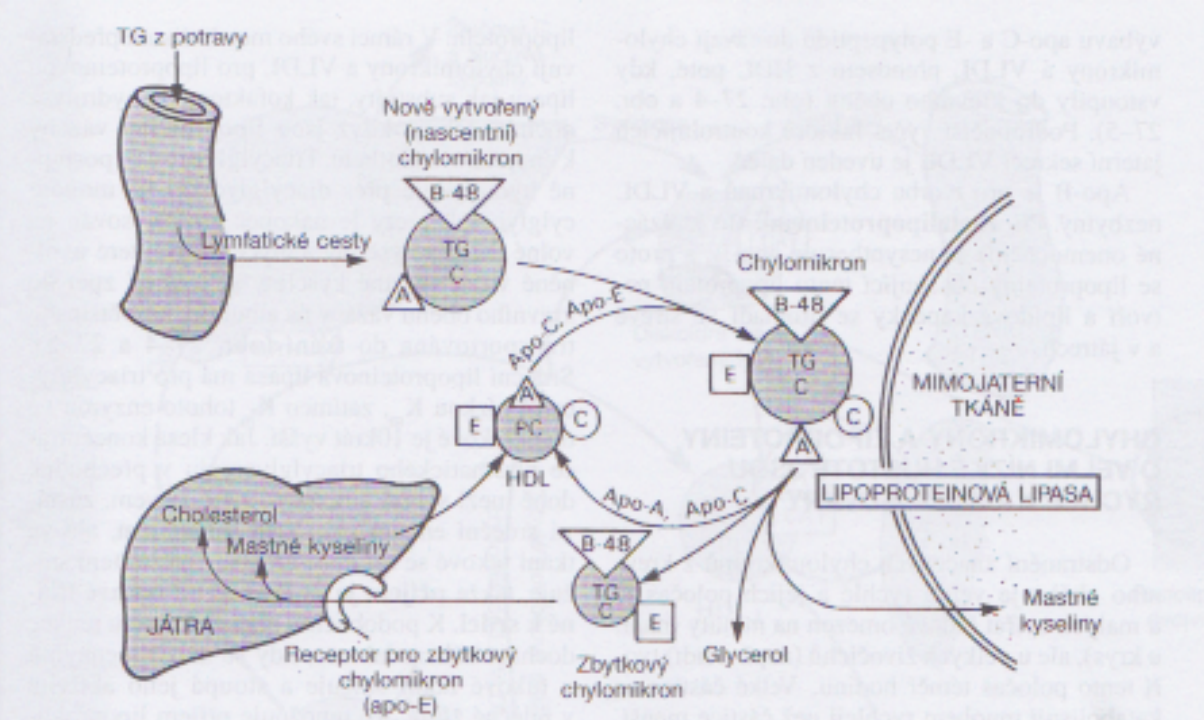
Sfingosin-1-fosfát je bioaktivní signální molekula modulující mnoho fyziologických i patofyziologických procesů interakcí s receptory. Za fyziologických podmínek se sfingosin-1-fosfát vyskytuje převážně v HDL (50-60 %), ve vazbě na albumin (30-40 %) a v LDL tvoří jen přibližně 8 %.

Přepokládá se, že plazmatický sfingosin-1-fosfát je kardioprotektivní. Nízké hladiny sfingosin-1-fosfátu jsou spojeny se zhoršenou buněčnou signalizací a vazodilatací (Iqbal, 2017).

2.2 Metabolismus lipoproteinů

2.2.1 Chylomikrony

Chylomikrony se tvoří v enterocytech z lipidů přijatých potravou (viz obr. 3). Chylomikrony se uvolní z enterocytu reverzní pinocytózou sekreční vakuoly s buněčnou membránou a procházejí do oblasti mezi jednotlivými enterocyty nebo se dostávají do mízních cév. Při vstupu do krve jsou chylomikrony hydrolyzovány lipoproteinovou lipázou (LPL) a vznikají chylomikronové zbytky, které ztrácí pouze 5 % esterů cholesterolu. Větší část je zachycena hepatocyty a estery cholesterolu jsou hydrolyzovány na volný cholesterol (Masopust, 2004; Murray, 2002).



Obr. 27–4. Metabolický osud chylomikronů. A – apolipoprotein A, B–48 : apolipoprotein B–48, (C) – apolipoprotein C, E – apolipoprotein E, HDL – lipoprotein o vysoké hustotě, TG – triacylglycerol, C – cholesterol a estery cholesterolu, P – fosfolipid. Zobrazeny jsou zde pouze převažující lipidy.

Obrázek č. 3 Metabolismus chylomikronů (Murray, 2002)

2.2.2 VLDL

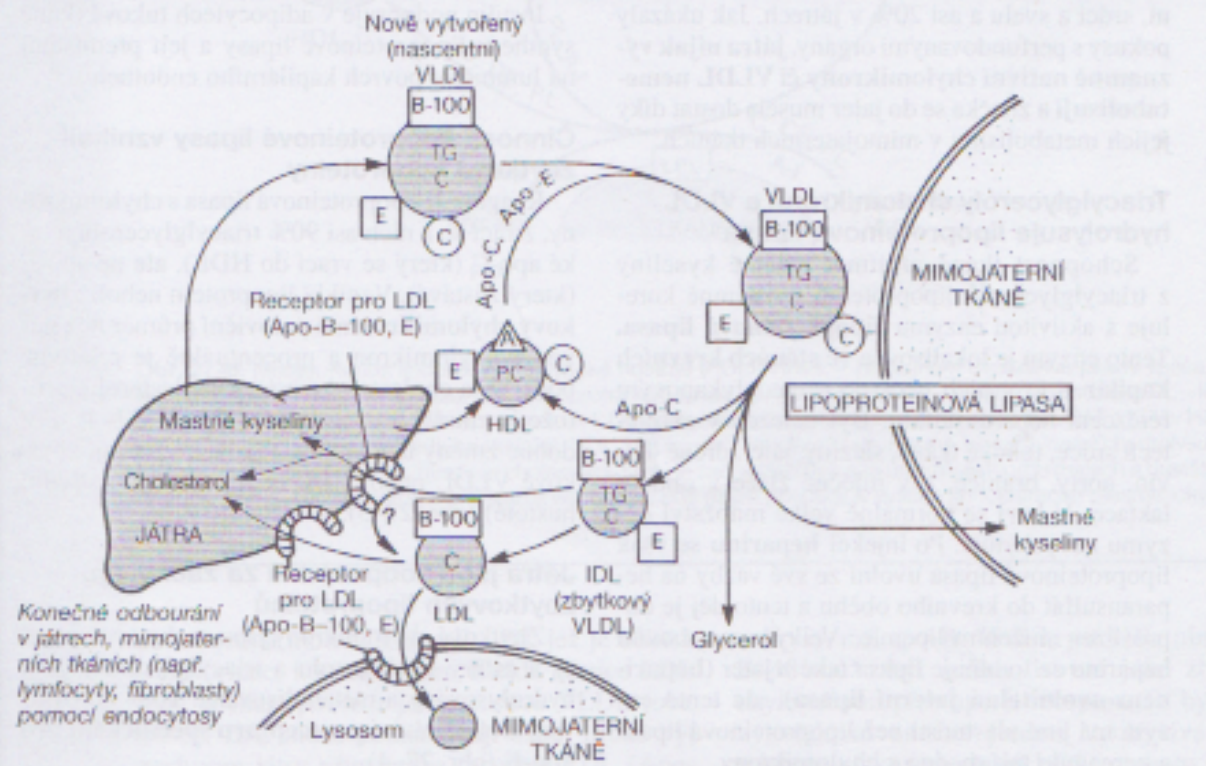
K syntéze VLDL dochází v hepatocytech, kde jsou secernovány do Disseova prostoru a následně do jaterních sinusoidů skrze otvory v lemu endotelu. VLDL přenáší cholesterol do plazmy (Masopust, 2004; Murray, 2002).

2.2.3 LDL

LDL částice se tvoří z VLDL přes mezistupeň v podobě IDL. IDL mohou být vychytávány přímo hepatocyty nebo přeměněny na LDL (viz obr. 4), které vznikají po hydrolýze jaterní lipázou (HL). LDL mohou být secernovány hepatocyty i přímo, hlavně u pacientů s dědičnou familiární hypercholesterolemií. LDL se katabolizují buď pomocí specifických LDL receptorů nebo *scavenger* receptorů.

LDL se naváže na LDL receptor přes apo B-100 a částice prostoupí mechanismem endocytózy do buňky, kde je rozložena. Vzniká volný cholesterol, a tím dochází k inhibici aktivity enzymu HMG-CoA-reduktázy. Pomocí tohoto mechanismu dochází k regulaci příjmu cholesterolu do buňky.

Z uvolněného cholesterolu jsou syntetizovány žlučové kyseliny, které jsou vyloučeny žlučí do střev a z 98-99 % transportovány enterohepatálním oběhem zpět do jater. Daný cholesterol může rovněž sloužit k syntéze nových lipoproteinů (Masopust, 2004; Murray, 2002).



Obr. 27–5. Metabolický osud lipoproteinů o velmi nízké hustotě (VLDL) a vznik lipoproteinů o nízké hustotě (LDL). A – apolipoprotein A, B –100 : apolipoprotein B –100, C – apolipoprotein C, E – apolipoprotein E, HDL – lipoprotein o vysoké hustotě, TG – triacylglycerol, IDL – lipoprotein o střední hustotě, C – cholesterol a estery cholesterolu, P – fosfolipid. Zobrazeny jsou zde pouze převažující lipidy. Je možné, že i některý IDL se metabolisuje přes receptor pro zbytkový chylomikron (apo-E).

