

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko – technologická

Význam profilu mastných kyselin membrán erytrocytů pro predikci onemocnění

Kateřina Rýznarová

Bakalářská práce

2021

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology

Impact of erythrocyte membrane fatty acid profiles for disease risk prediction

Kateřina Rýznarová

Bachelor Thesis

2021

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Kateřina Rýznarová**
Osobní číslo: **C18275**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Význam profilu mastných kyselin membrán erytrocytů pro predikci onemocnění**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

Seznamte se s výsledky klinických studií a zjistěte, které mastné kyseliny buněčných (především erytrocytárních) membrán jsou součástí signálních cest a jsou zapojeny v patogenezi kardiovaskulárních onemocnění se zaměřením na možné nové biomarkery rizika kardiovaskulárních onemocnění (příp. diabetu mellitu). U zjištěných mastných kyselin popište jejich působení v organismu. Provedte literární rešerši k této problematice, při vyhledávání literárních údajů využijte elektronické databáze Science Direct, NCBI Pubmed, Web of Science.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

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

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2020**
Termín odevzdání bakalářské práce: **2. července 2021**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 26. února 2021

Prohlašuji:

Práci s názvem Význam profilu mastných kyselin membrán erytrocytů pro predikci onemocnění 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., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, 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. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 14.7.2021

Kateřina Rýznarová

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucí mé bakalářské práce paní MUDr. Vladimíře Novákové Mužákové, Ph.D. za čas, který mně a mé práci věnovala, a podporu k jejímu dokončení v nelehké době pandemie. Velké poděkování také patří celé mé rodině, která mě při studiu vždy podporovala.

ANOTACE

Mastné kyseliny začleněné v membránách erytrocytů jsou značně stálé a poměrně dobře odráží profil mastných kyselin membrán buněk důležitých tkání, jako je například tkáň svalová, srdeční, tuková, nebo plicní. Přestože jednotlivé frakce membránových mastných kyselin jsou poměrně stálé, do určité míry jsou ovlivněny probíhajícím metabolismem mastných kyselin a výměnou mastných kyselin mezi membránami a plazmou. Mastné kyseliny jsou z fosfolipidů buněčných membrán uvolňovány a mimo jiné slouží i jako signální molekuly, především jako mediátory rezoluce zánětu i zánětlivé reakce, a mohou být zapojeny v patogenezi kardiovaskulárních onemocnění nebo *diabetes mellitus* 2. typu.

KLÍČOVÁ SLOVA

Membrána, mastné kyseliny, signální cesty, ateroskleróza

TITLE

Impact of erythrocyte membrane fatty acid profiles for disease risk prediction

ANNOTATION

The fatty acids incorporated in erythrocyte membranes are quite stable and relatively well reflect the fatty acid profile on the cell membranes of important tissues, such as muscle, heart, adipose, or lung tissue. Although the individual membrane fatty acid fractions are relatively stable, they are also affected to some extent by ongoing fatty acid metabolism and fatty acids exchange between membranes and plasma. Fatty acids are released from cell membrane phospholipids and, among other things, serve as signaling molecules, especially as mediators of inflammatory resolution and inflammatory responses, and may be involved in the pathogenesis of cardiovascular disease or type 2 diabetes mellitus.

KEYWORDS

Membrane, fatty acids, signaling pathway, atherosclerosis

OBSAH

0	Úvod.....	13
1	Buněčná membrána.....	14
1.1	Membránové lipidy	15
1.2	Membránové proteiny	16
1.3	Fluidita membrány	16
2	Lipidy.....	17
2.1	Mastné kyseliny	17
2.1.1	Fyzikálně chemické vlastnosti	17
2.1.2	Syntéza MK	17
2.1.3	Stanovení mastných kyselin v membránách erytrocytů	18
2.1.4	Oxidační stres	19
3	Nasyčené mastné kyseliny	21
3.1	<i>Toll-like</i> receptory	22
3.2	Aktivace NF- κ B faktoru.....	25
4	Nenasycené mastné kyseliny	27
4.1	<i>Cis</i> -mononenasyčené mastné kyseliny	27
4.2	<i>Trans</i> -mononenasyčené mastné kyseliny	29
4.3	Polynenasycené mastné kyseliny	33
4.3.1	ω -3 polynenasycené kyseliny.....	33
4.3.2	ω -6 polynenasycené mastné kyseliny	36
4.3.3	Eikosanoidy	37
4.4	Role mastných kyselin při zánětu a kardiovaskulárních onemocněních.....	39
4.4.1	Ateroskleróza	40
4.4.2	<i>Diabetes mellitus</i> 2. typu	47
5	Závěr	50
6.	Literární zdroje	51

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Oxidační stres (převzato z (19)).....	20
Obrázek 2: Schéma signalizačních drah <i>toll-like</i> receptorů (převzato z (31)).....	25
Obrázek 3: Mechanismus účinku NF- κ B při aterogenezi (převzato z (35)).....	26
Obrázek 4: Zastoupení trans kyselin z celkového příjmu mastných kyselin (převzato z (36))	30
Obrázek 5: Vliv ω -3 mastných kyselin na zánět (převzato z (23)).....	34
Obrázek 6: Metabolická konverze ω -3 a ω -6 mastných kyselin (převzato z (23)).....	35
Obrázek 7: Účinek angiotensinu (převzato z (35)).....	41
Obrázek 8: Mechanismus průběhu aterosklerózy (převzato z (35)).....	42
Obrázek 9: Dysfunkce endotelu (převzato z (35)).....	45
Obrázek 10: Průřez arterií znázorňující progresi aterosklerózy (převzato z (35))	46
Obrázek 11: Rozvoj <i>diabetes mellitus</i> 2. typu (převzato z (74))	48

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Přehled nasycených mastných kyselin	21
Tabulka 2: Exprese TLR na buňkách imunitního systému (vytvořeno z (24))	23

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

• OH	Hydroxylový radikál
AA	Kyselina arachidonová (z angl. <i>arachidonic acid</i>)
ACE	Angiotensin konvertující enzym
ALA	Kyselina α -linolenová (z angl. <i>α-linolenic acid</i>)
Apo	Apolipoprotein
AT	Angiotensinový receptor
CD14	Diferenciační skupina 14 (z angl. <i>cluster of differentiation 14</i>)
CoA	Koenzym A
COX	Cyklooxygenáza
CRP	C-reaktivní protein
CYP	Cytochrom P450
CyPG	Cyklopentanové prostaglandiny
DAMPs	Molekulární vzory spojené s poškozením (z angl. <i>damage-associated molecular patterns</i>)
DGLA	Dihomo- γ -linolenová kyselina (z angl. <i>dihomo-γ-linolenic acid</i>)
DHA	Kyselina dokosaheptaenová (z angl. <i>docosahexaenoic acid</i>)
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
EET	Epoxyeikosatrienová kyselina (z angl. <i>epoxyeicosatrienoic acids</i>)
EPA	Kyselina eikosapentaenová (z angl. <i>eicosapentaenoic acid</i>)
FFA	Volné mastné kyseliny (z angl. <i>free fatty acids</i>)
FFAR	Receptory volných mastných kyselin (z angl. <i>free fatty acids receptors</i>)
FMD	Průtokem zprostředkovaná vazodilatace (z angl. <i>flow-mediated vasodilation</i>)
GLA	Kyselina γ -linolenová (z angl. <i>γ-linolenic acid</i>)
GLUT-4	Receptor pro glukózu
GPR	Receptor spřažený s G proteinem
HDL	Lipoprotein o vysoké hustotě (z angl. <i>high density lipoprotein</i>)
ICHS	Ischemická choroba srdeční
IKK $\alpha/\beta/\gamma$	Jednotlivé podjednotky inhibitorového proteinu: alfa/beta/gama
IL-1Ra	Antagonista receptoru pro interleukin 1

IL	Interleukin
IRF	Interferonový regulační faktor 3 (z angl. <i>interferon regulatory factor 3</i>)
I κ B	Inhibitorový protein
KVO	Kardiovaskulární onemocnění
LA	Kyselina linolová (z angl. <i>linoleic acid</i>)
LDL	Lipoproteiny s nízkou hustotou (z angl. <i>low density lipoproteins</i>)
LOX	Lipoxygenáza
Lp-PLA2	Fosfolipáza A2 spojená s lipoproteinem (z angl. <i>lipoprotein-associated phospholipase A2</i>)
LPS	Lipopolysacharidy
LT	Leukotrien
LXR	Jaterní X receptor (z angl. <i>liver X receptor</i>)
MCP-1	Monocytový chemoatraktant-protein 1
MD2	Faktor myeloidní diferenciacce 2
MDA	Malondialdehyd
MK	Mastná kyselina
MUFA	Mononenasyčené mastné kyseliny (z angl. <i>monounsaturated fatty acids</i>)
MyD88	Myeloidní diferenciacční primární odpověď 88
NADH	Nikotinamidadeninukleotid
NADPH	Nikotinamidadeninukleotidfosfát
NF- κ B	Jaderný faktor κ B (z angl. <i>nuclear factor-κB</i>)
NIDDM	Non-inzulín-dependentní <i>diabetes mellitus</i>
NO	Oxid dusnatý
NOS	NO-syntáza
OA	Kyselina olejová (z angl. <i>oleic acid</i>)
PAI-1	Inhibitor plazmonigenového aktivátoru
PAMPs	Molekulární vzory spojené s patogenem (z angl. <i>pathogen-associated molecular patterns</i>)
PC	Fosfatidylcholin
PE	Fosfatidylethanolamin
PG	Prostaglandin

PGI	Prostacykliny
PI	Fosfatidylinositol
PPARs	Receptor aktivovaný proliferátorem peroxizomů (z angl. <i>peroxisome proliferator-activated receptor</i>)
PRR	Receptory rozeznávající molekulové vzory (z angl. <i>pattern recognition receptor</i>)
PS	Fosfatidylserin
PUFA	Polynenasycené mastné kyseliny (z angl. <i>polyunsaturated fatty acids</i>)
RONS	Reaktivní formy kyslíku a dusíku (z angl. <i>reactive oxygen and nitrogen species</i>)
SAA	Sérový amyloid A
sdLDL	Malý denzní lipoprotein o nízké hustotě (z angl. <i>small dense low density lipoprotein</i>)
SFA	Nasycené mastné kyseliny (z angl. <i>saturated fatty acids</i>)
SM	Sfingomyelin
SPMs	Specializované protizánětlivé sloučeniny (z angl. <i>specialized pro-resolving mediators</i>)
SREBP	Transkripční faktor SREBP (z angl. <i>sterol response element binding protein</i>)
T ₂ DM	<i>Diabetes mellitus</i> 2. typu (z angl. <i>type 2 diabetes mellitus</i>)
TAG	Triacylglycerol
TFA	<i>Trans</i> -nenasycené mastné kyseliny (z angl. <i>trans-fatty acids</i>)
TIR	<i>Toll</i> interleukinový receptor (z angl. <i>toll-interleukin receptor</i>)
TLR	<i>Toll</i> -like receptor
TNF	Tumor nekrotizující faktor
TRAM	Membránový protein spojený s translokačním řetězcem (z angl. <i>translocating chain-associated membrane protein</i>)
TRIF	TIR doména obsahující adaptér včetně interferonu β (z angl. <i>TIR-domain containing adapter including interferon β</i>)
Tx	Tromboxan
VLDL	Lipoproteiny s velmi nízkou hustotou (z angl. <i>very low density lipoprotein</i>)
WHO	Světová zdravotnická organizace (z angl. <i>world health organisation</i>)

0 ÚVOD

Mastné kyseliny jsou nedílnou součástí lidského organismu. Jsou součástí například glykolipidů, lipoproteinů a složených lipidů, především fosfolipidů, které jsou klíčovou složkou všech buněčných membrán. Mastné kyseliny mají důležitou roli v signálních drahách, kde dokážou zprostředkovat aktivaci *toll-like* receptorů a podílet se tak na vzniku zánětu, který je predispoziční pro řadu onemocnění. Kardiovaskulární onemocnění, zejména ischemická choroba srdeční, jsou v rozvinutých zemích vnímány jako civilizační choroby, a jsou nejčastější příčinou úmrtí lidí středního věku. Nejfrekventovanějším patologickým mechanismem ischemické choroby srdeční je ateroskleróza, na níž se významně podílí přetrvávající systémová zánětlivá reakce. Na rezoluci zánětu se podílí řada faktorů, mezi jinými i mediátory odvozené od mastných kyselin uvolněných z buněčných membrán.

1 BUNĚČNÁ MEMBRÁNA

Buněčné membrány sdílejí společnou strukturní organizaci: dvojvrstvy fosfolipidů s přidruženými proteiny. Membránu tvoří z 50 % proteiny, z 40 % lipidy a z 10 % sacharidy (1). Základem membrány, např. erytrocytů, je dvourozměrná struktura složená z lipidové dvojvrstvy a cytoskeletu, přičemž směrem dovnitř může neomezeně pronikat voda a některé anionty, ale zároveň membrána zabraňuje úniku kationtů a bílkovin z buňky ven (2). Směrem do nitra buňky se navazují proteiny, které jsou k membráně přichyceny a tvoří síťovitý membránový skelet. Hlavní součástí erytrocytu jsou kontraktilní proteiny (spektrin, aktin, ankyrin), zodpovídající za možnost deformace při průchodu kapilárami, kdy erytrocyt musí svou velikost zmenšit pod 2 μm . V membráně můžeme nalézt také selektivní kanály a pumpy tvořené proteiny, umožňující import a export specifických látek.

Na membráně rozlišujeme:

1. Vnitřní stranu – napomáhá udržet tvar erytrocytu, jsou k ní fixovány kontraktilní bílkoviny,
2. Vnější stranu – jsou v ní uloženy integrální molekuly glykoproteinů a glykolipidů, které jsou nositeli antigenních vlastností červených krvinek.

Cytoskelet je k lipidové dvojvrstvě připoután imobilními proteiny na vazebných místech spektrinu – ankyrinu a prostřednictvím glykoforinu v aktinových spojovacích komplexech. Struktura cytoskeletu je hlavní faktor udávající tvar, sílu a flexibilitu. Pomáhá taktéž udržovat organizaci lipidů a integrálních proteinů, jejich lokalizaci a pohyblivost (3). Vlastnosti membrány závisí na skladbě fosfolipidů – čím větší počet nenasycených mastných kyselin dvojvrstva má, tím více se podobá gelu. Interakce mezi kratšími řetězci mastných kyselin jsou slabší než interakce mezi delšími řetězci, tudíž membrány obsahující kratší řetězce mastných kyselin jsou méně tuhé a zůstávají tekuté i při nižších teplotách. Lipidy obsahující nenasycené mastné kyseliny zvyšují tekutost membrány, protože přítomnost dvojných vazeb zavádí smyčky do řetězců mastných kyselin, což ztěžuje jejich vzájemné zabalení (1).

Membrána červené krvinky je nejen elastická, ale i pevná a značně vnímavá. Téměř okamžitě je schopna reagovat na změny v okolním prostředí (povrchové napětí, koncentrace). Při narušení membrány, kdy dojde ke ztrátě části lipidové dvojvrstvy, se snižuje její schopnost deformace.

1.1 Membránové lipidy

Lipidová část membrány obsahuje miliony lipidových molekul, které jsou amfipatické. Ocasy mastných kyselin jsou špatně rozpustné ve vodě a fosfolipidy tudíž spontánně vytvářejí ve vodě dvojvrstvy. Hydrofobní ocasy jsou uloženy uvnitř membrány a skupiny polárních hlav jsou vystaveny na obou stranách membrány ve styku s vodou. Takovéto dvojvrstvy tvoří stabilní bariéru mezi dvěma oddíly a představují základní strukturu všech biologických membrán (1). Dvojvrstva je složena z ekvivalentního množství cholesterolu a fosfolipidů.

Fosfolipidy jsou deriváty odvozené od kyseliny fosfatidové, na kterou se váží jednotlivé substituenty. Dle typu navázaného substituentu fosfolipidy dále dělíme. Kyselina fosfatidová má dvě vazebné polohy pro mastné kyseliny. V poloze sn-1 se váží nasycené kyseliny a v poloze sn-2 nenasyčené mastné kyseliny. Mezi lipidy nacházejícími se v lidském erytrocytu řadíme zejména fosfatidylcholin (PC) a sfingomyelin (SM), které jsou lokalizovány na vnější straně membrány. Fosfatidylcholin se skládá z molekuly cholinu připojené k fosfátu v hydrofilní hlavě a dvou uhlovodíkových řetězců mastných kyselin představujících hydrofobní konce. Na straně vnitřní je pak umístěn fosfatidylethanolamin (PE), fosfatidylserin (PS) a fosfatidylinositol (PI). Významným rysem je, že jednotlivé fosfolipidy jsou distribuovány asymetricky a cholesterol je rozložen symetricky. Asymetrická distribuce fosfolipidů má funkční význam, jelikož jak fosfatidylserin, tak fosfatidylinositol interagují s kosterními proteiny spektrinem a proteinem 4.1R, čímž ukotvují skeletální síť ke dvojvrstvě. Ztráta lipidové asymetrie vede k translokaci fosfatidylserinu z vnitřní do vnější monovrstvy s následným rozpoznáním a fagocytózou makrofágy (4).

Propustnost cytoplazmatické membrány závisí na zastoupení mastných kyselin ve fosfatidylcholinu. Pokud převládá zastoupení nenasyčených mastných kyselin, dojde k ohybu řetězce a na membránu nasedající fosfolipidy nejsou v těsné blízkosti, díky čemuž dojde k vyšší propustnosti. Pokud je v molekule větší zastoupení nasycených mastných kyselin, propustnost membrány je nižší (5). Neesterifikované mastné kyseliny jsou za fyziologických podmínek v plazmě přítomny pouze v menších koncentracích (0,5 – 1,0 mmol/l). Zvýšená koncentrace neesterifikovaných mastných kyselin je toxická, protože ovlivňuje plazmatické membrány a vede k arytmiím či trombogenezi. Spolu se zvýšenou koncentrací glukózy může neesterifikovaná mastná kyselina zapříčinit zahájení a rozvoj endotelové dysfunkce (6).

1.2 Membránové proteiny

Současný model membránové struktury, jež navrhl Jonathan Singer a Garth Nicolson v roce 1972, považuje membrány za tekutou mozaiku, ve které jsou proteiny vloženy do lipidové dvojvrstvy. Membránové fosfolipidy, poskytující základní strukturní organizaci membrán, působí jako rozpouštědlo pro membránové proteiny a vytváří tak pro ně vhodné prostředí, kde mohou fungovat a vykonávat své specifické funkce. Počet různých typů proteinů v membráně se pohybuje k více než jednomu stu. Proteiny představují enzymy, přenašeče, strukturní proteiny, antigeny a receptory nejrůznějších molekul. Jelikož každá membrána obsahuje jiné zastoupení proteinů, nelze hovořit o typické membránové struktuře (7).

1.3 Fluidita membrány

Jednou z nejdůležitějších vlastností lipidové dvojvrstvy je fluidita neboli tekutost, která je kritickou vlastností membrán. Fluidita membrány je dána několika faktory: typem cholesterolu (volný, esterifikovaný), třídou fosfolipidů, poměrem cholesterolu a fosfolipidů, stupněm nasycení mastných kyselin a délkou uhlíkových řetězců. V lipidových dvojvrstvách se jednotlivé molekuly (lipidy i proteiny) mohou volně otáčet a pohybovat v bočních směrech.

Stabilita membrány se zvyšuje přítomností specifických molekul, jako je cholesterol a specifické proteiny. Čím vyšší je obsah specifických molekul, tím nižší je tekutost membrány. Dalším faktorem, který ovlivňuje tekutost membrány, je stupeň nasycení mastných kyselin, s kterým souvisí prostorové uspořádání nenasyčených molekul. U mastných kyselin, které obsahují minimálně jednu dvojnou vazbu, můžeme pozorovat rozdílnou geometrickou izomerii – *cis* a *trans*. Tyto izomery určují biologickou účinnost dané mastné kyseliny a případně i rychlost, jakou je daná mastná kyselina odbourávána (5). Nenasycené molekuly mastných kyselin v *cis* konfiguraci zabírají větší prostor, čímž zvyšují tekutost membrány. V živých systémech nalézáme převážně toto uspořádání. Naproti tomu nasycené mastné kyseliny (z angl. *saturated fatty acids*, SFA), nebo nenasyčené mastné kyseliny v *trans* konfiguraci, tekutost membrány snižují, jelikož jejich řetězce jsou rovné a zabírají méně prostoru. Molekuly v *trans* uspořádání se v přírodě téměř nevyskytují. Ve vyšším množství je můžeme pozorovat v tucích, které zastávají funkci zásobárny energie a tepelného izolátoru. Spolu s růstem fluidity membrány roste i permeabilita pro vodu a malé hydrofilní molekuly (8) (9).

2 LIPIDY

Tuky plní řadu důležitých funkcí. Jsou nezbytnou součástí buněčných membrán, výchozí látkou umožňující vstřebávání vitamínů A, D, E a K, tepelnou i mechanickou ochranou a základním stavebním kamenem pro nervové buňky. Z chemického hlediska hovoříme o esterech vyšších karboxylových mastných kyselin a alkoholu, nejčastěji glycerolu.

2.1 Mastné kyseliny

Mastné kyseliny jsou monokarboxylové kyseliny s dlouhými, většinou sudými, uhlíkovými řetězci. V organismu se syntetizují z uhlovodíkových zbytků s dvěma uhlíky. Jsou to lineární řetězce o různých délkách, většinou se však vyskytují s počtem 14 – 20 uhlíků. V řetězci mastné kyseliny můžeme pozorovat rozdílný počet dvojných vazeb, ale všechny mají typickou RCOOH strukturu a ve volné přírodě se vyskytují pouze vzácně. Strukturu můžeme vyjadřovat číselně, kdy v závorce uvádíme nejprve počet uhlíků a po dvojtečce počet dvojných vazeb v celém řetězci. Jednotlivé uhlíky, směrem od karboxylové kyseliny, se označují písmeny řecké abecedy (α , β , γ , ...), nebo čísla (1, 2, 3, ...).

2.1.1 Fyzikálně chemické vlastnosti

Teplota tání mastných kyselin se zvyšuje s délkou uhlovodíkového řetězce a klesá s počtem dvojných vazeb. Ve zředěných roztocích jsou mastné kyseliny přítomny jako monomery, ve vyšších koncentracích tvoří micely. Koncentrace, nad kterou se sdružují do micel, se nazývá kritická micelární koncentrace (10). Lipidy v membráně musejí pro zachování správné funkčnosti zůstat tekuté i při běžné změně teploty okolí, proto obsahují větší podíl nenasycených mastných kyselin než zásobní tuky, u kterých je naopak určitý stupeň tuhosti při dané teplotě žádoucí (10) (11).

2.1.2 Syntéza MK

Syntéza mastných kyselin je proces, ke kterému dochází v cytoplazmě hepatocytů nebo v tukové tkáni. Uskutečňuje se ve vazbě na multienzymový komplex. Tím je útvar složený z šesti jednotlivých enzymů, které jsou vzájemně vázány tak, že je těžké je od sebe oddělit a výsledkem jejich sofistikovaného uspořádání je rychlý a účinný vznik konečného produktu (12). Pro zahájení syntézy je nutný přísun acetyl-CoA (6). Proces syntézy probíhá pouze do délky řetězce 16 uhlíků (palmitát). K elongaci, prodlužování řetězce, poté dochází ve strukturách endoplazmatického retikula, nebo na vnější membráně mitochondrií. Ve strukturách endoplazmatického retikula je donorem dvouuhlíkatých zbytků malonyl-CoA a koenzymem je NADPH. V mitochondriích je donorem dvouuhlíkatých zbytků acetyl-CoA a

reakce prodloužení jsou zrcadlovým sledem reakcí β -oxidace. Donorem vodíku může být NADH i NADPH (12). Pomocí desaturáz, které do řetězce zavádí dvojně vazby, mohou být vzniklé kyseliny převedeny na nenasycené (13). U živočichů se nalézají $\Delta 9$, $\Delta 6$, $\Delta 5$ a $\Delta 4$ desaturázy, které umožňují zavedení dvojně vazby za polohu 9. Díky tomu nemohou být $\omega-6$ a $\omega-3$ polynenasycené mastné kyseliny syntetizovány *de novo*, ale musejí být přijímány potravou (13).

2.1.3 Stanovení mastných kyselin v membránách erytrocytů

Mastné kyseliny je možné stanovit v plazmě, séru, v jednotlivých lipidových frakcích, mezi které řadíme triacylglyceroly (TAG), estery cholesterolu, fosfolipidy a volné mastné kyseliny, nebo můžeme stanovovat koncentraci mastných kyselin v membránách erytrocytů. Na rozdíl od stanovení v lipidových frakcích, má membrána téměř stálou koncentraci mastných kyselin a není tak ovlivňována příjmem tuků ze stravy a odráží dlouhodobý stav mastných kyselin v organismu. Využití erytrocytů pro stanovení koncentrace slouží zejména při studiu patogenetických mechanismů ischemické choroby srdeční, a to díky faktu, že odráží profil mastných kyselin membrán buněk důležitých orgánů, jako jsou buňky srdce, endotelu, plic, svalů, či tukových buněk (14). Díky novodobým výzkumům je stále jasnější, že profil mastných kyselin v membránách je regulován jejich endogenním metabolismem, a příjem a začlenění mastných kyselin do periferních tkání je ovlivněn mnoha faktory, například genetikou, věkem, pohlavím, ale také oxidačním stresem (15).

Stanovení koncentrace mastných kyselin je poměrně složitý proces, kterému předchází separace membrán, extrakce lipidů a derivatizace neboli chemická modifikace analytu, která vede ke vzniku nové látky mající vhodnější vlastnosti pro separaci s následnou detekcí. Díky rozdílným počtům erytrocytů u různých jedinců, se výsledky vztahují na 1 g hemoglobinu, vyseparovaného z primárního vzorku. Kvantifikace jednotlivých mastných kyselin probíhá na plynovém chromatografu s plamenově ionizačním detektorem. Retenční časy výsledného záznamu z detektoru se porovnávají s retenčním časem standardu, kterým je roztok methyl esterů mastných kyselin. Přes výpočet vnitřního *response* faktoru se dle vzorce dopočítávají koncentrace mastných kyselin, které se následně přepočtou na gram hemoglobinu.

2.1.4 Oxidační stres

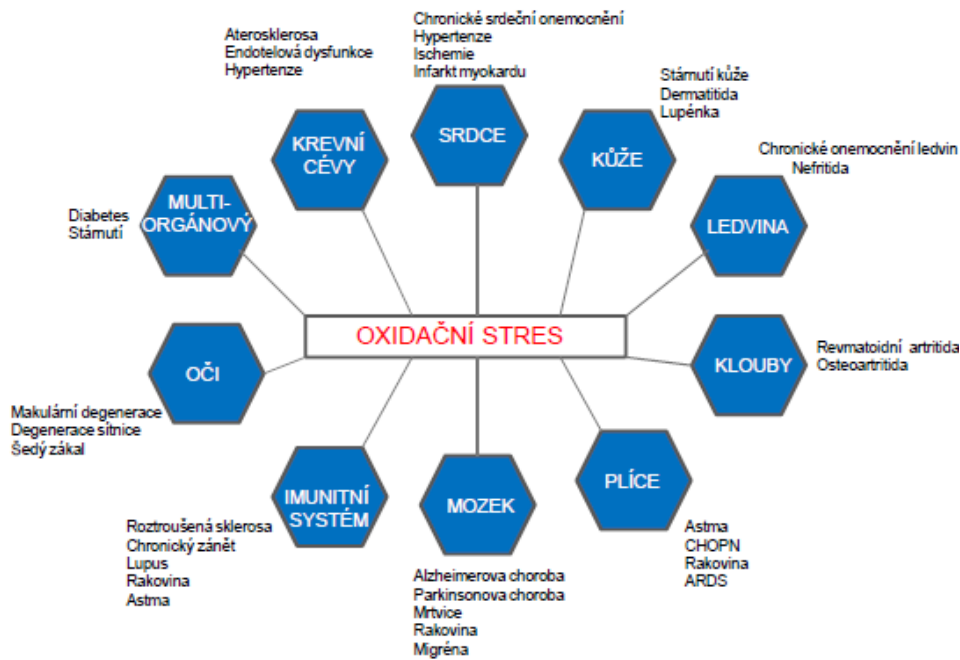
Reaktivní formy kyslíku a dusíku – RONS, jsou produkovány nespočtem endogenních a exogenních procesů, a proti jejich negativním účinkům působí antioxidační mechanismy, které je neutralizují. Oxidační stres nastává, pokud dojde k nerovnováze mezi produkcí RONS a antioxidantů. Je značně nezávislý na zánětlivém procesu. V důsledku nadbytku reaktivních forem kyslíku (ROS), dochází k oxidační modifikaci buněčných makromolekul, mezi které řadíme sacharidy, proteiny, DNA a lipidy. Na rozvoji kardiovaskulárních onemocnění se ze zmíněných makromolekul nejvíce podílejí oxidační modifikace lipidů (16).

Lipoperoxidaci jde popsat jako děj, při kterém volné radikály, tzv. oxidanty, napadají lipidy obsahující alespoň jednu dvojnou vazbu mezi uhlíky, zejména pak polynenasycené mastné kyseliny. Mezi cíle poškození peroxidační modifikací řadíme glykolipidy, fosfolipidy nebo cholesterol. Za subtoxických podmínek, kdy je peroxidace lipidů fyziologická nebo velmi nízká, jsou buňky schopny přežít pomocí antioxidačních obranných systémů, nebo pomocí aktivace signálních drah, které zvýší koncentraci antioxidačních proteinů, a tak se na stresovou situaci adaptují. Naopak při nadměrné oxidaci dochází k poškození vyrovnávací opravné kapacity buňky, a ta pak indikuje apoptózu či nekrózu. V důsledku obou těchto procesů dojde k poškození buněk a možnému rozvoji patologických stavů.

Malondialdehyd (MDA) se používá jako biomarker pro stanovení míry oxidačního stresu ω -3 a ω -6 polynenasycených mastných kyselin pomocí reakce s kyselinou thiobarbiturovou za vzniku intenzivně červené modifikace. MDA vzniká jako sekundární produkt kyseliny arachidonové či jiné polynenasycené mastné kyseliny enzymatickým nebo neenzymatickým oxidačním procesem. Pokud vzniká enzymaticky, působí jako signální posel schopný regulovat genovou expresi. Pokud ovšem vzniká neenzymatickými procesy za stresových podmínek, má vysokou schopnost reagovat s proteiny, které podléhají modifikaci a mohou zapříčinit poškození a mutaci DNA (17).

Oxidační stres je v chorobných podmínkách vnímán jako komplikace. Mezi frekventované nemoci spojené s oxidačním stresem patří maligní onemocnění, *diabetes mellitus*, spánková apnoe, infekce virem lidské imunodeficiency (HIV), chronický zánět, ischemicko – reperfuční poškození nebo ateroskleróza. Obecně můžeme roli oxidačního stresu na výše zmíněné patologické stavy rozdělit do dvou kategorií. První kategorie, kam spadá *diabetes mellitus* a rakovina, obvykle vykazuje prooxidační posun v systémovém redoxním stavu thiol/disulfid a zhoršenou clearance glukózy, což naznačuje, že mitochondrie kosterního svalstva mohou být

hlavním místem zvýšené produkce ROS. Obecně můžeme stav nazvat jako mitochondriální oxidační stres. Druhou kategorií označujeme jako zánětlivé oxidační podmínky, jelikož je spojena s nadměrnou stimulací aktivity NAD(P)H oxidázy cytokiny nebo jinými látkami. V tomto případě jsou zvýšené hladiny ROS, nebo změny intracelulárního glutathionu spojeny s patologickými změnami, jako je deregulace signálních kaskád nebo genová exprese (18).