Obrázek č. 4 Metabolismus VLDL a vznik LDL (Murray, 2002)

2.3 Vznik LDL podtříd

Existují dvě cesty vzniku LDL podtříd v závislosti na dostupnosti jaterních triacylglycerolů (TAG).

V případě nízké dostupnosti TAG, jsou z hepatocytů secernovány VLDL 1, lipoproteiny s vysokým obsahem TAG a IDL 2, lipoproteiny s nižším obsahem TAG.

Pokud je dostupnost TAG velká, dochází k sekreci částic jako jsou větší VLDL 1, lipoproteiny s vysokým obsahem TAG a VLDL 2, lipoproteiny s menším obsahem TAG.

Lipoproteiny s vysokým obsahem TAG (VLDL 1) jsou po delipidaci lipoproteinovou lipázou a jaterní lipázou přeměněny na malé denzní částice (LDL III a LDL IV).

Lipoproteiny s nízkým obsahem TAG (VLDL 2 a IDL 2) jsou prekurzory pro větší částice (LDL I a LDL II).

Po přenesení TAG pomocí cholesterol ester transfer proteinu (CETP) a následné delipidaci jaterní lipázou, vznikají malé denzní LDL (viz obr. 5).

Tyto předpoklady jsou podpořeny výsledky intervenční studie u člověka, která prokázala inverzní korelaci mezi LDL I a LDL III a mezi LDL II a LDL IV. V důsledku postupné modifikace mají malé denzní LDL jiný chemický obsah, snížené množství fosfolipidů, volného cholesterolu i esterů cholesterolu, ale obsah TAG zůstává stejný. Některé studie naznačují, že malé denzní LDL mohou mít různý původ, zejména u pacientů s metabolickými poruchami. Bylo popsáno, že vliv stravy bohaté na omega-3 polynenasycené mastné kyseliny má příznivý vliv na produkci TAG a malých denzních LDL (Do, 2014; Ivanova 2017).

Doba cirkulace malých denzních LDL v krevní oběhu je delší než velkých LDL částic, které jsou odstraněny z oběhu pomocí LDL receptorů. Delší doba cirkulace zvyšuje pravděpodobnost aterogenních modifikací. Jedním z důvodů zvýšené aterogenity malých denzních LDL je jejich malá velikost, která umožňuje snazší pronikání do arteriální stěny, kde slouží jako zdroj cholesterolu a lipidů.

Mezi cíle korekční terapie patří snížení množství cholesterolu v malých denzních LDL nebo zvýšení HDL cholesterolu. Není však dosud jasné, zda statiny snižují pouze množství malých denzních LDL, jelikož v některých případech došlo ke snížení jak malých denzních LDL, tak i velkých lehkých LDL, a proto se jejich poměr nezměnil. Mezi další látky, které snižují množství lipidů patří fibráty, ezetimib a niacin. U obézních pacientů mohou být hladiny malých denzních LDL korigovány zdravým životním stylem a snížením kalorické vydatnosti přijímané stravy (Ivanova, 2017).

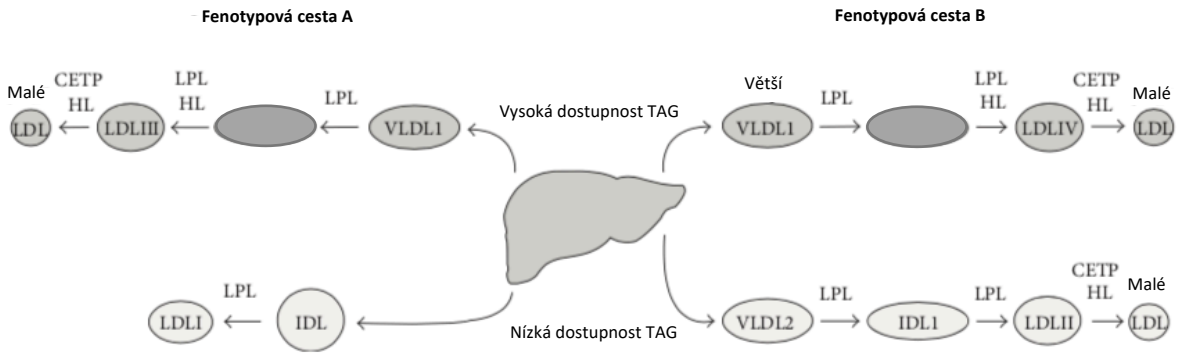
2.4 Typy LDL

LDL se dělí do několika podtříd podle velikosti a hustoty na částice velké a lehké, střední nebo malé denzní. Malé denzní LDL snáze podléhají modifikacím zvyšujícím jejich aterogenitu. Podle současných poznatků jsou dvě fenotypové cesty vzniku různých typů LDL.

Fenotyp A je charakteristický převažujícím vznikem velkých lehkých LDL, zatímco fenotyp B tvorbou malých denzních LDL (viz obr. 5). Fenotyp B je považován za rizikový v rozvoji ischemické choroby srdeční (ICHS), metabolických poruch, obezity a diabetu 2. typu.

S tímto fenotypem se navíc pojí zvýšené hladiny TAG v plazmě a snížené hladiny HDL. Kromě hustoty a velikosti se tyto typy lipoproteinů liší i chemickým složením díky řadě modifikací.

Dělí se do čtyř podtříd, LDL I – velké lehké, LDL II – meziprodukty, LDL III a LDL IV jsou označovány jako malé denzní (Ivanova, 2017).



Obrázek č. 5 Cesty vzniku různých typů LDL (Ivanova, 2017)

2.4.1 LDL I

První, největší typ LDL částic má hustotu 1,025-1,034 mg/l. Částice jsou tvořené fenotypovou cestou A. Průměr píku je 26,0-28,5 nm (Ivanova, 2017).

2.4.2 LDL II

Druhý, střední typ LDL má hustotu 1,034 – 1,044 mg/l. Částice jsou tvořené fenotypovou cestou A, stejně jako LDL I. Průměr píku je 25,5 – 26,4 nm (Ivanova, 2017).

2.4.3 LDL III

LDL III označované jako malé denzní LDL mají hustotu 1,044 – 1,060 mg/l. Jsou tvořené fenotypovou cestou B. Průměr píku je 24,2 – 25,5 nm (Ivanova, 2017).

2.4.4 LDL IV

LDL IV jsou nejmenší a nejvíce denzní z podtříd LDL. Jsou tvořené stejně jako LDL III, aterogenní fenotypovou cestou B. Průměr píku je 22 – 24,1 nm (Ivanova, 2017).

2.4.5 Lipoprotein (a)

Lipoprotein (a) je makromolekulární částice o průměru 25 nm a hustotě 1,05 -1,12 mg/l. Struktura lipoproteinu (a) je podobná struktuře LDL. Obě částice obsahují apoB-100, nicméně Lp (a) se kovalentně váže na hydrofilní polyglykosylovaný apoprotein (a) (Maranhão, 2014; Orsó, 2017).

Apoprotein (a) se váže disulfidovým můstkem s apo B a jeho struktura je podobná struktuře plasminogenu, proteinu fibrinolytického systému. Apo (a) obsahuje doménu inaktivní proteázy nebo serinové proteázy, jejíž sekvence aminokyselin je z 94 % shodná se sekvencí v plasminogenu. V molekule Lp (a) se nachází další domény tvořené strukturami těžkého řetězce označované jako kringle domény. Tyto domény jsou tvořeny převážně cysteinem (Gencer, 2017; Maranhão, 2014).

Fyziologická funkce Lp (a) není doposud zcela objasněna, nicméně jsou prokázány skutečnosti, že apo (a) stimuluje chemotaktickou aktivaci monocytů/makrofágů, moduluje angiogenezi a akumuluje se v buňkách endotelu při poranění cévní stěny (Orsó, 2017). Bylo prokázáno, že apo (a) modifikuje celulární funkci kultivovaných endotelových buněk cévy, zvyšuje genovou expresi adhezivních molekul, jako je CD54 (ICAM-1) nebo prostaglandin E2 (PGE2) pomocí zatím neobjasněného mechanismu. Apo (a) inhibuje pericelulární aktivaci plasminogenu pomocí aktivátoru urokinázového typu (uPA) a CD87 (uPA-receptor), což vede ke snížení organizace myoepitelií a tvorbě nových cév (Orsó, 2017).

Kromě buněk epitelu, Lp (a) podporuje proliferaci buněk hladké svaloviny, generuje oxidované radikály v monocytech a zvyšuje tvorbu pěnových buněk. Lp (a) je rozpoznáván zánětlivými buňkami, jako je např. receptor pěnových buněk v aterosklerotickém plaku. Rovněž bylo prokázáno, že slouží jako hlavní nosič oxidovaných fosfolipidů. Lp (a) vzhledem k podobnostem s plasminogenem soutěží o vazebná místa, což vede ke snížení syntézy plasminu a inhibici fibrinolýzy (Maranhão, 2014).

U pacientů s prediabetes mellitus a diabetes mellitus 2. typu byly zjištěny zvýšené hladiny Lp (a) spojené se zvýšeným rizikem kardiovaskulárních onemocnění. Zvýšené hladiny Lp (a) jsou spojovány s přítomností onemocnění koronárních tepen u pacientů s diabetes mellitus a familiární hypercholesterolemií (Jin, 2019).

Plazmatické hladiny Lp (a) nejsou ovlivnitelné stravou, prostředím, ani většinou léčiv (Meeusen, 2017).

2.4.6 Elektronegativní LDL

Elektronegativní LDL je subfrakcí modifikovaného LDL nacházejícího se v krevní plazmě. Tento elektronegativní LDL vykazuje ve srovnání s nativním LDL některé proaterogenní vlastnosti, jako je například zvýšený obsah lysofosfatidylcholinu (LPC) (Orekhov, 2014). V elektronegativním LDL byl popsán vysoký obsah fosfolipázy A2 (PLA2), která uvnitř lipoproteinové částice štěpí oxidované fosfolipidy a uvolňuje prozánětlivé produkty (Bobryshev, 2015; Ivanova, 2017).

2.5 LDL receptory

LDL receptory se nacházejí v jamkách na cytoplazmatické straně buněčné membrány. Tyto jamky jsou povlečeny proteinem zvaným klathrin. Vazebná část receptoru se nachází na N-terminálním konci. Tato část interaguje s apo B-100 a celá LDL částice je pohlcena mechanismem endocytózy dovnitř cílové buňky. K rozložení LDL dochází v lysozomech, kde dojde k hydrolýze apo B-100 a esteru cholesterolu. Cholesterol je přenesen do buňky a receptor je vrácen zpět na povrch buňky (Gonias, 2014).

Počet LDL receptorů je regulován cholesterolovou potřebou buňky. Cholesterol slouží převážně jako prekurzor pro syntézu membrán a steroidních hormonů.

Množství receptorů pro LDL je zvýšeno, jestliže je přísun cholesterolu vyčerpán a sníženo, pokud jsou hladiny cholesterolu vysoké. Přísun cholesterolu stimuluje aktivitu acyl-CoA cholesterolacyltransferázy (ACAT) a naopak dochází k inhibici syntézy cholesterolu a HMG-CoA reduktázy. V hepatocytech dochází k odbourávání 70 % LDL, v extrahepatálních tkáních dochází k odbourání zbylých 30 % LDL (Murray, 2002).

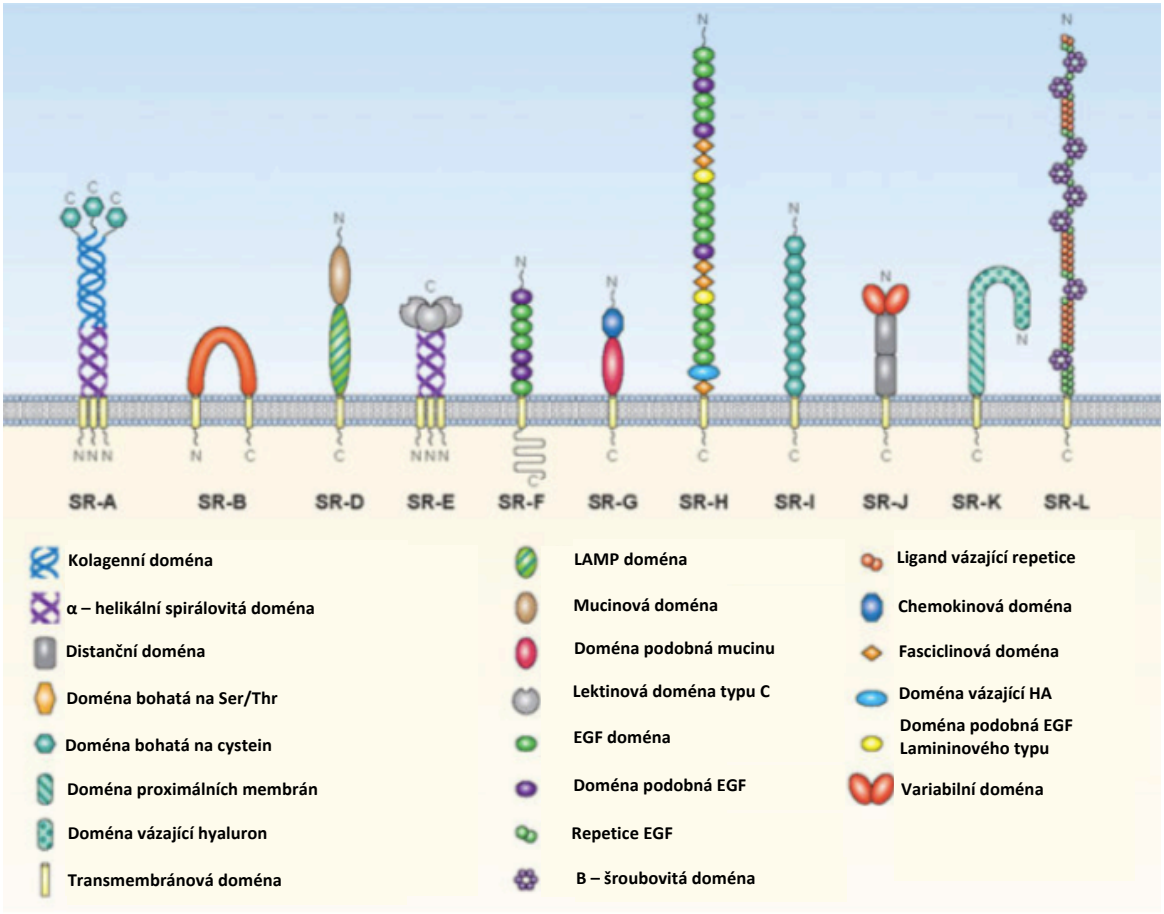
V důsledku mutace genu pro LDL receptor dochází k onemocnění zvaném familiární hypercholesterolemie, kdy dochází k defektu tvorby LDL receptorů, nemožnosti transportu těchto receptorů na povrch buňky nebo může dojít k poruše vazby na apo B-100. Při familiárním defektu apo B-100 dochází k bodové mutaci genu, kdy je aminokyselina glutamin zaměněna za arginin. Tato změna způsobí neschopnost navázání apoproteinu na LDL receptor a dochází k hromadění LDL v plazmě (Guo, 2018; Klee, 2019; Masopust, 2004).

2.6 *Scavenger* receptory

Na povrchu endotelových buněk, makrofágů a buňkách hladké svaloviny můžeme nalézt tzv. *scavenger* receptory (SR), které vychytávají modifikované LDL. K nekontrolovatelnému přísunu cholesterolu do buněk, jeho hromadění, tvorbě pěnových buněk a následnému vzniku

tukových proužků dochází díky vychytávání prostřednictvím *scavenger* receptorů, které nerozpoznávají nativní LDL (Hörl, 2016).

Tyto receptory jsou tvořeny proteiny, které jsou strukturně rozmanité a účastní se širokého spektra biologických funkcí (viz obr. 6). Rozpoznávají řadu ligandů včetně modifikovaných a endogenních molekul a zprostředkovávají endocytózu a fagocytózu. V současné době existuje osm tříd *scavenger* receptorů (A-H), ale stále dochází k objevování nových druhů (Di Pietro, 2016; Prabhudas, 2017).



Obrázek č. 6 Scavenger receptory (Prabhudas, 2017)

2.6.1 *Scavenger* receptory typu A

Scavenger receptory třídy A se nachází na tkáňových makrofázích nebo Kupfferových buňkách. Jejich strukturu tvoří transmembránová doména, N-terminální cytoplazmatický konec, α-helikální spirálovité domény, kolagenní domény a domény bohaté na cystein (SRCR). SRCR domény tvoří 6-8 molekul cysteinu, které tvoří 3-4 disulfidové vazby. Sestřih mRNA může odstranit doménu SRCR. Existují tři izoformy *scavenger* receptorů třídy A, a to A-I, A-

II a A-III. Do této třídy *scavenger* receptorů se však řadí i další receptory, jako je třeba makrofágový receptor s kolagenní strukturou A6 (MARCO) nebo receptor A5 (SCARA5). Tento receptor se nachází na makrofázích, monocytech, žírných buňkách, ale i dendritických buňkách. Váže se na něj p-amyloid, proteiny tepelného šoku, povrchové molekuly bakterií a modifikované LDL. *Scavenger* receptor A-II je charakterizován zkráceným C-koncem. *Scavenger* receptor A-III je taktéž charakterizován zkráceným C-koncem a zůstává zachycen v endoplazmatickém retikulu. *Scavenger* receptor A3 je spojen s ochranou buněk proti účinkům ROS. Receptor A4 je endocytový receptor pro lipoproteiny a zprostředkovává rozpoznání, internalizaci i degradaci oxLDL (Ben, 2015; Prabhudas, 2017).

2.6.2 *Scavenger* receptory typu B

Scavenger receptory třídy B jsou charakterizované dvěma transmembránovými doménami, které lemují extracelulární smyčku a jejíž oba konce jsou umístěny v cytoplazmě. Extracelulární doména je N-glykosylovaná a to jí poskytuje ochranu proti účinkům proteáz, které se nacházejí v místech zánětu. Receptor CD36 (někdy označován jako SR-B2) je jeden z nejrozšířenějších receptorů. Hraje důležitou roli ve funkci makrofágů, včetně migrace, signalizace a zánětlivých procesů, jako je tvorba pěnových buněk, a také je důležitou součástí imunitní reakce jedince. Tento receptor umožnuje příjem mastných kyselin s dlouhým řetězcem a spolupracuje s Toll-like receptory (TLR), zejména TLR4 a TLR6, což indukuje prozánětlivé mediátory jako je interleukin-1β. SR-B1 byl zpočátku klonován, aby mohl sloužit jako modifikovaný LDL receptor, který může vázat nativní LDL (Prabhudas, 2017).

2.6.3 *Scavenger* receptory typu C

Třída receptorů C byla popsána pouze u *Drosophila melanogaster*, u lidí tyto receptory nebyly nalezeny (Prabhudas, 2017).

2.6.4 *Scavenger* receptory typu D

V třídě D se nachází jediný receptor a tím je CD68 neboli SR-D1. Jedná se o transmembránový glykoprotein typu I. Jedná se o doménu tvořenou 300 aminokyselinami, převážně threoninem a serinem, které mohou sloužit jako vazebná místa pro sacharidy. Nachází se na monocytech, makrofázích, v plicích, játrech, slezině a Langerhansových ostrůvcích a slouží jako receptor pro vychytávání oxLDL (Prabhudas, 2017).