Obrázek 1: Oxidační stres (převzato z (19))

3 NASYCENÉ MASTNÉ KYSELINY

Mastné kyseliny mohou být rozděleny do skupin s ohledem na jejich strukturu, fyziologickou roli nebo biologické účinky. Obecně je lze rozdělit na nasycené a nenasycené, které se dále větví dle počtu dvojných vazeb ve svém řetězci, a to na mononenasycené (MUFA, z angl. *monounsaturated fatty acids*) a polynenasycené (PUFA, z angl. *polyunsaturated fatty acids*). Kyseliny můžeme také rozdělit v závislosti na délce jejich uhlíkového řetězce na mastné kyseliny s krátkým, středně dlouhým, dlouhým a velmi dlouhým řetězcem, nebo v závislosti na možnosti syntetizovat mastné kyseliny *de novo* na esenciální a neesenciální (20).

Tabulka 1: Přehled nasycených mastných kyselin

Počet uhlíků	Systematický název	Triviální název
C4	Butanová	Máselná
C6	Hexanová	Kapronová
C8	Oktanová	Kaprylová
C10	Dekanová	Kaprinová
C12	Dodekanová	Laurová
C14	Tetradekanová	Myristová
C16	Hexadekanová	Palmitová
C18	Oktadekanová	Stearová
C20	Eikosanová	Arachová
C22	Dokosanová	Behenová

Volné mastné kyseliny (z angl. *free fatty acids*, FFA), slouží nejen jako zdroje energie, ale i jako ligandy pro skupiny receptorů spojených s G–proteinem, tzv. receptory volných mastných kyselin (z angl. *free fatty acids receptor*, FFAR). V dnešní době je rozpoznáno a charakterizováno několik receptorů volných mastných kyselin, které jsou aktivovány volnými mastnými kyselinami o různých délkách řetězce. Spadají sem GPR receptory (z angl. *G protein–coupled receptors*), například FFAR1 (GPR40) a FFAR4 (GPR120), které jsou aktivovány nasycenými i nenasycenými mastnými kyselinami se středním i dlouhým řetězcem, například kyselinou myristovou. K aktivaci receptorů je nutná určitá koncentrace dané mastné kyseliny, přičemž má vliv i afinita k danému ligandu. Např. kyselina myristová aktivací FFAR1 způsobuje zvýšení sekrece inzulinu, jelikož se receptor nachází na β buňkách pankreatu, střevních sliznicích, imunitních buňkách, buňkách centrálního nervového systému a chuťových buňkách. Aktivací FFAR4 stimuluje růst tukové tkáně. FFAR4 receptor se nachází na povrchu buněk střevní sliznice, imunitních buněk, buněk slinivky břišní a na

povrchu adipocytů. FFAR2 (GPR43) a FFAR3 receptory (GPR41) jsou aktivovány mastnými kyselinami s krátkým řetězcem, zejména acetátem a propionátem (21).

Pokusy na myších naznačily propojení mezi střevní mikroflórou a diabetem 1. typu, kdy FFAR 2 hraje roli v progresi tohoto onemocnění. Neobézní diabetické myši s nedostatkem FFAR2 vykazovaly zvýšený zánět β ostrůvků, což naznačuje, že FFAR2 je odpovědná molekula za ochranu β buněk pankreatu (21). Mastné kyseliny jsou propojeny s metabolickými cestami podporujícími abnormální hromadění lipidů (*steatózu*) v buňkách parenchymových orgánů, a taktéž stimulují signální dráhy *toll-like* receptoru 2 (TLR2) a *toll-like* receptoru 4 (TLR4) (22).

Nasyčené mastné kyseliny se sudým počtem uhlíků se účastní metabolismu lipidů, a to ve vazbě na transkripční faktor SREBP (z angl. *sterol response element binding protein*) a LXR (z angl. *liver X receptor*). Oba transkripční faktory jsou exprimovány v makrofázích. Prozánětlivé fenotypy M1 makrofágů, produkující zánětlivé cytokiny, například interferon γ , IL-1 β , IL-6 nebo TNF- α , korelují s aktivovaným SREBP faktorem. Pokud jsou nasyčené mastné kyseliny v nadbytku, může dojít k dysfunkci mitochondrií, což podporuje transformaci v M1 fenotyp. Do procesu se zapojuje též LXR, jelikož je regulujícím faktorem transportu lipidů z makrofágů. Současně s nadměrnou regulací LXR přichází *down-regulace* NF- κ B faktoru. (23) Prozánětlivý účinek kyseliny myristové se projevuje *up-regulací* transkripčního faktoru NF- κ B pomocí *toll-like* receptoru 2 a 4 (23).

3.1 *Toll-like* receptory

Toll-like receptory (TLR) jsou proteiny, patřící do skupiny transmembránových receptorů typu I. Díky odlišné lokalizaci v buňce je lze rozdělit na dvě podskupiny, *toll-like* receptory na buněčném povrchu a intracelulární *toll-like* receptory. Obě podskupiny reagují na přítomnost patogenních molekul (z angl. *pattern recognition receptor*, PPR) jako jsou PAMPs (z angl. *pathogen-associated molecular patterns*) a DAMPs (z angl. *damage (danger)-associated molecular patterns*).

DAMPs jsou endogenní molekuly, které se uvolňují z těla vlastních, poškozených nebo umírajících buněk, a aktivují vrozený imunitní systém. Přestože přispívají k obraně hostitele, jsou považovány za patogenní při zánětlivých onemocnění, například při ateroskleróze. Naproti tomu PAMPs molekuly jsou typické pro povrch patogenních mikroorganismů (24) (25).

Celkem je známo 13 druhů *toll-like* receptorů, přičemž u lidí se vyskytuje pouze prvních 10 z nich. Mezi receptory umístěné na povrchu buněk se zahrnují TLR–1, TLR–2, TLR–4, TLR–5, TLR–6 a TLR–10 receptory, a mezi intracelulární, vyskytující se v endozomu, spadají receptory TLR–3, TLR–7, TLR–8 a TLR–9. K prezentování jednotlivých receptorů dochází na vrozených imunitních buňkách, nebo na buňkách neimunitních (viz tabulka č.1). Podle typu přítomného *toll-like* receptoru na buňce, se odvíjí jeho specifický význam v organismu (24).

Tabulka 2: Exprese TLR na buňkách imunitního systému (vytvořeno z (24))

<i>Toll-like</i> receptor	Buňky imunitního systému
TLR–1	Většina typů buněk včetně buněk dendrických a B–lymfocytů
TLR–2	Periferní mononukleární leukocyty, dendrické buňky, monocyty, T–lymfocyty
TLR–3	Dendrické buňky, T–lymfocyty
TLR–4	Makrofágy, dendrické buňky, T–lymfocyty
TLR–5	Monocyty, dendrické buňky, T–lymfocyty
TLR–6	B–lymfocyty, dendrické buňky, monocyty
TLR–7	B–lymfocyty, dendrické buňky, T–lymfocyty
TLR–8	Monocyty, dendrické buňky, T–lymfocyty
TLR–9	Dendrické buňky, B–lymfocyty, periferní mononukleové leukocyty, makrofágy
TLR–10	Dendrické buňky

Každý *toll-like* receptor se skládá z extracelulární C–terminální domény bohaté na leucinové repetice (z angl. *leucine-rich repeat*, LRR), rozeznávající jednotlivé PAMPs, dále z transmembránového úseku a z intracelulárních TIR (z angl. *toll-interleukin-1*) domén, které spouštějí signální dráhy a tím aktivují NF–κB faktor (26).

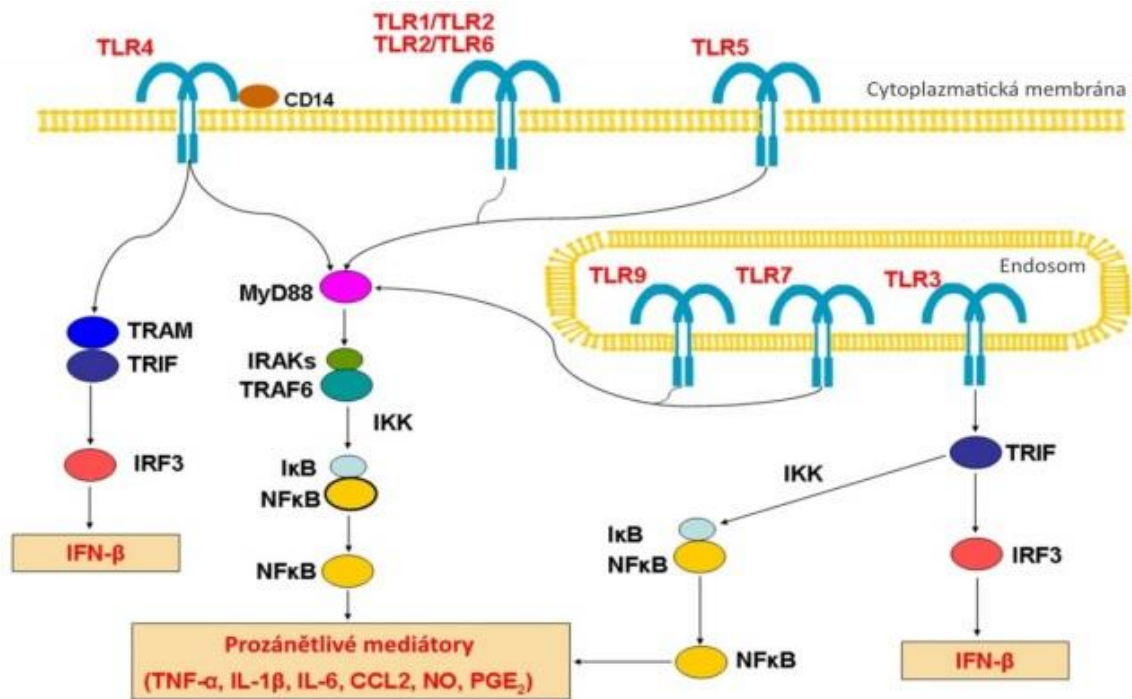
Pomocí lipidů, především lipopolysacharidů (LPS), mohou být aktivovány *toll-like* receptory 2 a 4, patřící do podskupiny PAMPs. Lipopolysacharid se také označuje jako endotoxin, jelikož je endogenní složkou buněčné stěny zejména Gram negativních bakterií, a u většiny savců má toxické účinky. Je velmi silným stimulem zánětlivých odpovědí (26) (27). Rozmanitá struktura a bioaktivita lipopolysacharidů u jednotlivých mikrobiálních druhů naznačuje různost také v prozánětlivé odpovědi. Za daných okolností mohou být

lipopolysacharidy také zdrojem systémové bakteriální infekce vedoucí k sepsi a selhání orgánů (22).

Lipopolysacharid se skládá z hydrofobní domény lipidu A, pomocí kterého je zakotven v membráně, O-antigenu a hydrofilního polysacharidu. Lipid A obsahuje mastné kyseliny, přičemž pokud dojde k náhradě nasycených, za mononenasycené nebo polynenasycené mastné kyseliny, prozánětlivá funkčnost lipopolysacharidu se znemožní. Z toho vyplývá, že patogenní lipopolysacharidy obsahují nasycené mastné kyseliny, jejichž přítomností je umožněna aktivace *toll-like* receptoru. V roce 2001 Lee a kol., prokázali schopnost nasycených mastných kyselin přímo stimulovat expresi zánětlivého genu prostřednictvím signalizace TLR-4 *in vitro* (28). Účinnost jednotlivých nasycených kyselin se liší v závislosti na délce jejich řetězce. Kyselina laurová vykazovala nejvyšší prozánětlivou aktivitu ze všech studovaných nasycených mastných kyselin, a společně s kyselinou myristovou jsou nejčastěji se vyskytující kyseliny v lipopolysacharidech. Dále prokázali, že mononenasycené a polynenasycené kyseliny signalizaci pomocí TLR-4 aktivovat nedokážou (28).

Signalizace zprostředkovaná lipopolysacharidy prostřednictvím *toll-like* receptoru 4 aktivuje dvě odlišné dráhy (obrázek č. 1). První dráha má počátek na povrchu cytoplazmatické membrány, druhá v endozomu. V důsledku aktivace jedné z drah dojde k zánětlivé reakci zprostředkované myeloidním diferenciačním faktorem 88 (z angl. *myeloid differentiation factor 88*, MyD88) a transkripčním faktorem NF- κ B, nebo antivirové signální odpovědi transdukované pomocí TRAM (z angl. *TRIF related adaptor molecule*) či TRIF (z angl. *TIR domain containing adapter-including interferon β*) a následně aktivaci interferonového regulačního faktoru 3 (IRF-3, z angl. *interferon regulatory factor 3*). Cestu, kterou bude aktivace probíhat, určují adaptéry obsahující cytosolickou doménu TIR (z angl. *toll/interleukin-1 receptor*). Pro samotnou interakci receptoru a ligandu jsou důležité CD14 (z angl. *cluster designation 14*) a MD2 (z angl. *myeloid differentiation protein 2*) zprostředkovatelé, kteří rozpoznají a dodají ligand lipopolysacharidu (29).

Výzkum skupiny Marije Oosting z Nizozemí odhalil, že TLR-10 působí jako inhibiční receptor při tvorbě heterodimeru s TLR-2, a vzniklý komplex následně vykazuje specifické vlastnosti antagonisty IL-1, IL-1Ra (z angl. *Interleukin-1 receptor antagonist*), jehož funkce spočívá v kompetitivním blokování receptoru pro IL-1 a tím brání signalizační kaskádě v rozvoji zánětu (30).



Obrázek 2: Schéma signálních drah *toll-like* receptorů (převzato z (31))

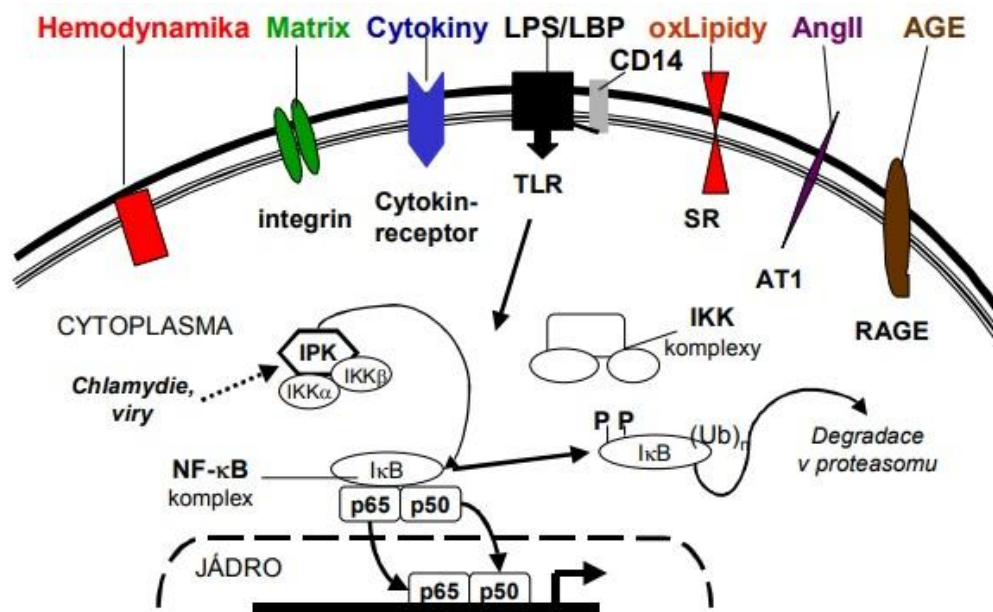
Výzkum vedený *Cani a kol.*, uvádí zvýšenou koncentraci endotoxinu u myší, kterým byla po dobu 4 týdnů podávána strava s velmi vysokým obsahem tuku než u myší, jejichž dieta byla nízkotučná (32). Z dat vedených k výzkumu vyplývá, že dlouhodobým podáváním diety s vysokým obsahem tuku taktéž dojde k ovlivnění řady metabolických procesů spojených s metabolickým syndromem, například ke zvýšené hladině inzulínu nalačno nebo akumulaci viscerální tukové tkáně (22).