2.6.5 *Scavenger* receptory typu E

Scavenger receptory třídy E tvoří transmembránové proteiny typu 2 s doménami podobnými lektinu typu C. Do této skupiny receptorů řadíme lektin-like oxidovaný LDL receptor-1 (LOX-1) a dectin-1 (Prabhudas, 2017).

LOX-1 se nachází na makrofázích, dendritických buňkách, adipocytech, buňkách endotelu cévy, destičkách a kromě oxLDL váže i C-reaktivní protein (CRP).

Dectin-1 je exprimován převážně na makrofázích, dendritických buňkách a neutrofilech. Spolu s TLR2 zprostředkovává prozánětlivou produkci cytokinu na základě rozpoznávání bakteriálních, houbových a rostlinných sacharidů (β-1,3 anebo β-1,6 glukany). Bylo popsáno, že dectin-1 působí jako molekula podílející se na aktivaci CD4 a CD8 T-lymfocytů (Prabhudas, 2017).

2.6.6 *Scavenger* receptory typu F

Třída F zahrnuje tři druhy *scavenger* receptorů. *Scavenger* receptor exprimovaný endotelovými buňkami slouží pro vychytávání modifikovaného LDL. Bylo prokázáno, že tento receptor se podílí na clearance apoptických buněk, rovněž je exprimován ve fagocytárních buňkách, jako jsou makrofágy nebo dendritické buňky a má funkci ve vazbě imunostimulačních proteinů teplotního šoku (HSP), včetně kalreticulinu, Hsp70, Hsp90, Hsp100 a Grp170. Dále bylo prokázáno, že Hsp70 izolovaný z fúzí tumor-dendritických buněk je vysoce imunogenní a indukuje silnou protinádorovou imunitu (Prabhudas, 2017).

2.6.7 Toll-like receptory

OxLDL mohou být internalizovány diferencovanými makrofágy pinocytózou a pomocí vazby s TLR4. Tato vazba indukuje sekreci prozánětlivých cytokinů. TLR4 se podílí na spolupráci s receptorem CD36 (Park, 2016).

2.7 Modifikace LDL

Lipoproteiny o nízké hustotě jsou vystaveny četným enzymatickým i neenzymatickým změnám, které zvyšují jejich aterogenitu a indukují imunogenicitu. Modifikované LDL mohou indukovat vaskulární zánět prostřednictvím aktivace vrozené imunity, což přispívá k rozvoji aterosklerózy. Imunogenicita modifikovaného LDL vede k indukci tvorby vlastních protilátek specifických pro daný typ modifikovaného LDL a tyto protilátky reagují s modifikovanými částicemi za vzniku cirkulujících imunokomplexů. V porovnání volně cirkulujících nativních

a modifikovaných LDL, vykazují imunokomplexy s modifikovanými LDL větší aterogenní a prozánětlivé vlastnosti. Věří se, že imunokomplexy obsahující LDL mohou sloužit jako marker pro makrovaskulární onemocnění diabetu 1. typu. Protilátky IgG proti modifikovanému LDL jsou spojovány s proaterogenními vlastnostmi, zatímco IgM vykazují ateroprotektivní vlastnosti. Tyto protilátky mají imunomodulační vlastnosti, a proto jsou schopny koordinovat proaterogenní zánět. Tyto specifické protilátky pro LDL a jejich imunokomplexy mohou být detekovány nejen v aterosklerotických placích, ale byly prokázány i v krvi zdravých novorozenců. Identifikace těchto složek může mít velkou diagnostickou hodnotu u pacientů trpících onemocněním koronárních tepen (CAD) (Orekhov, 2014). Modifikované formy LDL jsou náchylné k agregaci a tvorbě komplexů, které zvyšují jejich aterogenitu (Ivanova, 2017; Ruuth, 2018; Sobenin 2014).

2.7.1 Oxidované LDL

Modifikace LDL oxidací hraje klíčovou roli v indukci aterogeneze. K akumulaci v makrofázích dochází pouze u oxidovaných LDL (oxLDL). OxLDL nejsou schopné vázat se na LDL receptor, a proto začínají být vychytávány buňkami hladké svaloviny. Přesný mechanismus této oxidace není dosud znám, ale existují různé teorie vysvětlující možný mechanismus přeměny. Tyto teorie berou v potaz oxidaci reaktivními formami kyslíku zprostředkovanou monocyty, makrofágy, endotelovými buňkami, působením Fe^{3+} a Cu^{2+} a enzymatické reakce katalyzované lipoxygenázou a myeloperoxidázou.

Reaktivní formy kyslíku, lipoxygenáza, Fe^{3+} a Cu^{2+} se přednostně podílejí na oxidaci lipidových složek LDL, zatímco myeloperoxidáza a kyselina chlorná oxidují apo B-100. Myeloperoxidáza produkovaná neutrofily a makrofágy generuje kyselinu chlornou (HOCl) a hypothiokyanové kyseliny (HOSCN), které jsou silnými oxidanty, které rovněž mohou dále modifikovat oxidací molekulu apo B-100.

V oxLDL je obsah antioxidantů (koenzym Q10, tokoferoly, β-karoten a lykopen) 1,5 až 2krát nižší, než je tomu u nativního LDL. Tento fakt podněcuje vyšší náchylnost oxLDL k další oxidaci (Orekhov, 2014).

OxLDL vyvolává zánět prostřednictvím několika mechanismů. V makrofázích a monocytech indukuje ukládání lipidů, produkci reaktivních forem kyslíku a apoptózu. V makrofázích je oxLDL vychytáváno prostřednictvím *scavenger* receptorů, jako je například CD36, které následně indukují produkci prozánětlivých cytokinů (např. TNF-α), oxidativní stres a zvyšují chemotaxi.

OxLDL aktivuje v endotelových buňkách produkci interleukinu-8 (IL-8). Jedná se o chemokin, který přitahuje zánětlivé buňky do místa zánětu, zvyšuje migraci buněk hladké svaloviny z *tunica media* do *tunica intima* a aktivuje produkci TNF-α v monocytech a makrofázích (Qin, 2017). V klinické studii Wallenfeldt et al. (2004) došli k závěrům, že koncentrace cirkulujících oxLDL jsou spojeny se změnou tloušťky *intima media* karotidy a šířkou aterosklerotického plaku, a že mohou sloužit jako diagnostický marker subklinické aterosklerózy. Následné studie prokázaly, že lidé mající nízkou hladinu protilátek proti oxLDL a zároveň nejvyšší množství oxLDL měřených protilátkami, měli nejvyšší riziko aterosklerózy.

Bylo prokázáno, že zvýšené hladiny oxLDL jsou spojovány se zvýšeným relativním rizikem kardiovaskulárních příhod. U pacientů s onemocněním systémový *lupus erythematodes* bylo zjištěno vyšší riziko modifikace LDL pomocí oxidace (Park, 2016). Hladiny oxLDL měřené protilátkami mohou být prediktivní nejen pro preklinickou aterosklerózu, ale už i pro klinicky se projevující aterosklerózu, akutní koronární syndrom nebo náchylnost k tvorbě plaku. Zvýšenou citlivost malých denzních LDL vůči oxidaci můžeme vysvětlit jejich lipidovým složením, částice navíc obsahují méně antioxidantů, a proto jsou náchylnější k oxidaci než větší formy lipoproteinů (Orekhov, 2014).

2.7.2 Malondialdehydové LDL

LDL obsahují ve své molekule polynenasycenou kyselinu linolovou, kterou mohou reaktivní formy kyslíku oxidovat až na malondialdehyd (MDA). MDA představuje konečný produkt lipooxidace, je označován jako biomarker oxidačního stresu. Pokud je modifikováno pomocí MDA méně než 15 % lysinových zbytků apo B-100, jsou LDL schopné navázat se na LDL receptory. V případě, že je modifikováno více než 15 %, LDL se nenaváží na LDL receptory, ale začnou být vychytávány pomocí *scavenger* receptorů. Studie potvrdily, že v molekule apo B-100 je N-konec nezbytný pro rozpoznání malondialdehydových LDL (MDA-LDL) pomocí *scavenger* receptorů monocytů/makrofágů. U pacientů s onemocněním koronárních tepen byla pozorována souvislost mezi koronární aterosklerózou a hladinami MDA-LDL. Tato závislost vykazovala inverzní korelaci mezi hodnotami MDA-LDL měřené pomocí metody ELISA a velikostí LDL částic a pozitivní korelaci mezi hodnotami MDA-LDL a tloušťkou *intima media* koronární tepny. Největší obsah malondialdehydu se nachází v malých denzních LDL, což může vést k závěru, že jsou tyto částice přednostně vystaveny oxidaci (Orekhov, 2014).

2.7.3 Glykované LDL

U pacientů trpících onemocněním diabetes mellitus může být LDL nevratně modifikováno procesy glykooxidace a neenzymatické glykace. Místem glykace v LDL mohou být lipidové, ale i proteinové skupiny. V takovém případě může být podíl glykovaného apo B-100 až 14,8 % z celkového apo B-100. U jedinců, kteří nemají diabetes může být hodnota glykovaného apo B-100 až 4,8 %. U diabetiků 2. typu a lidí trpící metabolickým syndromem jsou zvlášť malé denzní LDL náchylné ke glykaci a tyto glykované LDL mají tendenci následně podléhat oxidaci. Aterogenní potenciál lipoproteinů je zvýšen tvorbou glykovaných LDL a dalších konečných produktů glykace (AGEs). Stimulace exprese receptorů konečných produktů glykace (RAGE) a jiných *scavenger* receptorů v makrofázích a indukce proaterogenního vychytávání lipidů kultivovanými aortálními buňkami hladké svaloviny jsou další vlastnosti těchto lipoproteinů. U diabetických pacientů bylo prokázáno, že zvýšené hladiny glykovaného apo B-100 i zvýšené hladiny TAG jsou rizikové faktory kardiovaskulárních onemocnění a infarktu myokardu (Hayashi, 2007; Orekhov, 2017).