Analýza pocházející z výzkumu *Nurses Health Study* a *Health Professionals Follow – Up* potvrdila, že nasycené mastné kyseliny s řetězcem o délce mezi 12 – 18 atomů uhlíku zvyšují riziko kardiovaskulárních onemocnění (KVO), ischemické choroby srdeční (ICHS) a *diabetes mellitus* 2. typu (33).

3.2 Aktivace NF-κB faktoru

Transkripční faktor je heterodimerní, skládá se z podjednotek p50 a p65 a je přítomný téměř ve všech buňkách. V inaktivním stavu se nachází v cytoplasmě, kde je navázaný do komplexu s inhibitorovými molekulami proteinů IκB. IκB se skládá z podjednotky IKKα a IKKβ, které jsou enzymatické a z podjednotky IKKγ, která funguje jako regulační molekula. Inaktivované IκB molekuly maskují jaderný signál NF-κB. Pokud dojde k aktivaci *toll-like* receptorů, tak

se prostřednictvím signálních drah fosforyluje serinová část inhibitoru faktoru NF- κ B, IKK, čímž se molekula aktivuje. Molekula je poté degradována v proteazomu. Jaderný signál NF- κ B je procesem odhalen a následnou translokací do jádra buňky se přesune k příslušným genům, kde zahájí transkripci cytokinů IL-1, IL-6, TNF- α , dále chemokinů IL-8 a adhezních molekul. Cytokiny stimulují produkci proteinů akutní fáze v játrech. V jádře dochází k aktivaci genů podporujících proliferaci či apoptózu buněk, podílejících se na patologii cévních stěn. Signál taktéž zapříčiní aktivaci genů pro expresi vlastního inhibitoru IKK, což vede ke zpětné inhibici jeho aktivity, a hovoříme tedy o autoregulačním systému (34).



Obrázek 3: Mechanismus účinku NF- κ B při aterosogenezi (převzato z (35))

4 NENASYCENÉ MASTNÉ KYSELINY

Do skupiny řadíme kyseliny, které ve své struktuře mají 1 či více dvojných vazeb. U jednotlivých dvojných vazeb označujeme jejich počet a pozici, např. C18:1;9 a dle jejich počtu je pak dělíme na kyseliny mononenasyčené a polynenasycené. U nenasycených mastných kyselin můžeme díky dvojně vazbě pozorovat volnou otáčivost atomů kolem osy, jež prochází dvojnou vazbou a dělí je tak na kyseliny o konfiguraci *cis* a *trans*. *Cis* konfigurace je významná pro prostorové uspořádání molekul lipidů v buněčných membránách, zaujímá totiž více prostoru než konfigurace *trans*, a činí tím membránu tekutější. Výskyt *trans* konfigurace je spojen se zvýšeným rizikem kardiovaskulárních chorob a *diabetes mellitus*.

4.1 *Cis*–mononenasyčené mastné kyseliny

Hlavním zástupcem *cis* skupiny je kyselina s 18 – ti atomy uhlíku, jejíž systematický název je oktadecenová kyselina. Nejrozšířenější variantou, z pohledu umístění dvojně vazby, je kyselina olejová (z angl. *oleic acid*, OA). Dalším zástupcem je kyselina palmitoolejová, jejíž účinky zatím nejsou dostatečně prozkoumány. Na cholesterol působí kyselina palmitoolejová nejednoznačně. Na jednu stranu snižuje LDL–cholesterol, ale na druhou stranu zvyšuje HDL–cholesterol a triacylglyceroly. Kromě vlivu na metabolismus lipidů, kde kyselina palmitoolejová ve formě neesterifikované frakce mastných kyselin potlačuje lipogenezi a steatózu jater, taktéž zvyšuje citlivost hepatálních a svalových buněk na inzulin. Zvýšený palmitooleát v lipidových frakcích, kterými jsou estery cholesterolu nebo triacylglycerolů, koreluje s inzulinovou rezistencí, která přispívá k T₂DM (36). Kyselina palmitoolejová je biosyntetizována v tukové tkáni, kde působí jako lipokin neboli signální molekula regulace *de novo* syntézy lipidů v tukové tkáni a játrech, čímž je v organismu zajištěna homeostáza (37).

Funkci lipokinů mohou zastávat i estery hydroxylových nasycených mastných kyselin, které v β buňkách pankreatu podporují sekreci inzulinu. Se zvýšenou sekrecí inzulinu stoupá jeho koncentrace a tím i podráždění receptorů GLUT–4 pro glukózu. Při zvýšeném přijímání glukózy buňkou dochází taktéž ke zvýšené lipogenezi, jelikož glukóza je pro lipogenezi hlavním substrátem (38). Zvýšenou konzumací palmitooleátu se v porovnání se stejnou dietou založenou na podávání olivového oleje prokázalo zmenšení plochy aterosklerotického plaku až o 45 % (39).

Kyselina palmitoolejová byla paradoxně spojena s úmrtím, jehož příčinou byla rakovina nebo demence, tudíž úmrtí bez kardiovaskulárních příčin. Tuto tezi podporuje i kohortní studie

zkoumaná *Jackson a Harrisonem*, ve které nebylo prokázáno, že by vysoká hladina kyseliny palmitoolejové předpovídala výskyt kardiovaskulárního onemocnění (36). *Jackson a Harris* naopak uvádí, že zvýšená hladina kyseliny palmitové nebo palmitoolejové je signálem pro zhoršení funkce inzulinu s následným rizikem vzniku T₂DM (36).

Rešerše *Luc Djoussé* (40), vycházející z doplňkové Studie zdraví lékařů, zkoumala vztah mezi kyselinami *cis*-palmitoolejovou a *cis*-vakcenovou, dvěma mastnými kyselinami, které lze syntetizovat endogenně, a ischemickou chorobou srdeční. Práce prokázala pozitivní souvislost mezi membránovou kyselinou *cis*-palmitoolejovou a rizikem ICHS. Možným způsobem vzniku rizika onemocnění je pozitivní korelace mezi kyselinou *cis*-palmitoolejovou a zvýšeným krevním tlakem. Mezi další potencionální mechanismy kyseliny patří prozánětlivé účinky. Na zvířecích modelech kyselina palmitoolejová snížila expresi mRNA prozánětlivých genů TNF- α v tukové tkáni a lipogenních genů v játrech. Membránová kyselina *cis*-vakcenová dle studií navíc nepřímo souvisela s chorobou srdeční.

Studie *Wanga a kolegů* (40) neprokázala žádnou specifickou souvislost mezi kyselinou palmitoolejovou v plazmatických fosfolipidech či frakci esterů cholesterolu a výskytem srdečního onemocnění.

Údaje ze studie ARIC uvádějí pozitivní souvislost mezi plazmatickou kyselinou palmitoolejovou a výskytem onemocnění *diabetes mellitus*. Vztah mezi kyselinou *cis*-olejovou a stearovou s rizikem ICHS ve statistickém modelu nedosáhl významnosti. Naopak byla prokázána nepřímá souvislost mezi aktivitou membránové kyseliny *cis*-vakcenové a elongázy s rizikem ICHS. V rešerši byla vypořazována pozitivní souvislost mezi membránovou kyselinou *cis*-palmitoolejovou s rizikem ICHS (40).

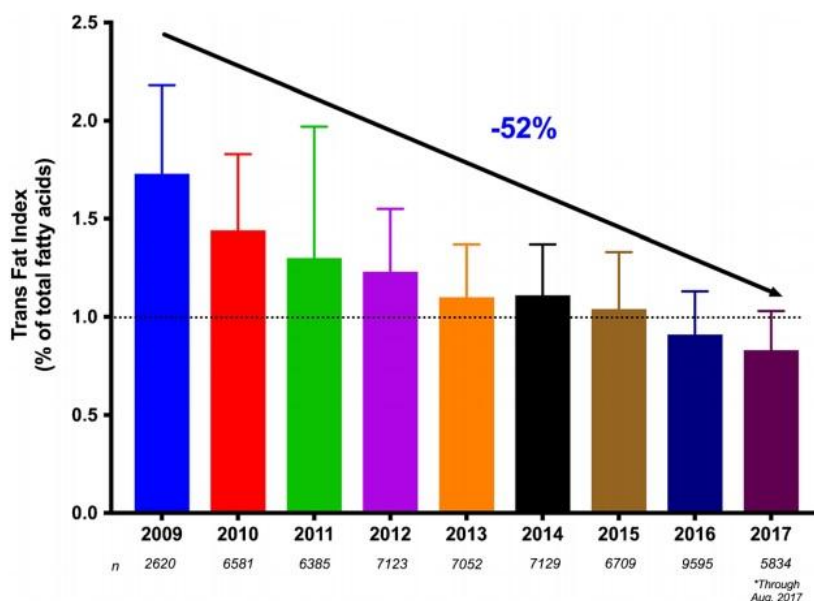
Dalším zástupcem skupiny *cis*-mononenasycených mastných kyselin je kyselina eruková. Patří do skupiny ω -9 mastných kyselin a je přirozenou součástí brukvovitých rostlin, především semen řepky a hořčice. V minulosti byly prováděny pokusy na potkanech, které podáváním kyseliny erukové potravou prokázaly zvýšené ukládání tuku v srdci, což bylo následováno mikroinfarktem myokardu, myokardiální fibrózou a rozvinutou myokarditidou. Díky prokázaným účinkům se kyselina dá považovat za kardiotoxickou. V přírodní formě obsahují výše zmíněné rostliny vysoké koncentrace kyseliny erukové (přes 40 %) a to je důvodem, proč jsou rostliny pěstované pro potravinářské účely modifikované a koncentrace kyseliny erukové v nich zpravidla nepřesáhne hodnotu 0,5 % (39).

Studie, probíhající mezi lety 2003 – 2009, sledovala více než 8 000 účastníků, u kterých se dopodrobna zabývala dietou s vysokým obsahem mononenasycených mastných kyselin přijímaných stravou. U pozorovaných subjektů zaznamenala pokles krevního tlaku, zvýšení koncentrace HDL–cholesterolu a snížení triacylglycerolů v séru, čímž se snížilo i riziko rozvoje kardiovaskulárních onemocnění. U pozorovaných, především u mužů, se také projevil úbytek hmotnosti v pase. Údaje z klinických studií potvrzují, že diety s vyšším příjmem mononenasycených mastných kyselin obecně snižují výskyt cévních mozkových příhod a infarktu myokardu až o 30 % (41).

4.2 *Trans*–mononenasycené mastné kyseliny

Představitelé *trans*–mononenasycených mastných kyselin (TFA) na lidský organismus působí vesměs negativně, zejména podporují vznik a rozvoj aterosklerózy. Zdrojem *trans* kyselin jsou margaríny, máslo a mléčné výrobky (9), ale mohou vznikat i při vaření, v trávicím traktu, nebo při průmyslovém zpracování *cis* izomerů. Pro lidský organismus mají největší význam kyselina elaidová, *trans*–vakcenová a *trans* izomery konjugované kyseliny linolové.

V roce 2015 FDA (z angl. *food and drug administration*) odstranila průmyslově vyráběné *trans* mastné kyseliny (IP–TFA) ze seznamu obecně považovaných za bezpečné pro jakékoliv použití v lidské stravě. Výrobci, kteří chtějí nadále IP–TFA v potravinách používat, musejí získat zvláštní povolení od FDA. Z porovnání nasbíraných dat vyplývá, že hladina IP–TFA byla v roce 2006 o 23% nižší než roku 1999. Mezi lety 2009 – 2017 byl zaznamenán pokles o 52%. Souhrnná data dokazují, že učiněné restriktce ohledně IP–TFA ve stravě fungují. V současné době se IP–TFA stále vyskytují v některých potravinách, a jejich konzumace představuje hrozbu pro zdraví. V porovnání s obsahem TFA ve stravě před 20 lety, je současnost téměř ideální (36).



Obrázek 4: Zastoupení trans kyselin z celkového příjmu mastných kyselin (převzato z (36))

Působení *trans* kyselin spočívá ve zvýšení hladiny LDL–cholesterolu, lipoproteinů, triacylglycerolů, a ve snížení hladiny HDL–cholesterolu, což vede k rozvoji kardiovaskulárních a onkologických onemocnění. Zvýšeným příjmem kyselin taktéž dochází ke vzestupu C–reaktivního proteinu (CRP) a zvýšenému množství inzulinu v krvi, což může vést k rozvoji metabolického syndromu a viscerální obezity. Zvýšená koncentrace CRP u zdravých osob, i u osob s onemocněním koronárních tepen, značí probíhající zánětlivou reakci. CRP podporuje vazbu krevních destiček na endotelové buňky a stimuluje absorpci monocytů a lymfocytů do endotelových stěn. CRP zprostředkovává proliferaci buněk hladkého svalstva, které se akumuluje ve vaskulární intimě, což je klíčovým faktorem při poškození cévní stěny. Zvýšená koncentrace IL–6 je spojena s inzulinovou rezistencí, rizikem onemocnění koronárních tepen a úmrtností na srdeční selhání.

Souvztažnost mezi *trans* mastnými kyselinami a onemocněním *diabetes mellitus* není dostatečně prozkoumána. Výsledky krátkodobých intervenčních studií ukazují, že *trans* kyseliny, mohou u specifických jedinců zhoršit inzulinovou rezistenci. Mezi ohrožené osoby patří především obézní dospělí s diagnostikovaným *diabetes mellitus* (42).

Mezi lety 1970 – 2015 probíhala studie s názvem *Hawaii–Los Angeles–Hiroshima Study*, zaměřující se na Japonce a Američany. Z výzkumu vyplývá nárůst počtu diagnostikovaných osob s *diabetes mellitus* v Japonsku, což lze přisuzovat přechodu na západní styl stravování

(42). Chronický příjem *trans* nenasycených mastných kyselin se dle výzkumů může podílet i na zvýšeném riziku vzniku karcinomu prsu (43).

Vědečtí pracovníci, *Yonjian Zhu a Yanhua Liu* shromáždili informace z kohortních studií proběhlých do roku 2018, zaměřujících se na příjem tuků stravou, a jejich působení na organismus. Ze zpracovaných dat vychází najevo, že část publikací podporuje názor, že *trans* mastné kyseliny zvyšují riziko onemocnění kardiovaskulárními chorobami. Druhá část dat tento názor nepodporuje, a naopak vyvrací i názor, že *trans* mastné kyseliny jsou možnou příčinou vzniku karcinomu prsu. *Yongjian Zhu* pozoroval, že snížením příjmu *trans* mastných kyselin došlo ke snížení počtu LDL částic, které jsou markerem rizika kardiovaskulárních onemocnění (44).

Na základě výsledků observačních studií spotřeba *trans* mastných kyselin zvyšuje riziko ischemické choroby srdeční. Analýza čtyř kohortních studií zahrnujících přes 140 000 zúčastněných jedinců poskytuje důkazy o vlivu *trans* nenasycených mastných kyselin na lidský organismus. Studie ukázala, že zvýšení příjmu těchto kyselin stravou o pouhé 2 % má za následek až 23% nárůst ischemické choroby srdeční, přičemž studie *Nurse Health Study* tento nárůst dokonce prokázala jako 33%. Kohortní studie při zvýšeném příjmu *trans* kyselin prokázaly vyšší riziko infarktu myokardu, a to až o 32 % (45). Kromě toho hladina mastných kyselin v séru pozitivně koreluje s indexem tělesné hmotnosti (BMI), LDL-cholesterolem, triacylglyceroly a ApoB₄₈. *Zapolska* ve své rešerši uvedla, že 2% náhrada energie sacharidů kyselinami téměř zdvojnásobí riziko ischemické choroby srdeční (45).

V Dánsku se na základě studií *trans* mastných kyselin, upravily normy pro tyto kyseliny, aby se předešlo vzniku kardiovaskulárních onemocnění (45). Jejich zvýšená konzumace je spojována se zvýšenou koncentrací cirkulujících zánětlivých markerů, jako je TNF- α , IL-6, nebo CRP. U jedinců, kteří mají prokázané srdeční onemocnění i zvýšenou hladinu zánětlivých markerů, byla koncentrace *trans* mastných kyselin v erytrocytární membráně spojena s vyšší koncentrací IL-6, rozpustnými TNF- α receptory a monocytárními chemoatraktanty protein-1. Monocyty i makrofágy přítomné při aterosklerotických změnách jsou hlavním zdrojem zánětlivých cytokinů v ateroskleróze (46).