2.7.4 Karbamylované LDL

Kyselina isokyanatá reaguje s aminy za vzniku karbamidů jako je močovina, tato reakce se nazývá karbamylace. V LDL částicích může být molekula apo B-100 karbamylována hlavně v lysinových zbytcích. Pokud dojde k modifikaci 15 % lysinových zbytků v apo B-100, interakce mezi apo B-100 a LDL receptorem se naruší a LDL začnou být vychytávány pomocí *scavenger* receptorů.

Karbamylace proteinů kyanátem vede k selhání ledvin. Hodnoty karbamylovaných LDL bývají výrazně zvýšeny u pacientů s chronickým selháním ledvin. Vysoce karbamylované LDL jsou vylučovány ledvinami, zatímco vylučování mírně karbamylovaných LDL je sníženo 2,5krát. Karbamylované LDL jsou náchylné k další oxidaci. Takto karbamylované oxLDL jsou vysoce cytotoxické pro buňky endotelu a stimulují tvorbu reaktivních forem kyslíku, a tím aktivují LOX-1.

Karbamylované LDL podporují adhezi monocytů k endotelovým buňkám tím, že indukují proliferaci vaskulárních buněk hladké svaloviny a zvyšují expresi intercelulárních adhezních molekul (ICAM-1) a vaskulárních adhezních molekul (VCAM-1). Takto modifikované LDL mohou být rozpoznávány makrofágovými *scavenger* receptory A1, které zprostředkovávají jejich příjem a akumulaci cholesterolu. To vede k přeměně makrofágů na

pěnové buňky. Karbamylované LDL zvyšují oxidační stres a urychlují stárnutí endotelových buněk tím, že modifikují a poškozují DNA, a tím podporují vaskulární poškození.

Studie prokázaly přítomnost proaterogenních IgG protilátek proti karbamylovaným LDL v plazmě. Tyto protilátky byly zjištěny u kuřáků a lidí trpících urémií. Oba tyto stavy zvyšují hodnoty karbamylovaného LDL. Diagnostická hodnota karbamylovaného LDL a jeho protilátek však zatím nebyla hodnocena (Orekhov, 2014).

2.7.5 Desialylované LDL

Kyselina sialová tvoří terminální sacharid cukerných řetězců v apo B-100 a je základní složkou nativního LDL. Ve srovnání se sialylovanými LDL jsou desialylované částice menší a obsahují menší množství fosfolipidů a antioxidantů. Naopak v nich najdeme více triacylglycerolů, mastných kyselin a oxysterolů.

Po desialylaci se galaktóza, která předchází kyselině sialové v uhlovodíkovém řetězci, stává terminální. Tyto LDL můžeme kvantifikovat pomocí lektin-sorbent testu nebo izolací afinitní chromatografií na bázi lektinu, jelikož až 80 % elektronegativních LDL je vázáno na lektin a galaktóza má vysokou afinitu k lektinům. Bylo prokázáno, že lektinové receptory u makrofágů zprostředkovávají příjem desialylovaných LDL.

U zdravých jedinců může desialylace LDL probíhat přirozeně pomocí glykosidových hydroláz, jako jsou neuraminidázy anebo sialidázy. Desialylované LDL se mohou vyskytovat v množství 5–10 % z celkových LDL. U pacientů s aterosklerózou je toto množství zvýšeno 1,5 až 6krát a mohou tvořit až 60 % celkových LDL.

Při zánětlivých stavech může být v makrofázích zvýšena exprese galaktózově specifických lektinů, což opět zvyšuje příjem desialylovaných LDL makrofágy. Bylo zjištěno, že v subfrakci elektronegativních LDL je obsah kyseliny sialové 2krát až 6krát menší ve srovnání s nativními LDL. Částečně desialylované LDL mohou být vyloučeny z oběhu játry. Desialylované LDL jsou náchylnější na oxidaci pomocí ROS a peroxidy. Sialidáza může být v séru zapojena do enzymatického odstranění kyseliny sialové z LDL. Sialidáza přenáší z LDL částice kyselinu sialovou na receptory jako jsou plazmatické proteiny, neutrální sfingolipidy nebo gangliosidy (Ivanova, 2017; Zakiev 2016).

V LDL bylo pozorováno zvýšení obsahu konjugovaných dienů a pokles sialylace po oxidaci zprostředkované Cu^{2+}. Při oxidačním stresu mohou být reaktivní radikály zapojeny do neenzymatické desialylace LDL (Orekhov, 2014).

Malé denzní LDL mají snížený obsah kyseliny sialové ve srovnání s velkými lehkými LDL částicemi. Desialylace zvyšuje afinitu malých denzních LDL k proteoglykanům v arteriální stěně, a proto se tyto desialylované malé denzní LDL zdržují déle v subendotelovém prostoru, kde přispívají k ukládání lipidů a rozvoji aterosklerózy (Ivanova, 2017).

V desialylovaných LDL byla pozorována ztráta antioxidantů a zrychlená modifikace apo B-100 s kovalentně vázaným cholesterolem, který je marker lipooxidace. V makrofázích dochází k inhibici esterifikační aktivity cholesterol acyltransferázy a dochází k zvýšení příjmu buněčného cholesterolu prostřednictvím snížení reverzního transportu cholesterolu zprostředkovaného cholesterol esterovým proteinem.

Desialylované LDL jsou vysoce imunogenní a indukují produkci proaterogenních protilátek IgG, které zvyšují příjem LDL aortálními buňkami. Minimálně modifikované LDL (mmLDL) vykazují podobné vlastnosti jako desialylované LDL. Jsou to malá velikost molekuly, vyšší hustota, vyšší elektronegativní náboj, snížení obsahu kyseliny sialové a zvýšení obsahu oxysterolu.

Byly provedeny experimenty *ex vivo*, kdy se smíchalo nativní LDL se sérem pacientů s aterosklerózou. Bylo zjištěno, že po hodinové inkubaci při 37 °C nativního LDL se objeví subfrakce desialylovaných LDL, po třech hodinách inkubace byly LDL schopné způsobit akumulaci cholesterolu v buňkách, po šesté hodině se LDL stávají schopnými redukovat lipidy a fosfolipidy, po 36 hodinách se zvýšila elektronegativita LDL. Když bylo pozorováno sérum s LDL po 72 hodinách, byla pozorována ztráta α-tokoferolu, zvýšená náchylnost k oxidaci a akumulace produktů peroxidace lipidů v LDL a degradace apo B-100. Vícenásobná modifikace LDL je sekvence změn, a to desialylace, ztráta lipidů, redukce velikosti, zvýšení náboje a peroxidace lipidů v LDL (Orekhov, 2014).

3. VLIV LDL V ATEROSKLEÓZE

Ateroskleróza je progresivní chronické zánětlivé onemocnění. Mezi rizikové faktory vzniku aterosklerózy patří diabetes, hypertenze, kouření cigaret, infekce, zánět, oxidační stres, hypercholesterolemie a dyslipidémie (Ivanova, 2017; Rognoni, 2015)

Aterosklerotický plak je klinicky diagnostikovatelný teprve pokud dosáhne pokročilého stádia a projeví se zhoršeným průtokem krve nebo destabilizací a následnou trombózou.

Růst aterosklerotického plaku je závislý na absorpci cholesterolu subendotelovými buňkami (Gruzdeva, 2014; Maiolino, 2013).

Hodnoty celkového cholesterolu a HDL cholesterolu jsou hlavními ukazately kardiovaskulárního rizika. V kombinaci s dalšími markery, jako je hodnota apo B, apo A-I nebo lipoproteinu (a) dochází ke zlepšení diagnostiky (Orekhov, 2014).

Kvalitativní změny způsobené na buňkách endotelu se nejčastěji projevují ve větvích a bifurkacích arterií, kde dochází k narušení průtoku krve. Toto prostředí exprimuje adhezní a chemotaktické molekuly, jako jsou vaskulární adhezivní molekuly (VCAM-1), intercelulární adhezivní molekuly (ICAM-1) a chemotaktické proteiny monocytů (MCP-1), a tím dochází ke zvýšené propustnosti pro makromolekuly, které modifikují extracelulární matrix (Maiolino, 2013; Orekhov, 2014).

Akumulace pěnových buněk v arteriální stěně způsobuje vznik počátečních lézí a tukových proužků, které obsahují lipidy, zánětlivé buňky a buňky hladké svaloviny (Orekhov, 2014).

V buňkách endotelu LDL snižují produkci vazodilátoru oxidu dusnatého (NO) a naopak stimuluje sekreci vazokonstrikčního endotelinu-1 (Orekhov, 2014). Prostup LDL částic skrz arteriální stěnu je provázen produkcí interleukinu-1β a TNF-α (Qin, 2017).

Mezi další faktory podílející se na vývoji aterosklerotických lézí patří buňky hladké svaloviny, které prostupují do subendotelového prostoru, kde dochází k dělení buněk v důsledku odpovědi na mediátory jako je destičkový růstový faktor (PDGF), tkáňový faktor nebo inhibitor plazminogenového aktivátoru I (PAI-I). Buňky hladké svaloviny produkují kolagen a elastin, a tím vytvářejí fibrilární zátku, která překrývá rostoucí aterosklerotický plak, který se skládá z pěnových buněk, extracelulárních lipidů a odumřelých buněk endotelu (Maiolino, 2013).

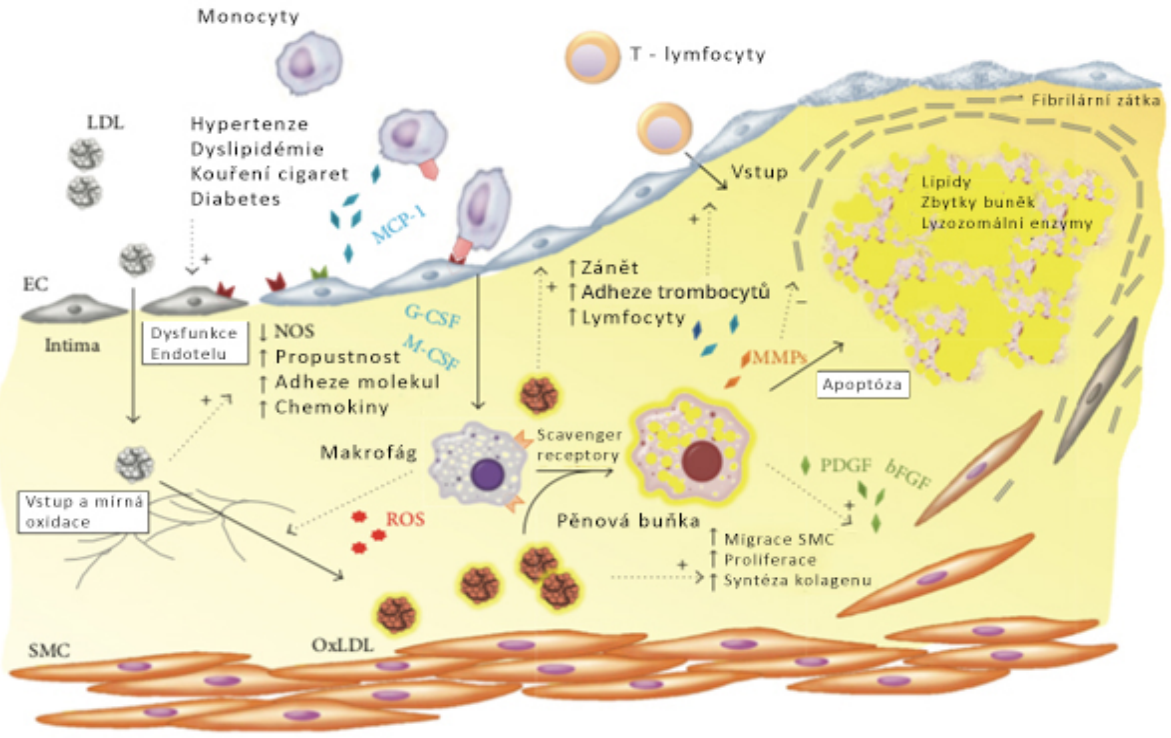
Aterosklerotické plaky podléhající ruptuře jsou charakterizovány akumulací zánětlivých buněk. Tyto buňky degradují kolagen prostřednictvím uvolňování kolagenolytických enzymů,

především matrixových metaloproteináz (MMPs) a snižují jeho syntézu tím, že vyvolávají apoptózu buněk hladké svaloviny (Maiolino, 2013).

3.1 VLIV OXIDOVANÉHO LDL

Uvnitř arteriální stěny dochází k oxidační modifikaci LDL, kterou můžeme vysvětlit několika teoretickými mechanismy. Hlavní roli může hrát 12/15 lipoxygenáza, která se nachází v aterosklerotických placích a její inhibice je spojena se sníženou oxidací LDL. Mezi další látky může patřit myeoloperoxidáza, hemový enzym vylučovaný neutrofily a makrofágy, který byl rovněž nalezen v aterosklerotických placích a modifikuje LDL, čímž se zvyšuje jejich afinita k CD36 a SR-A, *scavenger* receptorům zprostředkujícím vychytávání oxidovaných LDL makrofágy (viz obr. 7) (Orekhov, 2014). Syntáza oxidu dusnatého (NOS) a nikotinamiddinukleotid fosfát (NADPH) – oxidáza jsou dalšími potenciálními účastníky, jelikož jejich produkty oxid dusnatý (NO) a superoxidový aniont mohou reagovat za vzniku silného oxidačního čidla peroxynitritu.

Oxidační modifikace LDL zvyšuje jejich vychytávání přes *scavenger* receptory makrofágů. Tyto receptory nemají sníženou odpověď na zvyšující se intracelulární cholesterol, což vysvětluje, proč se tvoří pěnové buňky z oxidovaných LDL (Maiolino, 2013).



Obrázek č. 7 OxLDL a jejich vliv na vznik aterosklerózy (Maiolino, 2013)

4. VLIV LDL V DIABETES MELLITUS

Diabetes mellitus je chronické onemocnění, které je rozdělováno na inzulín-depedentní diabetes mellitus (diabetes 1. typu) a non-inzulín-depedentní diabetes mellitus (diabetes 2. typu).

Diabetes 1. typu je způsoben absolutním defektem syntézy inzulínu a sníženou glukózovou tolerancí za vzniku hyperglykémie, což může vést přes zvýšené odbourávání proteinů a lipidů až ke ketoacidóze.

Diabetes 2. typu je tvořen relativní nedostatečností inzulínu nebo může být způsoben inzulínovou rezistencí. Tento typ nemá sklon ke ketoacidóze.

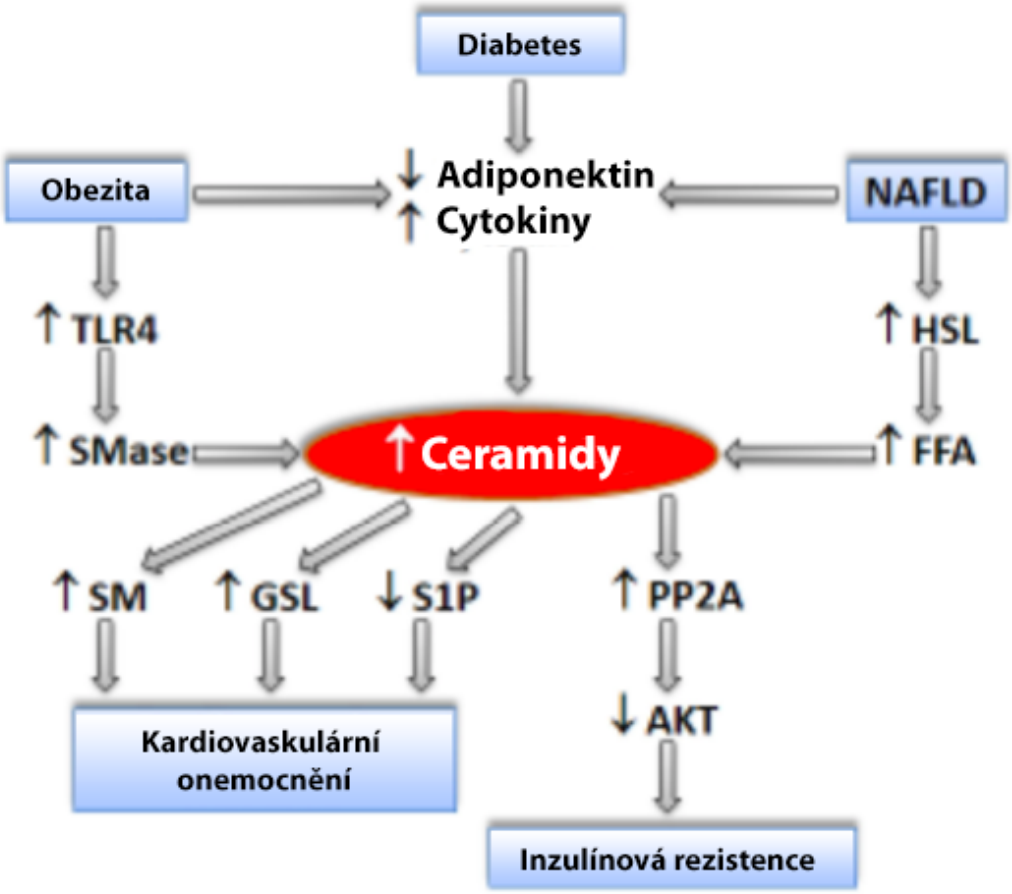
Diabetes se může vyskytovat jako sekundární onemocnění jiných chorobných stavů, jako jsou poruchy navozené léky, Cushingův syndrom, thyreotoxikóza nebo karcinom pankreatu (Murray, 2002).

Jednou z možných komplikací diabetu je ateroskleróza v důsledku glykovaných LDL.

Zánětlivé cytokiny, interferon γ, TNF-α a interleukin-1β stimulují syntézu ceramidů. TNF-α a interleukin-1β zvyšují expresi a aktivitu serin palmitoyltransferázy (SPT) v buňkách (Qin, 2017). Tyto cytokiny podporují lipolýzu v tukové tkáni, což zvyšuje dodávání mastných kyselin do periferních tkání. Je pravděpodobné, že zvýšené plazmatické a tkáňové koncentrace ceramidů přispívají k inzulinové rezistenci u obézních jedinců (Iqbal, 2017).

Inzulínová rezistence je definována jako snížená biologická odpověď na normální koncentrace inzulínu v plazmě, která postupem času vede ke kompenzační hyperinzulinemii (Nichols, 2015).

Zvýšené koncentrace ceramidu mohou vyvolat apoptózu v kardiomyocytech a přispět ke zvýšení kardiomyopatie u diabetických pacientů (Iqbal, 2017).



Obrázek č. 8 Schéma znázorňující patologické události spojené s ceramidy - volné mastné kyseliny (FFA), glykosfingolipidy (GLS), hormon senzitivní lipáza (HSL), nealkoholové ztučnění jater (NAFLD), fosfatáza proteinu 2A (PP2A), sfingomyelináza (SMase), sfingosin-1-fosfát (S1P), toll-like receptor 4 (TLR4) (Iqbal, 2017)

Tkáňové ceramidy mohou být zvýšené u obézních nebo diabetických pacientů a u pacientů s nealkoholovým ztučněním jater (NAFLD) v důsledku snížení plazmatických hladin adiponektinu (viz obr. 8). Metabolické poruchy včetně diabetu a ateroskleróz jsou zmírněny adiponektinem.