Nedávné studie demonstrovaly, že NF- κ B je redoxsensitivní transkripční faktor, jelikož jej mohou svou činností regulovat reaktivní formy kyslíku (ROS). Bylo taktéž prokázáno, že *trans* kyseliny mají přímý prozánětlivý účinek na endotelové buňky, a to přes ROS dependentní NF- κ B aktivaci. Výsledky demonstrace taktéž naznačují, že *trans* kyseliny

zvyšují intracelulární produkci ROS (18). *Cassagna* ve své studii poukazuje na souvislost mezi stravou s vysokým obsahem *trans* kyselin a zvýšeným oxidačním stresem, prostřednictvím pozorování markerů oxidačního stresu *in vivo*, isoprostanů (18).

Vědecká analýza Světové zdravotnické organizace (WHO) přezkoumala důkazy o účincích konzumace *trans* kyselin na koronární onemocnění srdce. Ve studii se zohledňovaly nežádoucí účinky lipidů, LDL- a HDL-cholesterolu, poměr celkového a HDL-cholesterolu, prozánětlivé účinky TNF- α , IL-6, C-reaktivní protein a endotelová dysfunkce. Všechny vyjmenované nežádoucí účinky byly nejvýraznější u *trans* kyselin (47).

Byla provedena studie, zda mají *trans* mastné kyseliny účinek na vazodilatační kapacitu závislou na oxidu dusnatém (NO). Účastníci studie byli po dobu 4 týdnů stravováni odlišnými dietami. První dieta obsahovala *trans* nenasycené mastné kyseliny a druhá nasycené mastné kyseliny. Dieta založená na příjmu *trans* kyselin přispěla ke snížení vaskulární relaxace závislé na endotelu a taktéž ke snížení průtokem zprostředkované vazodilatace (z angl. *flow-mediated vasodilation*, FMD) o 29 %, což je rizikovým faktorem ischemické choroby srdeční (48).

Iwata a kolegové, zkoumali účinky tří různých *trans* mastných kyselin na endotelovou aktivaci NF- κ B a NO. Lidské endotelové buňky byly po dobu 3 hodin vystaveny zvyšujícím se koncentracím jednotlivých kyselin. Kyselina elaidová (*trans* - C18:1, 9) a linoelaidová (*trans* - C18:2, 9 a 12) byly asociovány se zvyšující se NF- κ B aktivací, měřenou hladinami IL-6, narušením endoteliální inzulínové signalizace a produkce NO. Obě kyseliny jsou taktéž spojeny se zvýšenou produkcí superoxidu, který je zapotřebí pro aktivaci NF- κ B. Různé izomery C18, aktivují produkci superoxidu, aktivaci NF- κ B faktoru i produkci NO, což naznačuje, že umístění a počet *trans* dvojných vazeb ovlivňuje aktivaci endoteliálního NF- κ B transkripčního faktoru. Jediná kyselina transvakcenová (*trans* - C18:1, 11) nevykazovala žádnou prozánětlivou vlastnost, která byla prokázána u kyseliny elaidové a linoelaidové (49).

Niu a kolegové provedli výzkum, ve kterém se věnovali interakci fosfolipidů, odvozených z *trans* mastných kyselin, s cholesterolem a membránovým receptorem rodopsinem v modelových membránách. Rodopsin ve výzkumu slouží jako modelový transmembránový receptor, jehož struktura a funkce je dobře charakterizovaná. Afinita fosfolipid - cholesterol byla kvantifikována měřením rozdělovacího koeficientu cholesterolu. Interakce fosfolipid - receptor byla zkoumána měřením úrovně aktivace rodopsinu. Fosfolipid odvozený od *trans* kyselin má k membránovému cholesterolu vyšší afinitu než fosfolipid odvozený od *cis* formy,

a to až o 80 %. Na regulaci homeostázy cholesterolu se podílí membránové receptory a hladina cholesterolu v membráně. Přítomnost *trans* fosfolipidů v membráně způsobuje sníženou aktivaci receptorů, a společně se zvýšeným cholesterolem pak přispívá ke zvýšení LDL-cholesterolu v séru (50).

4.3 Polynenasycené mastné kyseliny

V řetězci polynenasycených mastných kyselin se nachází dvě a více dvojných vazeb. Kyseliny mohou být rozděleny do podskupin na základě umístění první dvojně vazby vzhledem k methylovému konci řetězce. Jejich obecný význam na lidské zdraví a kardiovaskulární onemocnění je na první pohled nejednoznačný, jelikož jejich zvýšený příjem může snížit hladinu cholesterolu, ale zvýšit celkovou tělesnou hmotnost (34). Mezi biologicky nejvýznamnější řady polynenasycených kyselin patří ω -3 a ω -6 mastné kyseliny, které mají první dvojnou vazbu na třetím a šestém uhlíku, známém jako omega uhlík, odtud následné označení tříd ω -3 a ω -6 mastné kyseliny. Obě řady jsou syntetizovány z esenciálních mastných kyselin, tedy z kyselin, které si lidské tělo neumí samo vytvořit a musí být přijímány stravou. Ve stravě je základním kamenem kyselina linolová, ze které si organismus syntetizuje elongačními a desaturačními reakcemi potřebné formy. Obě řady navzájem soutěží o aktivitu cílového enzymu, a proto je jejich vzájemný poměr velice důležitý pro lidské zdraví. Nadměrný příjem kyselin jedné řady omezí produkci řady druhé, a naopak. Doporučení národních zdravotnických agentur pro poměr ω -6 : ω -3 polynenasycených mastných kyselin v přijímané stravě je 4:1 (51). Kyseliny jsou zdrojem důležitých posílů, kteří se podílejí na regulaci fyziologických i patologických procesů.

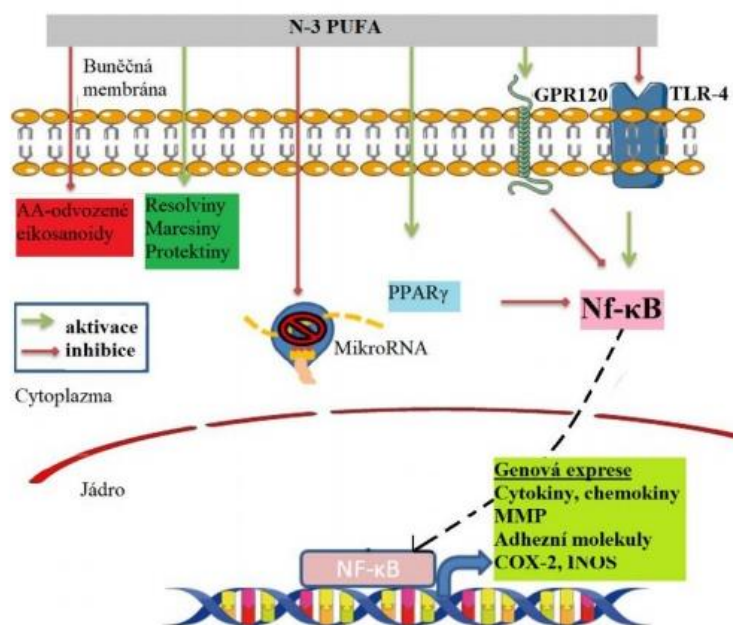
Rešerše *Nicka Kalogeropoulose a kolegů* zkoumala korelaci poměru ω -6 : ω -3 mastných kyselin v plasmě se zánětlivými a koagulačními markery, která se prokázala jako pozitivní. Byly pozorovány asociace mezi plazmatickou koncentrací ω -3 (kyseliny eikosapentaenové, dokosahexaenové, α -linoleové) a ω -6 (kyseliny linolové a arachidonové) mastných kyselin s cirkulujícími hladinami CRP, TNF- α a IL-6 (52).

4.3.1 ω -3 polynenasycené kyseliny

Mezi ω -3 mastné kyseliny řadíme v první řadě kyselinu α -linolenovou (z angl. *α -linolenic acid*, ALA). V organismu může dojít k metabolizaci a následné přeměně na kyselinu eikosapentaenovou (EPA) a dokosahexaenovou (DHA). Obecně jsou ω -3 polynenasycené kyseliny vnímány jako protizánětlivé, a tedy i prospěšné pro prevenci kardiovaskulárních onemocnění. Pravidelnou konzumací ω -3 můžeme sledovat změnu cirkulujícího lipidového

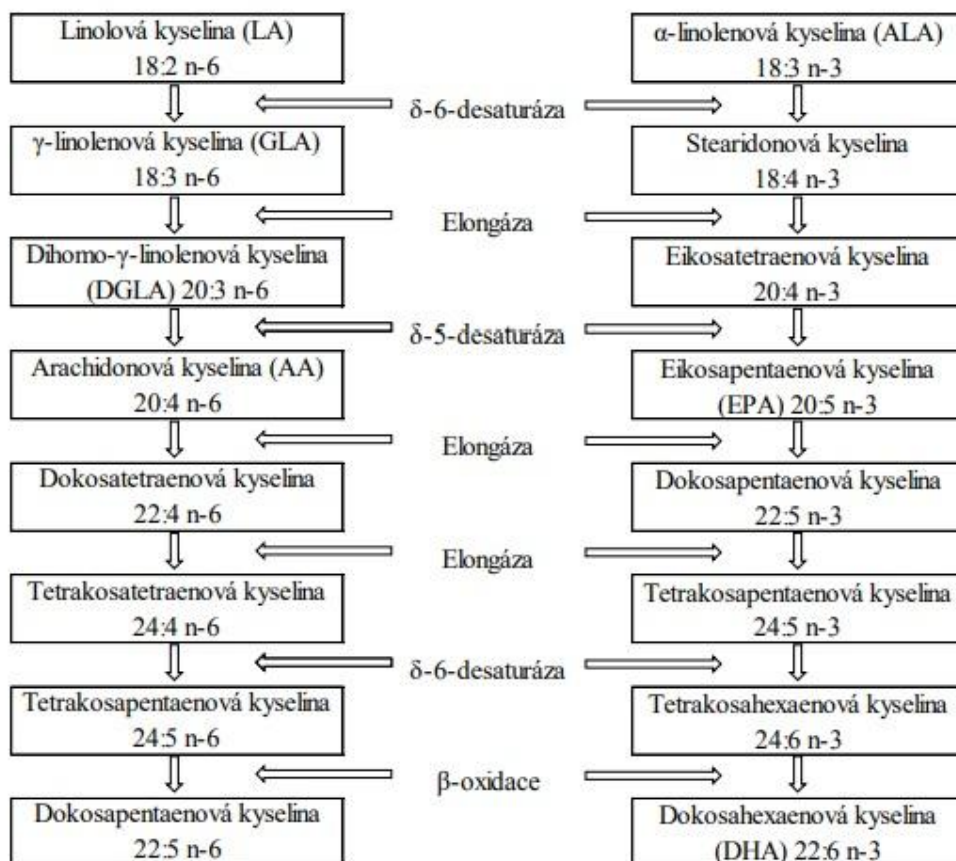
profilu. Dlouhodobým pozorováním účinků diety obsahující ω -3 mastné kyseliny byl prokázán snížený obsah triacylglycerolů v séru, zvýšené hodnoty HDL- a snížené hodnoty LDL-cholesterolu. Zvýšený příjem ω -3 znamená větší začlenění těchto mastných kyselin do cirkulujících lipidů a následně i do tkání, kde mohou ve fosfolipidech buněčných membrán nahradit ω -6 kyseliny. Tak zapříčiní změnu fyzikálně – chemických vlastností membrán a tím i funkci membránově vázaných receptorů, iontových kanálů, enzymů, a ovlivní signální dráhy, které mají přímý účinek na funkci vaskulárního endotelu a buňky hladkého svalstva. Při poranění endotelu, nebo v důsledku stresu se může stát endotel nefunkčním a náchylným k aterogenezi (53) (54).

U pacientů s kardiovaskulárním onemocněním výzkum účinků podávání ω -3 mastných kyselin zjistil menší progresi koronárních plaků. Zajímavé je, že účinek nebyl pozorován např. u krčních tepen, což signalizuje různý vliv na různé části cévního řečiště (55). Na výzkumu vlivu ω -3 mastných kyselin na zdravotní stav se podílelo mnoho odborníků. Probíhaly studie, při kterých byla po dobu téměř 11 let sledována strava jedinců s vysokým rizikem onemocnění koronárních arterií, jejichž výsledkem bylo snížení úmrtnosti dosažené podáváním 665 mg/den ω -3 mastných kyselin (55). Další výzkum, vycházející ze sledování pacientů s podezřením na infarkt myokardu, byl založen na podávání doplňků stravy – 2g/den kyseliny EPA nebo DHA v podobě tučných mořských ryb, 2,9 g/den hořčičného oleje a placebo. Po roce pozorování byl zjištěn menší počet srdečních příhod ve skupině užívající rybí olej a olej z hořčičných semen (56).



Obrázek 5: Vliv ω -3 mastných kyselin na zánět (převzato z (23))

Ω -3 polynenasycené kyseliny soutěží o cílový enzym, δ -6-desaturázu, s ω -6 polynenasycenými kyselinami. Enzym je potřebný pro přeměnu na kyselinu α -linolenovou s následnou přeměnou na EPA a DHA, a na přeměnu kyseliny linolové na kyselinu γ -linolenovou, která je substrátem pro kyselinu arachidonovou (57).



Obrázek 6: Metabolická konverze ω -3 a ω -6 mastných kyselin (převzato z (23))

Afinita δ -6-desaturázy je ke kyselině α -linolenové jiná, než ke kyselině linolové. Pokud je příjem ω -3 a ω -6 kyselin v poměru 1:(1-4), jsou přednostně metabolizovány ω -3 kyseliny. V běžné stravě jsou ovšem majoritně zastoupeny ω -6 kyseliny, a to v poměru až 1:20, a tudíž jsou přednostněji metabolizovány právě ty. Pokud zvýšíme příjem ω -3 mastných kyselin, potlačíme tvorbu zánětlivých mediátorů, odvozených od kyseliny arachidonové (57).

Studie *Dyerberga a Banga* ze sedmdesátých let demonstrovala souvislost mezi ω -3 mastnými kyselinami a kardiovaskulárními chorobami. Obecně víme, že z α -linolenové kyseliny se kyseliny EPA a DHA tvoří jen v malé míře a jejich hladina je tedy určována především příjmem ze stravy. Důkazy sledování se ve výsledku shodují, že vyšší hladina ALA kyseliny snížila riziko úmrtí na ischemickou chorobu srdeční, v porovnání s EPA a DHA kyselinami. Bohužel však nebyl objeven mechanismus, který by vliv ALA kyselin na ICHS objasnil (36).

Ω -3 mastné kyseliny se mohou metabolizovat na mediátory vstřebávající zánět a tím celý proces řídit. Mechanismus bude podrobněji vysvětlen v kapitole o eikosoidech. Pokud se ω -3 mastné kyseliny naváží na *toll-like* receptor 4, inhibují jeho aktivaci, a tím i prozánětlivou signální kaskádu transkripčního faktoru NF- κ B (58). Neesterifikované ω -3 mastné kyseliny se také mohou navázat na receptor GPR120, který nalézáme na makrofázích, čímž dojde k potlačení zánětu prostřednictvím *down*-regulace NF- κ B transkripčního faktoru. (58)

Zdrojem ω -3 mastných kyselin jsou mořské ryby jako losos, makrela nebo tuňák. Dále ořechy chia, vlašské a v neposlední řadě také oleje, ze kterých můžeme jmenovat například lněný nebo sójový (59).