Obezita způsobuje aktivaci dráhy TLR4, která vede k aktivaci sfingomyelinázy, která hydrolyzuje sfingomyelin na ceramid. Při nealkoholovém ztučnění jater není inzulín schopen inhibovat aktivitu hormon senzitivní lipázy v tukové tkáni, což vede ke zvýšenému uvolňování volných mastných kyselin, se vzestupem zejména kyseliny palmitové. Ceramidy zvyšují aktivitu proteinové fosfatázy 2A, která způsobuje defosforylaci a inaktivaci AKT vedoucí k inzulínové rezistenci (Iqbal, 2017).

Od roku 2008 doporučuje Americká asociace diabetiků kvantifikaci LDL částic jako nezbytnou pro individuální přístup k riziku kardiovaskulárních onemocnění (Orekhov, 2014).

ZÁVĚR

LDL lipoproteiny jsou transportní částice sloužící pro přenos cholesterolu do tkání. Jejich obal je tvořený fosfolipidy a volným cholesterolem a ve svém jádru obsahují esterifikovaný cholesterol a triacylglyceroly. Dále ve své molekule obsahují proteinovou složku apo B-100, sfingolipidy, mezi které patří ceramid, sfingomyelin, glykosfingolipidy a sfingosin-1-fosfát.

LDL jsou syntetizovány z IDL pomocí hydrolýzy jaterní lipázou nebo secernovány přímo hepatocyty. Rozdělují se do podtříd LDL I, LDL II, LDL III a LDL IV na základě velikosti a hustoty. LDL III a LDL IV jsou malé denzní částice, které jsou nejvíce proaterogenní. Mezi další typy můžeme řadit Lp (a), který je strukturně podobný LDL. Obě částice obsahují apo B-100. Lp (a) se navíc váže na apo (a), který vykazuje strukturní podobnost s plasminogenem.

LDL jsou vychytávány pomocí LDL receptorů, které se nacházejí v jamkách na cytoplazmatické straně buněčné membrány. Počet LDL receptorů je regulován cholesterolovou potřebou buňky. Cholesterol slouží jako prekurzor syntézy membrán a steroidních hormonů.

Vychytávání modifikovaných LDL zprostředkovávají *scavenger* receptory, které se řadí do tříd A-H. Prostřednictvím těchto receptorů se v buňkách nekontrolovatelně hromadí cholesterol, dochází k přeměně makrofágů na pěnové buňky a následnému vzniku tukových proužků.

Modifikace LDL může být způsobena oxidací ROS, působením Fe^{3+} a Cu^{2+} a lipoxygenázou, které vedou k oxidaci lipidové složky, nebo myeloperoxidázou, kyselinou chlornou a kyselinou hypothiokyanovou, které oxidují apo B-100.

Oxidované LDL mají největší vliv v rozvoji aterosklerózy. Právě akumulace pěnových buněk ve stěně arterií způsobuje vznik počátečních lézí a tukových proužků.

U pacientů s diabetes mellitus mohou být v LDL pozměněny proteinové i lipidové části glykací. Zvýšené koncentrace ceramidu v LDL mohou přispět k inzulínové rezistenci u pacientů s diabetes mellitus. LDL mohou být dále modifikované pomocí karbamylace, kdy jsou pozměněny lysinové zbytky v apo B-100, což má za následek narušení interakce mezi apo B-100 a LDL receptorem a desialylace, která zvyšuje jejich náchylnost k oxidaci.

SEZNAM LITERATURY

1. AYASHI, Yuzo, Kenji OKUMURA, Hideo MATSUI, et al., 2007. Impact of low-density lipoprotein particle size on carotid intima-media thickness in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* [online]. **56**(5), 608-613 [cit. 2019-04-04]. DOI: 10.1016/j.metabol.2007.01.001. ISSN 00260495. Dostupné z: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0026049507000200

2. BEN, Jingjing, Xudong ZHU, Hanwen ZHANG a Qi CHEN, 2015. Class A1 scavenger receptors in cardiovascular diseases. *British Journal of Pharmacology* [online]. **172**(23), 5523-5530 [cit. 2019-06-12]. DOI: 10.1111/bph.13105. ISSN 00071188. Dostupné z: http://doi.wiley.com/10.1111/bph.13105

3. BOBRYSHEV, Ekaterina IVANOVA a Alexander OREKHOV, 2015. LDL electronegativity index: a potential novel index for predicting cardiovascular disease. *Vascular Health and Risk Management*[online]. [cit. 2019-06-12]. DOI: 10.2147/VHRM.S74697. ISSN 1178-2048. Dostupné z: http://www.dovepress.com/ldl-electronegativity-index-a-potential-novel-index-for-predicting-car-peer-reviewed-article-VHRM

4. DO, Rose Q, Stephen J NICHOLLS a Gregory G SCHWARTZ, 2014. Evolving targets for lipid-modifying therapy. *EMBO Molecular Medicine* [online]. [cit. 2019-07-01]. DOI: 10.15252/emmm.201404000. Dostupné z: https://www.embopress.org/doi/full/10.15252/emmm.201404000

5. DI PIETRO, Natalia, Gloria FORMOSO a Assunta PANDOLFI, 2016. Physiology and pathophysiology of oxLDL uptake by vascular wall cells in atherosclerosis. *Vascular Pharmacology* [online]. **84**, 1-7 [cit. 2019-06-12]. DOI: 10.1016/j.vph.2016.05.013. ISSN 15371891. Dostupné z: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1537189115301014

6. GENCER, Baris, Florian KRONENBERG, Erik S. STROES a François MACH, 2017. Lipoprotein(a): the revenant. *European Heart Journal* [online]. **38**(20), 1553-1560 [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.1093/eurheartj/ehx033. ISSN 0195-668X. Dostupné z: https://academic.oup.com/eurheartj/article-lookup/doi/10.1093/eurheartj/ehx033

7. GONIAS, Steven L. a W. Marie CAMPANA, 2014. LDL Receptor–Related Protein-1. *The American Journal of Pathology* [online]. **184**(1), 18-27 [cit. 2019-07-01]. DOI: 10.1016/j.ajpath.2013.08.029. ISSN 00029440. Dostupné z: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002944013006524

8. GRUZDEVA, Olga, Evgenya UCHASOVA, Yulia DYLEVA, Ekaterina BELIK, Victoria KARETNIKOVA, Alexander SHILOV a Olga BARBARASH, 2014. Multivessel coronary artery disease, free fatty acids, oxidized LDL and its antibody in myocardial infarction. *Lipids in Health and Disease* [online]. **13**(1) [cit. 2019-07-01]. DOI: 10.1186/1476-511X-13-111. ISSN 1476-511X. Dostupné z: http://lipidworld.biomedcentral.com/articles/10.1186/1476-511X-13-111

9. GUO, Xin, Mingming GAO, Yunan WANG, et al., 2018. LDL Receptor Gene-ablated Hamsters: A Rodent Model of Familial Hypercholesterolemia With Dominant Inheritance and Diet-induced Coronary Atherosclerosis. *EBioMedicine* [online]. **27**, 214-224 [cit. 2019-07-01]. DOI: 10.1016/j.ebiom.2017.12.013. ISSN 23523964. Dostupné z: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352396417304942

10. HÖRL, Gerd, Harald FROEHLICH, Ulrika FERSTL, et al., 2016. Simvastatin Efficiently Lowers Small LDL-IgG Immune Complex Levels: A Therapeutic Quality beyond the Lipid-Lowering Effect. *PLOS ONE* [online]. **11**(2) [cit. 2019-07-01]. DOI: 10.1371/journal.pone.0148210. ISSN 1932-6203. Dostupné z: https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0148210

11. IQBAL, Jahangir, Meghan T. WALSH, Samar M. HAMMAD a M. Mahmood HUSSAIN, 2017. Sphingolipids and Lipoproteins in Health and Metabolic Disorders. *Trends in Endocrinology & Metabolism* [online]. **28**(7), 506-518 [cit. 2019-06-10]. DOI: 10.1016/j.tem.2017.03.005. ISSN 10432760. Dostupné z: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1043276017300413

12. IVANOVA, Ekaterina A., Veronika A. MYASOEDOVA, Alexandra A. MELNICHENKO, Andrey V. GRECHKO a Alexander N. OREKHOV, 2017. Small Dense Low-Density Lipoprotein as Biomarker for Atherosclerotic Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [online]. **2017**, 1-10 [cit. 2019-04-05]. DOI:

10.1155/2017/1273042. ISSN 1942-0900. Dostupné z: https://www.hindawi.com/journals/omcl/2017/1273042/

13. JIN, Jing-Lu, Ye-Xuan CAO, Hui-Wen ZHANG, et al., 2019. Lipoprotein(a) and Cardiovascular Outcomes in Patients With Coronary Artery Disease and Prediabetes or Diabetes. *Diabetes Care* [online]. **42**(7), 1312-1318 [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.2337/dc19-0274. ISSN 0149-5992. Dostupné z: http://care.diabetesjournals.org/lookup/doi/10.2337/dc19-0274

14. KHATTARI, Ziad, 2017. A correlation between secondary structure and rheological properties of low-density lipoproteins at air/water interfaces. *Journal of Biological Physics* [online]. **43**(3), 381-395 [cit. 2019-07-01]. DOI: 10.1007/s10867-017-9458-3. ISSN 0092-0606. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/s10867-017-9458-3