4.3.2 ω -6 polynenasycené mastné kyseliny

V řadě ω -6 polynenasycených mastných kyselin je mateřskou esenciální kyselinou kyselina linolová (z angl. *linoleic acid*, LA). LA přijímána stravou, například v podobě rostlinných olejů nebo ořechů, je schopna snížit koncentraci LDL-cholesterolu prostřednictvím jaterního X receptoru nebo receptoru SREBP (9). Mezi metabolické produkty kyseliny linolové patří kyselina γ -linolenová (z angl. *gamma linolenic acid*, GLA) a kyselina arachidonová (z angl. *arachidonic acid*, AA). Zvýšený příjem kyseliny linolové stravou podporuje zvýšenou přeměnu na zmíněné metabolity, které podporují rozvoj řady chronických onemocnění, mezi něž spadají záněty, rakovina a kardiovaskulární onemocnění.

Kyselina γ -linolenová vzniká metabolickou přeměnou, desaturací, z kyseliny linolové za pomoci enzymu δ -6-*desaturasy*. Reakci, již tak pomalé přeměny kyseliny linolové na kyselinu γ -linolenovou, může blokovat nedostatek vitamínů, minerálů nebo přítomnost zánětlivého procesu (60). γ -linolenová kyselina je v organismu přeměněna na aktivní formu dihomu- γ -linolenovou kyselinu (z angl. *dihomo- γ -linoleic acid*, DGLA). Mezi aktivní formy DGLA řadíme zejména prostaglandiny řady 1 (PGE₁) a tromboxany (TxA₁).

Kyselina arachidonová je předním zástupcem ω -6 řady. Nalézá se ve fosfolipidech a napomáhá k udržení jejich správných fyzikálně chemických vlastností, například tekutosti. V membránách je kyselina výchozí látkou pro syntézu eikosanoidů (13) (33). Oxidační produkty kyseliny arachidonové mohou ovlivňovat buněčnou aktivitu regulací NF- κ B transkripčních receptorů, SREBP nebo PPAR.

Jedním z důvodů, proč jsou ω -6 mastné kyseliny považovány za škodlivé může být fakt, že Američané konzumují především potraviny bohaté na LA, jejíž hladina se poté odráží

v krevních rozborech. Převaha LA kyseliny má za důsledek sníženou koncentraci EPA a DHA, které jsou považovány za prospěšné, jelikož korelují se sníženým rizikem kardiovaskulárních onemocnění (36).

4.3.3 Eikosanoidy

Eikosanoidy jsou lipidové zánětlivé mediátory, jež regulují homeostatické a zánětlivé procesy. Jsou to produkty metabolismu mastných kyselin obsahujících dvacet uhlíků a název je odvozen z řeckého *eicosa* neboli dvacet (61). Původ mají v kyselině arachidonové (AA, ω -6), kyselině dihomo- γ -linolenové (DGLA, ω -6) a eikosapentaenové (EPA, ω -3), respektive dokosahexaenové (DHA, ω -3), z níž jsou eikosanoidy tvořeny v menším množství a s odlišnou strukturou. Z kyseliny DHA vznikají pomocí LOX maresiny, protektiny a resolviny řady D, z kyseliny EPA za pomoci COX-2 a epoxygenáz resolviny řady E (62). EPA může být prekurzorem pro prozánětlivé leukotrieny 5. řady a prostanoidy 3. řady, jako jsou tromboxany, prostacykliny a prostaglandiny. Celá skupina eikosanoidů ovlivňuje řadu fyziologických aktivit, například zánětlivé procesy nebo agregaci krevních destiček. Mechanismem působení mediátorů, které vstřebávají zánět, je *down*-regulace transkripčního faktoru NF- κ B.

Nejběžněji eikosanoidy vznikají uvolněním a přeměnou kyseliny arachidonové z membránových fosfolipidů za pomoci fosfolipázy A₂. Uvolněné mastné kyseliny jsou následně metabolizovány za pomoci příslušných cyklooxygenáz (COX), lipoxygenáz (LOX) a epoxygenáz (cytochrom p450). Produkce eikosanoidů je zahájena aktivací buňky striktně danými podmínkami, jako je mechanické poškození nebo specifický cytokin a jelikož nejsou nikde skladovány, syntéza probíhá z volných mastných kyselin *de novo* (63). Společně s eikosanoidy jsou tvořeny specializované protizánětlivé sloučeniny (z angl. *specialized pro-resolving mediators*, SPMs), mezi které řadíme lipoxiny, protektiny, maresiny a resolviny. SPMs vznikající z arachidonové kyseliny jsou lipoxiny, z EPA vznikají resolviny a pokud je prekurzorem DHA, jde o resolviny, maresiny a protektiny (64).

Produkcí prostaglandinů zajišťují makrofágy a monocyty, tromboxanů krevní destičky a leukotrienů leukocyty (64). Prostaglandiny hrají klíčovou roli v časných stádiích zánětu – PGE₂, PGI₁. Tromboxany slouží jako agonisté krevních destiček během tvorby krevní sraženiny a leukotrieny se podílí na zánětlivé odezvě a progresi aterosklerózy, díky roli v endoteliální dysfunkci a uvolňování cytokinů. Leukotrieny se tvoří lokálně

v aterosklerotických lézích z kyseliny arachidonové a zprostředkovávají nábor a aktivaci imunitních buněk v plaku, proliferaci buněk hladkého svalstva a endotelovou dysfunkci (65).

Prostaglandiny a leukotrieny jsou produkovány rychle po zahájení zánětu a podporují proces vzniku edému z postkapilárních žil. Přestože k transportu leukocytů do místa poranění dochází přirozeně, reakce zprostředkovaná eikosanoidy může být pro organismus i život ohrožující, a to během sepse nebo toxického šoku (61).

Cyklooxygenáza (COX) je enzym zajišťující přeměnu kyseliny arachidonové na prostaglandiny a tromboxany. V organismu se vyskytuje ve formě COX-1 a COX-2. Tromboxan-A (TxA₂) odvozený od COX-1 je produkován krevními destičkami a podporuje jejich agregaci a odpověď na poškození. COX-1 je v organismu přítomna za normálních fyziologických podmínek a napomáhá při ochraně stěny žaludku. Naproti tomu prostacyklin (PGI₂), odvozený od COX-2, aktivitu krevních destiček inhibuje a podporuje vazodilataci. Koncentrace COX-2 stoupá s rozrůstajícím se zánětem, kdy katalyzuje tvorbu prostaglandinů jako odpověď na zánět a tím napomáhá k jeho rozvoji (61).

Cyklooxygenázy lze inhibovat pomocí specifických inhibitorů, mezi které spadá řada léčiv, která tak snižují rozvoj zánětu. Patří sem například ibuprofen a kyselina acetylsalicylová. Inhibitory specifické pro COX-2 tzv. koxiby, například paracetamol, při zánětu zdárně snižují cyklooxygenázové koncentrace, nicméně tím způsobují nerovnováhu tromboxanu-A a prostacyklinu, což je spojováno s rizikem infarktu myokardu a cévní mozkové příhody. Právě kvůli vysokému kardiovaskulárnímu riziku byl před lety z trhu odstraněn nejsilnější a nejspecifičtější inhibitor COX-2, rofecoxib. Již zmíněná kyselina acetylsalicylová je v současné době běžně předepisována jako antiagregační kardioprotekční lék (61).

Lipooxygenázy během zánětu podporují bronchokonstrikci a transport leukocytů do místa poškození tkáně. Metabolity LOX mohou být prozánětlivé, jelikož modifikují jaterní X receptor, který reguluje homeostázu cholesterolu. LOX, má společně s COX, specifickou, a silnou vazbu na receptor spojený s G-proteinem (z angl. *G protein-coupled receptors*, GPCR), který spouští programy protizánětlivých cytokinů (61).

Cytochrom P450 (CYP, P450) přeměňuje kyselinu arachidonovou na epoxyeikosatrienovou kyselinu (z angl. *epoxyeicosatrienoic acid*, EET), která má na organismus protizánětlivý účinek. EET jsou metabolicky nestabilní a přeměňují se na dihydroeikosatrienové kyseliny, o kterých se naopak uvažuje jako o prozánětlivých, jelikož se ve vyšších koncentracích vyskytují u pacientů s ischemickou chorobou srdeční (61).

Účinek eikosanoidů na buňky může být protizánětlivý i prozánětlivý, přičemž převažuje prozánětlivá varianta. Interakce eikosanoidů s buňkami je zprostředkována pomocí již zmíněného G–proteinu, vyskytujícího se na jaderné nebo plazmatické membráně buněk.

4.4 Role mastných kyselin při zánětu a kardiovaskulárních onemocněních

Mastné kyseliny jsou nedílnou součástí membrán buněk, kterým slouží jako zdroj energie a stavební složky (33). Mezi nejběžnější zástupce jednoduchých lipidů patří triacylglyceroly, které při vysokém obsahu ve tkáních slouží jako tepelné a mechanické izolátory. Novodobé výzkumy ukázaly, že degradaci triacylglycerolů vzniká spektrum bioaktivních meziproduktů, které mohou regulovat řadu buněčných procesů. V procesech vystupují jako signální molekuly, jež mají význam v predikci onemocnění (66). Obecně mastné kyseliny prostřednictvím jednotlivých účinků ovlivňují zdraví i riziko onemocnění (33). Zvýšený příjem mastných kyselin se projeví jejich zvýšenou koncentrací v séru. Mezi typické patologické dopady zvýšené koncentrace mastných kyselin řadíme kardiovaskulární onemocnění, chronický systémový zánět, nebo *diabetes mellitus* 2. typu (33).

Kardiovaskulární onemocnění jsou hlavní příčinou úmrtnosti v západním světě a zahrnují širokou škálu patologií, kdy v současné době je hlavním patogenním procesem ateroskleróza, která vede k akutním jevům, ale i chronickým stavům (65). Důležitý rizikový faktor aterosklerózy je porucha metabolismu lipidů, především zvýšená koncentrace LDL–cholesterolu (45). Vyšší spotřeba *trans* mastných kyselin zvyšuje LDL–cholesterol, poměr celkového cholesterolu k HDL–cholesterolu, poměr ApoB k ApoA, a taktéž zvyšuje triacylglyceroly v séru. Mechanismy zodpovědné za jednotlivé modifikace jsou spojovány s jaterními funkcemi a metabolismem lipoproteinů. Působením *trans* kyselin na jaterní buňku vznikají menší částice LDL, které jsou asociovány s vyšším rizikem kardiovaskulárních onemocnění oproti větším částicím LDL. Spotřeba *trans* kyselin snižuje plazmatickou hladinu HDL–cholesterolu a může pozměnit i jeho antiaterogenní účinky. Nedávný průzkum ukázal, že pokud do molekuly HDL zakomponujeme kyselinu elaidovou, ztratí své antioxidační schopnosti a vyvolá největší absorpci oxidovaného LDL (45).

Zánět je v podstatě odpověď, reakce organismu na vnější poranění či cizí antigeny a patogeny. Obecně záněty můžeme rozlišit na lokální, které vznikají na určitém místě a systémové, které se mohou rozšířit do celého organismu. Systémové záněty nízkého stupně, mohou být následkem metabolických poruch, jako je *diabetes mellitus* 2. typu,

kardiovaskulární onemocnění, nebo rakovina. Nasycené mastné kyseliny mohou způsobit chronický zánět aktivací *toll-like* receptorů 2 nebo 4 (67).

Odpověď organismu na probíhající zánět je vysoce kontrolovaný a koordinovaný proces, zahrnující potlačení exprese prozánětlivých genů, transport a aktivaci leukocytů, následovaný pročištěním zánětlivých buněk, apoptózou nebo nekrózou. Regulovat zánět můžeme pomocí endogenních prozánětlivých mediátorů, jako jsou cyklopentanové prostaglandiny (CyPG) a lipoxiny. Lipoxiny inhibují migraci a aktivaci neutrofilů a podporují fagocytární pročištění apoptických buněk. CyPG aktivují makrofágy a specificky se zaměřují na prozánětlivé signální dráhy nukleárního transkripčního faktoru NF- κ B. Ten pak reguluje expresi prozánětlivých a antiapoptických genů, čímž umožňuje zprostředkovat resoluci zánětu potlačením exprese prozánětlivých genů. Jak lipoxiny, tak CyPG mohou být do budoucna využívány v léčbě chronických zánětlivých onemocnění (61).

4.4.1 Ateroskleróza

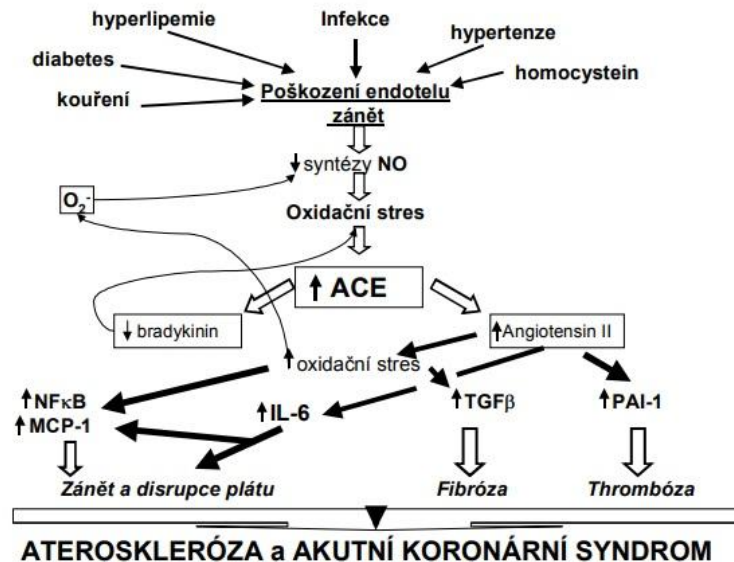
Ateroskleróza je systémové chronické postižení cévního systému, ve kterém se hromadí lipidové plaky. Tyto plaky zabraňují dostatečnému prokrvení tkání a zapříčiňují tak kardiovaskulární onemocnění jako je ischemická choroba srdeční, nebo cévní mozková příhoda. Nejčastěji ateroskleróza postihuje tepny, například aortu, koronární tepny, tepny v mozku a tepny horních a dolních končetin.

Na patogenezi aterosklerózy participuje soubor na sebe navazujících událostí. Obecně se jedná o rozvoj zánětlivého procesu stěny arterie v důsledku hemodynamického poškozování cévní stěny v namáhaných místech, celý proces má několik stádií. Prvotní a taktéž klíčovou roli hraje dysfunkce endotelových buněk. Mezi možné příčiny endotelové dysfunkce patří mechanické poškození, působení reaktivních forem kyslíku a dusíku, zvýšený arteriální tlak a v neposlední řadě i zvýšený počet a modifikace LDL částic. Zmíněné příčiny vedou ke změnám homeostatických vlastností cévního endotelu. Zvyšuje se adhezivita endotelových buněk k leukocytům a krevním destičkám, roste permeabilita cévní stěny, endotel získává namísto antikoagulačních vlastností vlastnosti prokoagulační a taktéž se zvyšuje produkce vazoaktivních molekul, cytokinů, chemokinů a růstových faktorů.

Další možnou příčinou dysfunkce endotelu je zvýšená koncentrace homocysteinu v plazmě. Porucha metabolismu homocysteinu, dle výzkumu *Cavalka a spol.*, zvyšuje jeho koncentraci v plazmě a může ovlivnit míru oxidačního stresu buněk (68), tloušťku intimy artérie a její pružnost.

Diabetes mellitus sružený s hyperglykemií přispívá k endotelové dysfunkci zvýšením oxidačního stresu v buňkách. Konečné produkty glykace mohou vazbou na specifický receptor měnit buněčný metabolismus, který navozuje aktivaci NF- κ B faktoru a intracelulární oxidační stres. Hyperglykemie zvýšením exprese adhezních molekul na povrchu buněk podporuje adhezi leukocytů k endotelu, a stejně tak navozuje aktivaci vaskulární hladké svaloviny. Tyto procesy vedou ke zvýšení tonu stěny arterií, k větší proliferaci buněk hladké svaloviny a tím ke ztluštění intimy už v časně fázi aterogeneze (35).