15. KLEE, Eric W. a Michael T. ZIMMERMANN, 2019. Molecular modeling of LDLR aids interpretation of genomic variants. *Journal of Molecular Medicine* [online]. **97**(4), 533-540 [cit. 2019-07-01]. DOI: 10.1007/s00109-019-01755-3. ISSN 0946-2716. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/s00109-019-01755-3

16. MAIOLINO, Giuseppe, Giacomo ROSSITTO, Paola CAIELLI, Valeria BISOGNI, Gian Paolo ROSSI a Lorenzo A. CALÒ, 2013. The Role of Oxidized Low-Density Lipoproteins in Atherosclerosis: The Myths and the Facts. *Mediators of Inflammation* [online]. **2013**, 1-13 [cit. 2019-03-18]. DOI: 10.1155/2013/714653. ISSN 0962-9351. Dostupné z: http://www.hindawi.com/journals/mi/2013/714653/

17. MARANHÃO, Raul Cavalcante, Priscila Oliveira CARVALHO, Celia Cassaro STRUNZ a Fulvio PILEGGI, 2014. Lipoprotein (a): Structure, Pathophysiology and Clinical Implications. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* [online]. [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.5935/abc.20140101. ISSN 0066-782X. Dostupné z: http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/abc.20140101

18. MASOPUST, Jaroslav a Richard PRŮŠA, 2004. *Patobiochemie metabolických drah* [online]. 2. doplněné vydání. Praha: Univerzita Karlova [cit. 2019-06-26]. ISBN 80-238-4589-6. Dostupné z: http://dotdiag.cz/img/prednasky/metdrahy.pdf

19. MATSUZAWA, Yasushi a Amir LERMAN, 2014. Endothelial dysfunction and coronary artery disease. *Coronary Artery Disease* [online]. **25**(8), 713-724 [cit. 2019-07-01]. DOI: 10.1097/MCA.0000000000000178. ISSN 0954-6928. Dostupné z: http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00019501-201412000-00014

20. MEEUSEN, Jeffrey W., Leslie J. DONATO a Allan S. JAFFE. Lipid Biomarkers for Risk Assessment in Acute Coronary Syndromes. *Current Cardiology Reports* [online]. 2017, **19**(6) [cit. 2019-06-09]. DOI: 10.1007/s11886-017-0863-9. ISSN 1523-3782. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/s11886-017-0863-9

21. MURRAY, Robert K., 2002. *Harperova Biochemie*. 23. vyd., (4. české vyd.), v H & H 3. Jinočany: H & H. Lange medical book. ISBN 80-7319-013-3.

22. NICHOLS, Timothy C., Elizabeth P. MERRICKS, Dwight A. BELLINGER, et al., 2015. Oxidized LDL and Fructosamine Associated with Severity of Coronary Artery Atherosclerosis in Insulin Resistant Pigs Fed a High Fat/High NaCl Diet. *PLOS ONE* [online]. **10**(7) [cit. 2019-06-12]. DOI: 10.1371/journal.pone.0132302. ISSN 1932-6203. Dostupné z: https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0132302

23. OREKHOV, Alexander, Yuri BOBRYSHEV, Igor SOBENIN, Alexandra MELNICHENKO a Dimitry CHISTIAKOV, 2014. Modified Low Density Lipoprotein and Lipoprotein-Containing Circulating Immune Complexes as Diagnostic and Prognostic Biomarkers of Atherosclerosis and Type 1 Diabetes Macrovascular Disease. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. **15**(7), 12807-12841 [cit. 2019-04-01]. DOI: 10.3390/ijms150712807. ISSN 1422-0067. Dostupné z: http://www.mdpi.com/1422-0067/15/7/12807

24. ORSÓ, Evelyn a Gerd SCHMITZ, 2017. Lipoprotein(a) and its role in inflammation, atherosclerosis and malignancies. *Clinical Research in Cardiology Supplements*[online]. **12**(S1), 31-37 [cit. 2019-06-25]. DOI: 10.1007/s11789-017-0084-1. ISSN 1861-0706. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/s11789-017-0084-1

25. PAN, Lurong a Jere P. SEGREST, 2016. Computational studies of plasma lipoprotein lipids. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* [online]. **1858**(10), 2401-2420 [cit. 2019-07-01]. DOI: 10.1016/j.bbamem.2016.03.010. ISSN 00052736. Dostupné z: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0005273616300876

26. PARK, Jin Kyun, Jae-Yong KIM, Jin Young MOON, Eun Young AHN, Eun Young LEE, Eun Bong LEE, Kyung-Hyun CHO a Yeong Wook SONG, 2016. Altered lipoproteins in patients with systemic lupus erythematosus are associated with augmented oxidative stress: a potential role in atherosclerosis. *Arthritis Research & Therapy* [online]. **18**(1) [cit. 2019-07-01]. DOI: 10.1186/s13075-016-1204-x. ISSN 1478-6362. Dostupné z: http://arthritis-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13075-016-1204-x

27. PRABHUDAS, Mercy R., Cynthia L. BALDWIN, Paul L. BOLLYKY, et al., 2017. A Consensus Definitive Classification of Scavenger Receptors and Their Roles in Health and Disease. *The Journal of Immunology* [online]. **198**(10), 3775-3789 [cit. 2019-04-15]. DOI: 10.4049/jimmunol.1700373. ISSN 0022-1767. Dostupné z: http://www.jimmunol.org/lookup/doi/10.4049/jimmunol.1700373

28. QIN, Minghui, Lai WANG, Fuqiang LI, et al., 2017. Oxidized LDL activated eosinophil polarize macrophage phenotype from M2 to M1 through activation of CD36 scavenger receptor. *Atherosclerosis* [online]. **263**, 82-91 [cit. 2019-06-12]. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2017.05.011. ISSN 00219150. Dostupné z: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021915017302149

29. ROGNONI, Andrea, Chiara CAVALLINO, Alessia VEIA, et al., 2015. Pathophysiology of Atherosclerotic Plaque Development. *Cardiovascular & Hematological Agents in Medicinal Chemistry*[online]. **13**(1), 10-13 [cit. 2019-06-26]. DOI: 10.2174/1871525713666141218163425. ISSN 18715257. Dostupné z: http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1871-5257&volume=13&issue=1&spage=10

30. RUUTH, Maija, Su Duy NGUYEN, Terhi VIHERVAARA, et al., 2018. Susceptibility of low-density lipoprotein particles to aggregate depends on particle lipidome, is modifiable,

and associates with future cardiovascular deaths. *European Heart Journal* [online]. **39**(27), 2562-2573 [cit. 2019-07-01]. DOI: 10.1093/eurheartj/ehy319. ISSN 0195-668X. Dostupné z: https://academic.oup.com/eurheartj/article/39/27/2562/5049093

31. SOBENIN, Igor A., Jukka T. SALONEN, Andrey V. ZHELANKIN, Alexandra A. MELNICHENKO, Jari KAIKKONEN, Yuri V. BOBRYSHEV a Alexander N. OREKHOV, 2014. Low Density Lipoprotein-Containing Circulating Immune Complexes: Role in Atherosclerosis and Diagnostic Value. *BioMed Research International* [online]. **2014**, 1-7 [cit. 2019-06-12]. DOI: 10.1155/2014/205697. ISSN 2314-6133. Dostupné z: http://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/205697/

32. TROJAN, Stanislav, 2003. *Lékařská fyziologie*. Vyd. 4., přeprac. a dopl. Praha: Grada. ISBN 8024705125.

33. WALLENFELDT, K., B. FAGERBERG, J. WIKSTRAND a J. HULTHE, 2004. Oxidized low-density lipoprotein in plasma is a prognostic marker of subclinical atherosclerosis development in clinically healthy men. *Journal of Internal Medicine* [online]. **256**(5), 413-420 [cit. 2019-04-03]. DOI: 10.1111/j.1365-2796.2004.01402.x. ISSN 0954-6820. Dostupné z: http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2796.2004.01402.x

34. WILLIAMS, Paul T., Xue-Qiao ZHAO, Santica M. MARCOVINA, James D. OTVOS, B. Greg BROWN a Ronald M. KRAUSS, 2014. Comparison of four methods of analysis of lipoprotein particle subfractions for their association with angiographic progression of coronary artery disease. *Atherosclerosis* [online]. **233**(2), 713-720 [cit. 2019-06-12]. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2014.01.034. ISSN 00219150. Dostupné z: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021915014000604

35. YU, Xiaofei, Chunqing GUO, Paul B. FISHER, John R. SUBJECK a Xiang-Yang WANG, 2015. Scavenger Receptors. *Immunotherapy of Cancer* [online]. Elsevier, 2015, s. 309-364 [cit. 2019-04-19]. Advances in Cancer Research. DOI: 10.1016/bs.acr.2015.04.004. ISBN 9780128023167. Dostupné z: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065230X15000329

36. ZAKIEV, Emile, Igor SOBENIN, Vasily SUKHORUKOV, Veronika MYASOEDOVA, Ekaterina IVANOVA a Alexander OREKHOV, 2016. Carbohydrate composition of circulating multiple-modified low-density lipoprotein. *Vascular Health and Risk Management* [online]. **12**, 379-385 [cit. 2019-06-12]. DOI: 10.2147/VHRM.S112948. ISSN 1178-2048. Dostupné z: https://www.dovepress.com/carbohydrate-composition-of-circulating-multiple-modified-low-density--peer-reviewed-article-VHRM

37. ZHONG, Shanshan, Luxiao LI, Xia SHEN, Qiujing LI, Wenxin XU, Xiaoping WANG, Yongzhen TAO a Huiyong YIN, 2019. An update on lipid oxidation and inflammation in cardiovascular diseases. *Free Radical Biology and Medicine* [online]. [cit. 2019-04-18]. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2019.03.036. ISSN 08915849. Dostupné z: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0891584919302710