Hypertenze je dalším patogenním faktorem zapříčiňujícím dysfunkci endotelových buněk. Renin – angiotensinový systém produkuje angiotensin II. Tato látka je silný vazokonstriktor přispívající k rozvoji aterogeneze stimulací proliferace buněk hladké svaloviny. Angiotensin II se váže na specifický receptor AT-1, čímž se uvolní reaktivní formy kyslíku a dusíku z buněk ve stěnách arterií. AT-1 zvyšuje aktivitu lipoxygenasy v buňkách hladké svaloviny, což podporuje zánětlivou reakci a lipoperoxidaci LDL částic. Angiotensin II prostřednictvím aktivace svého receptoru AT-1 podporuje aterogenezi ve všech stádiích vývoje. Inhibitory receptoru AT-1 naopak blokuje tyto odpovědi a zpomalují rozvoj aterogeneze, zlepšují funkci vaskulárního endotelu a snižují podíl smrtelných případů u kardiovaskulárních onemocnění.

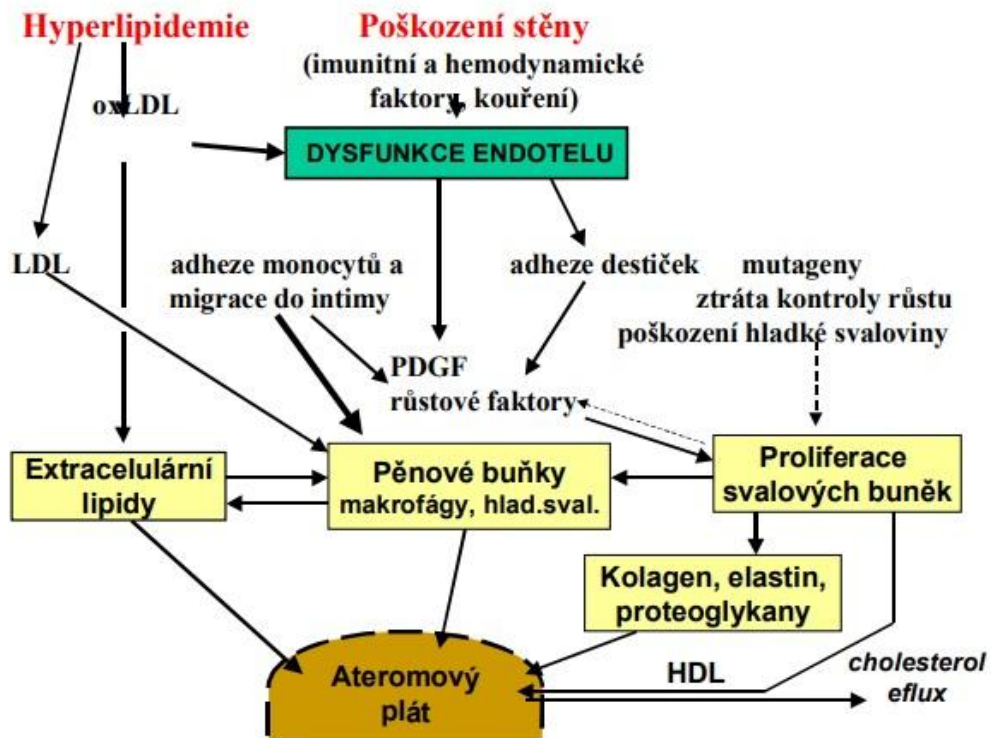


Obrázek 7: Účinek angiotensinu (převzato z (35))

V nedávné době byl identifikován nový *karboxypeptidasový* enzym ACE II, který katalyzuje odštěpení C-terminálního konce angiotensinu I. ACE II odštěpuje koncovou aminokyselinu za vzniku nonapeptidu, peptidu s 9 molekulami aminokyselin. Nonapeptid se peptidolýzou mění na heptapeptid, peptid se 7 molekulami aminokyselin, který má vazodilatační vlastnosti.

ACE I z decapeptidu odštěpuje aminokyseliny 2, a vzniká tak peptid s 8 aminokyselinami, oktapeptid = angiotensin II (35).

V současné době je stále více důkazů, že k rozvoji aterosklerózy přispívají i chronické infekce, jelikož byla v aterosklerotických plátech potvrzena přítomnost herpetických virů a zvýšený titr protilátek proti infekčním agens, jako je například *Helicobacter pylori* nebo virus Epstein-Baarové (35).



Obrázek 8: Mechanismus průběhu aterosklerózy (převzato z (35))

Aktivované endotelové buňky přitahují do místa poškození monocyty, makrofágy a T buňky z krevního řečiště a buňky hladkého svalstva z vrstvy medie, čímž se zvětšuje subendotelový prostor, a tím i permeabilita endotelu pro lipoproteinové částice.

Při zvýšené koncentraci lipoproteinových částic v plazmě dochází k jejich snadnějšímu zachycení ve stěně *intimy* a následnému podlehnutí oxidaci či glykaci, za pomoci reaktivních forem kyslíku a dusíku, které antioxidační mechanismy nestihly zneškodnit. Díky přímé korelaci mezi koncentrací LDL v séru a množstvím zachycených lipoproteinů v lézi, lze hladinu v krvi považovat za indikátor aterosklerózy (69).

Vznik aterosklerózy ovlivňuje také velikost LDL částic. Pokud v dietě nahradíme nasycené mastné kyseliny sacharidy, tzv. malé denzní LDL částice (sdLDL) se budou oxidovat rychleji,

a taktéž se budou snadněji zabudovávat do stěn cév. Výchozím substrátem pro LDL jsou VLDL (z angl. *very low density lipoprotein*) částice, které vznikají v játrech, a následně jsou vypouštěny do krevního oběhu. Z těchto částic postupnou přeměnou, přes IDL (z angl. *intermediate density lipoprotein*) částice, vznikají částice LDL. Proces přeměny VLDL částic na LDL zahrnuje příjem cholesterolu a ztrátu triacylglycerolů. Částice LDL se skládají z fosfolipidů, esteru cholesterolu obklopeného lipofilními antioxidanty, a bílkovinné složky apolipoproteinu ApoB₁₀₀. LDL částice, i když nejsou oxidované, mají jisté prozánětlivé účinky. Stimulují produkci volných radikálů, které mohou poškozovat buňky a vyvolávat apoptózu, stimulují expresi CD40 nebo například podporují adhezi leukocytů za pomoci adhezních molekul a chemokinů (70).

Za rozvoj aterosklerózy odpovídají především modifikované LDL částice. Modifikace je nejčastěji zapříčiněná již zmíněnou oxidací, případně glykací. Bylo prokázáno, že oxidace, na rozdíl od glykace, probíhá zásadně v cévní stěně, nikoliv v plazmě, jak se původně myslelo. Důvodem je vysoký obsah antioxidantů v plazmě (70). Oxidaci způsobují reaktivní formy kyslíku, například •OH radikál vznikající z peroxidu vodíku působením přechodných kovů. Antioxidanty zpočátku chrání částice před oxidací. Pokud se sníží množství antioxidantů, dojde k oxidaci LDL částic.

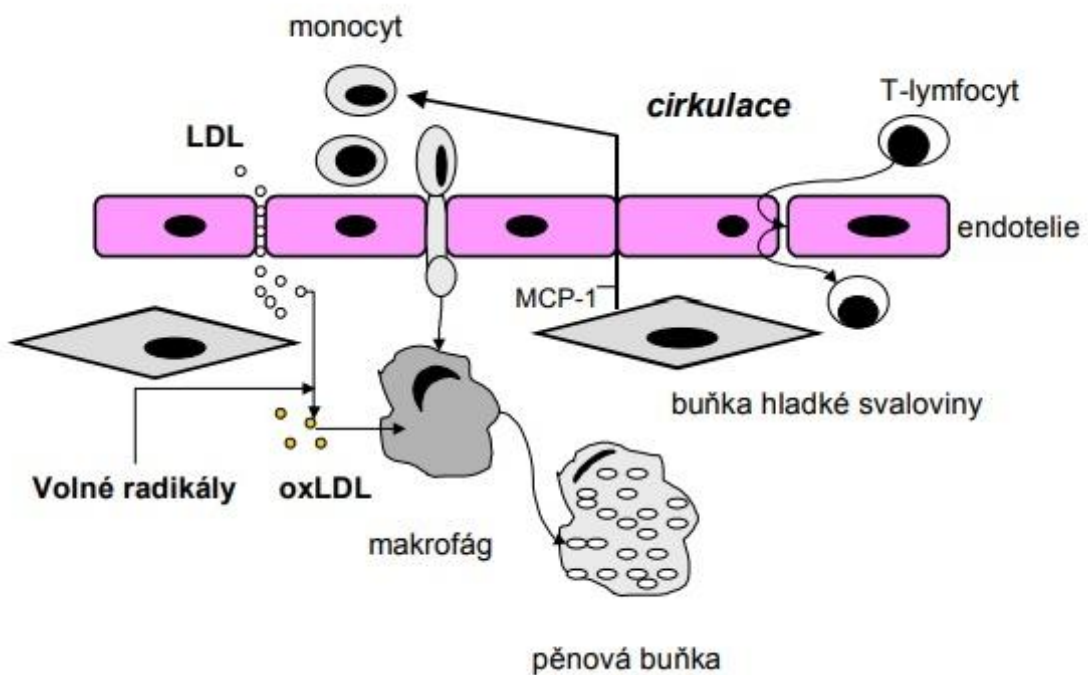
Oxidací, a následnou hydrolyzou fosfolipidů v LDL částici za pomoci fosfolipázy Lp-PLA₂ (z angl. *lipoprotein-associated phospholipase A2*), vznikají oxidované mastné kyseliny a lyzolecitin, podporující zánětlivé procesy a proliferaci endotelových buněk. Oxidací polynenasycených mastných kyselin, nacházejících se v esterech cholesterolu a fosfolipidech, vznikají hydroperoxydy. Oxidovaný řetězec polynenasycené mastné kyseliny se následně štěpí na sloučeniny o počtu 3 – 9 uhlíků, kterými jsou reaktivní aldehydy (70), jako je například malondialdehyd, hexanon a další. Malondialdehyd je konečným produktem peroxidace lipidů, zejména LDL částic. Sloučeninu tvoří aktivní aldehyd a aktivní typy elektrofilů, které mohou způsobit toxický stres v buňkách. Produkt tohoto aldehydu se využívá jako biomarker pro měření úrovně oxidačního stresu. Během oxidace LDL se většina malondialdehydu skládá z kyseliny linolové, arachidonové a dokosaheptaenové (69). Produkty oxidace lipidů se hromadí v LDL částicích a reagují s aminokyselinami proteinu ApoB₁₀₀, přičemž dochází ke zvýšení záporného náboje LDL molekuly a k degradaci její proteinové části. Změny v ApoB₁₀₀ molekule zapříčiňují ztrátu vazby ligand – receptor, tudíž se oxidované LDL částice nemohou navázat na LDL receptor, a musí využít acetyl-LDL receptory, tzv. *scavenger* receptory (69). Acetyl LDL receptory přitahují LDL částice silněji, proto se

cholesterol akumuluje v makrofágu. Oxidované LDL nahromaděné v makrofágu mohou opustit arteriální stěnu za předpokladu, že vystupujících lipidových frakcí je více než vstupujících. Pokud je vstupujících lipidových frakcí více, dochází k akumulaci lipidů ve stěně arterie a zvyšující se tendenci ke vzniku ateromu. Na cholesterol při oxidaci zčásti působí specifické hydroxylázy, z části jde o neenzymatickou autooxidaci, za vzniku oxysterolu. Hlavními oxysteroly jsou 7α -OH-cholesterol vznikající v játrech a 27 -OH-cholesterol vznikající ve tkáních. Obecně oxysteroly řídí syntézu steroidů aktivací jaterního X receptoru, ale mohou se projevit také jako cytotoxické, a to v ateromovém plátu. Jako cytotoxický bereme 7α -OH-cholesterol, jelikož se může spontánně měnit na 7β -OH-cholesterol a dále na epoxycholesterol, přičemž se oba vyskytují v ateromovém plátu při ateroskleróze. Oxidované LDL částice mají i jiné biologické účinky, například stimulují uvolnění M-CSF (z angl. *monocyte colony stimulating factor*), který způsobuje diferenciaci monocytů na makrofágy. Dalším účinkem oxidovaných LDL částic je snížení exprese genů pro endotelovou NO-syntázu (NOS), nízká koncentrace NOS stimuluje proliferaci hladké svaloviny cévní stěny, vede k vazokonstrikci a podporuje agregaci trombocytů (70). Biologické účinky oxidovaných LDL částic jsou zprostředkovány aktivací transkripčních faktorů. Mezi hlavní faktory, které oxidované LDL částice aktivací ovlivňují, patří AP-1 a NF- κ B (70).

Jakmile je oxidovaná forma LDL fagocytována makrofágy, aktivuje je, stejně jako T buňky. Aktivací dochází k tvorbě chemokinů, jako je monocytový chemoatraktant-protein 1 (MCP-1), cytokinů a růstových faktorů, které navozují další poškození, případně i ložiskovou nekrózu. Mezi prozánětlivé cytokiny řadíme TNF- α a IL-1, které podporují vazbu LDL částic na endotel a hladkou svalovinu. Antiaterogenně působí reverzní transport cholesterolu do jater, umožněný HDL částicemi. Z makrofágů se posléze stávají pěnové buňky. Oxidované LDL částice jsou pohlcovány makrofágy a z těchto LDL částic je pak uvolněn cholesterol. Stěna cévy se v místě poškození deformuje, ztlušťuje, a má prokoagulační vlastnosti. Změnu tloušťky se nejprve cévní stěna snaží vyrovnat dilatací, progresivnímu zánětu se však nedokáže dlouhodobě přizpůsobovat, a tak v důsledku rozvoje zánětu dochází k již zmíněným deformacím. Rozvíjející se zánět zvyšuje počet lymfocytů a makrofágů, které mohou vznikat v místě léze proliferací, nebo se na místo poškození dostat krevním oběhem (69).

Odstraněním oxidovaných LDL částic lze minimalizovat škodlivý účinek na endotel a hladkou svalovinu. Aplikací vitamínu E jako antioxidantu, je možné snížit tvorbu reaktivních

forem kyslíku a dusíku. Tyto částice podporují zánětlivou reakci stimulací replikace monocytů, makrofágů a přívod nových monocytů do místa poškození stěny (35).

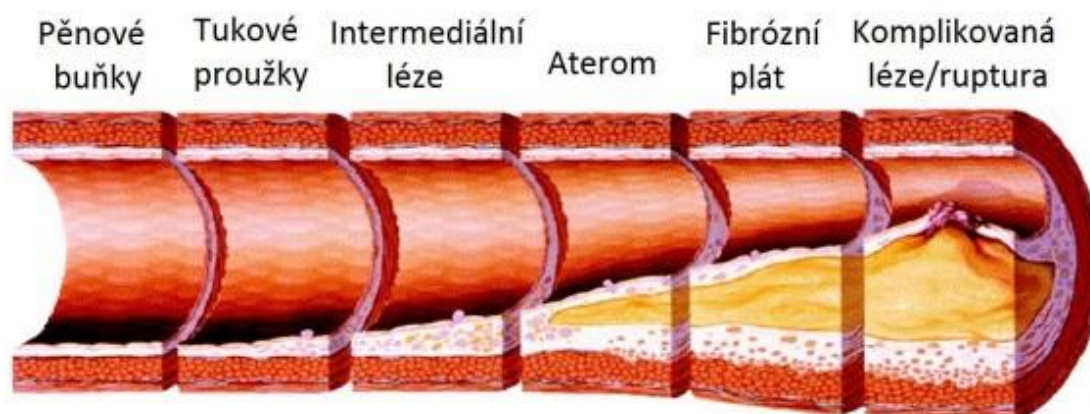


Obrázek 9: Dysfunkce endotelu (převzato z (35))

Makrofágy mohou kromě pěnových buněk produkovat také cytotoxické látky, jako je TNF, růstový faktor nebo volné radikály. Tyto látky mohou způsobit další poškození endotelu, a zapříčinit vyšší oxidaci LDL, což vede k navazujícím metabolickým změnám. Nahromaděné pěnové buňky tvoří lipidní pruhy ve stěně tepny. Dalším stádiem vývoje pěnových buněk je jejich prasknutí, čímž vzniká volná cesta pro estery cholesterolu. Celý proces vede k vytvoření ateromového neboli aterosklerotického plátu, který je tvořen buněčnými komponenty, jako jsou lymfocyty, dendrické buňky, žírné buňky, endotelové buňky, dále nebuněčnými komponenty jako je pojivová tkáň, poté tukovým materiálem, jakožto cholesterolem a v poslední řadě i zbytky mrtvých buněk (69). Některé pěnové buňky, které se vyvíjejí v lézi intimy, apopticky umírají. Při apoptóze buňka vytváří nekrotické jádro bohaté na lipidy. Samotné pláty se skládají z tukového jádra a vazivové, fibrózní čepičky, a můžeme je rozdělit na stabilní a nestabilní.

Na povrchu stabilního drsného plátu adherují trombocyty, jejichž aktivací dochází k uvolnění kyseliny arachidonové. Působením cyklooxygenasy se kyselina arachidonová mění na prostaglandiny, konkrétně tromboxan A₂, který způsobuje vazokonstrikci a podporuje agregaci trombocytů. Pokud na kyselinu působí lipoxygenasy vznikají leukotrieny, zesilující

zánětlivou reakci. Jestliže je fibrózní čepička ateromového plátu v artérii dostatečně silná, nehrozí ruptura plátu a ucpání arterie, nicméně průtok krve snižuje. Makrofágy napomáhají lýze extracelulární matrice, T buňky produkují $TNF-\alpha$, který brání syntéze kolagenu v buňkách hladkého svalstva. Oba tyto procesy oslabují vláknitou čepičku plaku, a mohou ji i zničit, čímž dojde k vytvoření nestabilního ateromového plátu. Vystavením kolagenu a lipidů krevnímu oběhu, dojde k agregaci krevních destiček a tvorbě krevních sraženin, které vedou k zamezení průtoku krve tepnou a následnému vzniku ischemie, nebo úplnému ucpání s následkem infarktu či akutní cévní mozkové příhody. Ischemie je stav, při kterém dochází k nedostatečnému prokrvení, a tím i nedostatečnému okysličení tkáně, akutní hypoxii. U infarktu dochází k úplnému přerušení dodávky kyslíku a v důsledku toho ke vzniku nekrózy. Přejít plátu z nestabilního na stabilní je poměrně rychlý proces (71). Klinické příznaky onemocnění se projevují, až když dochází k rupturám obalu ateromového plátu, krvácením do plátu, vzniku trombózy nebo embolizace (35).



Obrázek 10: Průřez arterií znázorňující progresi aterosklerózy (převzato z (35))

Odezva buněk na podněty vyvolávající aterogenezi je zprostředkována prostřednictvím signálních drah. Mezi nejznámější signalizaci zánětlivé a proliferační odpovědi patří dráha MAPK (z angl. *mitogen activated protein kinase*). Hlavní úlohu při buněčném přenosu signálů odpovídajících na aterogenní stimuly hrají transkripční faktory, konkrétně nukleární faktor kappa B ($NF-\kappa B$), dále receptory aktivované proliferátory peroxisomů ($PPARs-\alpha,\beta,\gamma$, z angl. *peroxisome proliferator activated receptors*) a aktivátorový protein 1 ($AP-1$).

$PPARs$ jsou jaderné hormonální receptory, jejichž přirozeným ligandem jsou mastné kyseliny, leukotrien a prostaglandiny. $PPAR\alpha$ zlepšuje reverzní transport cholesterolu zvýšenou

transkripcí genů pro ApoA1 a ApoA2, a zároveň negativně ovlivňuje syntézu COX-2. PPAR α receptor je prezentován v játrech, ledvinách, svalech, ale i v srdci, kde stimuluje β -oxidaci mastných kyselin. PPAR γ , prostřednictvím snížené transkripční aktivity pro COX-2 a TNF- α , zase podporuje protizánětlivý účinek konjugované kyseliny linolové (35).

Pokud ateroskleróza ohrožuje pacienta natolik, že může dojít k infarktu myokardu, je situace řešena perkutánní koronární intervencí s následnou implantací stentu. Odpovědí organismu na tento proces je spuštění zánětlivé odpovědi. V souladu s tímto faktem se stenty potahují protizánětlivými léčivými (23).

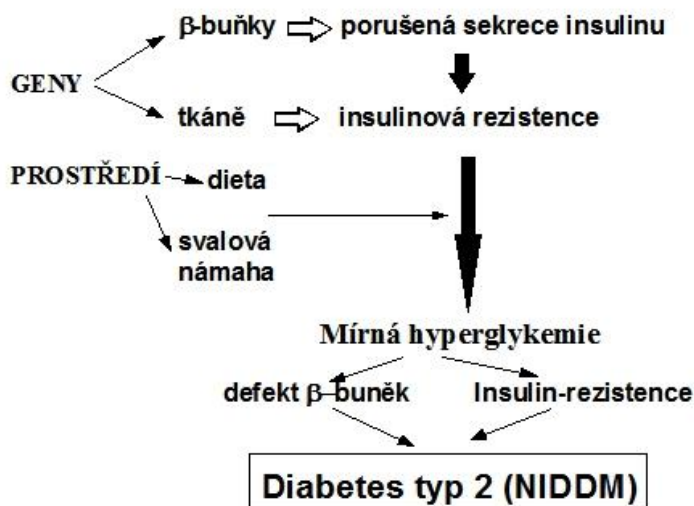
4.4.2 *Diabetes mellitus 2. typu*

Diabetes mellitus 2. typu, taktéž označován jako T₂DM, nebo NIDDM (non-inzulin-dependentní *diabetes mellitus*), je komplexní metabolická porucha, charakterizovaná neschopností organismu zpracovávat glukózu v důsledku relativního, až absolutního nedostatku inzulínu a současné periferní inzulínové rezistenci. Tato neschopnost se odráží ve zvýšené hladině glukózy v krvi.

Mastné kyseliny jsou uloženy ve formě fosfolipidů v membránách tukových buněk a slouží jako zdroj energie během lačnění. Předpokládá se, že tekutost buněčných membrán je důležitým faktorem ve spojení mastných kyselin s rizikem onemocnění *diabetes mellitus 2. typu*. Pro měření tekutosti membrán byl nedávno navržen lipofilní index, odvozený z profilu mastných kyselin krve nebo tkání. Lipofilní index je charakterizován jako průměrná míra teplot tání mastných kyselin. Vyšší lipofilní index v plazmě a tukových buňkách odráží sníženou tekutost mastných kyselin a je spojen s vyšším rizikem ICHS. Souvislost lipofilního indexu s erytrocyty nebyla prokázána. Studie *Krögera* dává přesné údaje o podílu jednotlivých mastných kyselin v membránách erytrocytů a lipofilním indexu. Nejvyšší podíly v membránách erytrocytů byly pozorovány u kyseliny palmitové (22,3 %), stearové (13,8 %), olejové (12,7 %), arachidonové (13,3 %) a linolové (10,8 %). Ačkoliv složení mastných kyselin v erytrocytových membránách, ve srovnání s dalšími buňkami důležitými pro metabolismus glukózy, jako jsou hepatocyty nebo svalové buňky, není stejné, mají společný rys. Ten spočívá ve výměně membránových fosfolipidů s plazmatickými fosfolipidy. Mezi zavedené markery rizika diabetu patří kyselina stearová, linolová a eikosatrienová. Studie mastných kyselin na membránách erytrocytů ve spojení s rizikem *diabetes mellitus 2. typu* pozorovala silnou asociaci s kyselinou γ -linolenovou a palmitoolejovou. Lipofilní index pozitivně koreloval s jednotlivými nasycenými mastnými kyselinami a negativně

s polynenasycenými kyselinami. Vyšší riziko vzniku *diabetes mellitus* 2. typu bylo pozorováno při vysokém lipofilním indexu odrážejícím nižší tekutost membrán erytrocytů (72).

Inzulin je silný inhibitor lipolýzy a omezuje uvolňování mastných kyselin z adipocytů inhibicí enzymu hormon senzitivní lipázy. U T₂DM pacientů je schopnost inzulínu inhibovat lipolýzu snižena, což můžeme pozorovat při podání radioaktivního palmitátu a sledování jeho metabolismu. V současné době se výzkumy shodují, že chronicky zvýšená koncentrace volných mastných kyselin v plazmě způsobuje inzulínovou rezistenci v játrech a svalech, a zároveň zhoršuje sekreci inzulínu. Zvýšená hladina volných mastných kyselin tedy může zhoršit patologické poruchy, které jsou u jedinců s T₂DM odpovědné za zhoršení homeostázy glukózy. Kromě zvýšené koncentrace volných mastných kyselin v plazmě, mají pacienti s T₂DM zvýšenou také koncentraci triacylglycerolů ve svalech a játrech, které korelují s inzulínovou rezistencí v těchto tkáních. Metabolity intracelulární lipolýzy triacylglycerolů ve svalech a játrech zhoršují působení inzulínu na tyto tkáně a jsou označovány za lipotoxické. Právě o zmíněné lipotoxicitě se uvažuje jako o možné příčině dysfunkce β buněk (73).



Obrázek 11: Rozvoj *diabetes mellitus* 2. typu (převzato z (74))

Na základě proběhlých výzkumů a studií lze předpokládat, že dysfunkční tukové buňky poskytují spojení mezi chronickým zánětem, inzulínovou rezistencí, T₂DM a aterosklerózou. Proteiny akutní fáze, mezi které řadíme CRP, fibrinogen, faktory komplementu, PAI-1, kyselinu sialovou a sérový amyloid A, jsou u pacientů s T₂DM a u jedinců s onemocněním koronárních tepen značně zvýšeny. Tyto proteiny jsou stimulovány faktory TNF- α , IL

a leptinem, které jsou uvolňovány z bílých krvinek nebo adipocytů. Leptin je produkován adipocyty a následně vylučován do krevního řečiště. Jedná se o látku potlačující chuť k jídlu. Leptin působí přímo i na makrofágy, kde zvyšuje fagocytární aktivitu s následnou produkcí zánětlivých cytokinů, a taktéž zajišťuje, aby makrofágy vykazovaly plnou imunokompetenci. Mechanismy inzulinové rezistence při chronickém zánětu doposud nebyly řádně objasněny a jsou předmětem dalších výzkumů. Jednou z možností může být aktivace fosforylační kaskády serinu/threoninu, které na jedné straně vedou k aktivaci NF- κ B faktoru a následné transkripční regulaci, na straně druhé k serinové fosforylaci inzulinových receptorů signalizačního systému IRS-1. Důkazem podporujícím tuto teoretickou cestu je pozorování, že vysoké dávky salicylátů zlepšily citlivost na inzulin prostřednictvím inhibice IKK- β kinázy. IKK- β indukuje inzulinovou rezistenci tím, že způsobuje serinovou fosforylaci IRS-1 a následnou inhibici inzulinové signální kaskády.

Zvýšená koncentrace LDL částic v plazmě podporuje jejich zvýšenou oxidaci a glykaci, jak již bylo uvedeno. Na rozdíl od oxidace, glykace může probíhat i mimo cévní stěnu volně v krevním řečišti. Reakce probíhá na ϵ -aminoskupině lyzinu ApoB₁₀₀ proteinu, na kterou se naváže molekula glukózy. Aby reakce mohla proběhnout, je zapotřebí dlouhodobě zvýšené hladiny glukózy v krvi, jak tomu je u diabetiků (70).

Rešerše *Jackson a Harrise* porovnává 20 kohortních studií, které posuzují vztah mezi diabetem 2. typu a hladinami kyseliny linolové a arachidonové v krvi. Studie prokázaly, že zvýšená hladina LA v krvi byla spojena s nižším rizikem T₂DM, a to až o 37 %, dále se sníženým rizikem kardiovaskulárních onemocnění a celkovou úmrtností. Nashromážděná data tudíž vyvracejí myšlenku, že všechny ω -6 jsou škodlivé. Kyselina arachidonová s rizikem T₂DM spojena nebyla. S rizikem vzniku *diabetes mellitus* 2. typu byla přímo spojena kyselina γ -linolenová, dihomogamma-linolenová a DHA (36).

Dle rešerše *Enzenbacha a kolegů* kyselina γ -linolenová a dihomogamma-linolenová souvisí se zvýšeným C-reaktivním proteinem, který je citlivým markerem zánětu, a jehož hodnoty se zvyšují u onemocnění *diabetes mellitus* 2. typu (75).

5 ZÁVĚR

Mastné kyseliny jsou jednou z hlavních součástí buněčných membrán, ve kterých se vyskytují ve formě fosfolipidů společně s proteiny, glykoproteiny, glykolipidy a steroly.

Do membrán buněk se mohou začlenit *de novo* syntézou, nebo endogenním příjmem. Podílejí se na udržování tekutosti a mohou působit jako hormony lipidové povahy. Z fosfolipidů buněčných membrán se mastné kyseliny mohou uvolnit a sloužit jako signální molekuly při rezoluci zánětu, ale především jako mediátory zánětlivé reakce, a být tak zapojeny v patogenezi kardiovaskulárních onemocnění nebo *diabetes mellitus* 2. typu.

Zánět je schopnost organismu odpovídat na tkáňové poškození různého typu. Obranný proces však může mít vliv i na rozvoj chronického zánětlivého procesu. Zánětlivý proces je regulován mediátory, které mohou být prozánětlivé nebo proresoluční. Mezi proresoluční mediátory patří zejména lipoxiny a resolviny řady E, jejichž společným prekurzorem je EPA, dále protektiny, resolviny řady D a maresiny, jejichž prekurzorem je DHA. Dalšími mediátory zánětu jsou například cytokiny, DAMPs, PAMPs, reaktivní formy kyslíku a dusíku nebo eikosanoidy.

Eikosanoidy jsou produkty kyseliny arachidonové. Společně s kyselinou eikosapentaenovou jsou prekurzory prozánětlivých leukotrienů 5. řady a prostanoidů 3. řady – tromboxanů, prostacyklinů a prostaglandinů. Jak prostaglandiny tak leukotrieny jsou produkovány časně po zahájení zánětu a podporují vznik edému z postkapilárních žil, ve kterém se společně s destičkami hromadí a aktivují komplementovou kaskádu.

Ischemická choroba srdeční je onemocněním koronárních tepen, vedoucí k jejich zužování a nedostatečnému zásobení srdeční tkáně krví. Příčinou je ateroskleróza, což je chronický zánětlivý proces, na jehož rozvoji se podílí i kyselina myristová. Ta za pomoci *toll-like* receptoru 2 a 4 *up*-reguluje transkripční faktor NF- κ B. V jádře buňky nesoucí NF- κ B faktor se regulací aktivují geny, které se podílejí na patologii cévních stěn.

Mediátory vzniklé z mastných kyselin mají v případě proresolučního působení potenciál v léčbě civilizačních chorob jako jsou *diabetes mellitus* 2. typu nebo ateroskleróza a tedy kardiovaskulární onemocnění, jelikož zvyšují absorpci krevních sraženin makrofágy a podílejí se na regulaci zánětlivého procesu. Je zapotřebí dalších studií zaměřujících se na signalizační dráhy, aby byl pochopen mechanismus působení a dalo se potenciálu proresolučních mediátorů využít v léčebný prospěch.

6. LITERÁRNÍ ZDROJE

1. **Cooper, G.** The Cell: A Molecular Approach. 2nd edition. *Sinauer Associates*. [Online] 2000. [Citace: 23. 11 2020.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9928/>. ISBN-10: 0-87893-106-6.
2. **Kinneret, K.** Cell motility: the integrating role of the plasma membrane. *European Biophysics Journal*. [Online] 11. 8 2011. [Citace: 12. 12 2020.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3158336/>.
3. **Li, H. a Lykotrafitis, G.** Erythrocyte membrane model with explicit description of the lipid bilayer and the spectrin network. *Biophysical Journal*. [Online] 5. 8 2014. [Citace: 24. 11 2020.] str. 642-653. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4129483/>.
4. **Mohandas, N. a Xiuli, A.** Disorders of red cell membrane. *Wiley online library*. [Online] 9. 4 2008. [Citace: 27. 11 2020.] <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2141.2008.07091.x>.
5. **Staňková, B., a další.** Mastné kyseliny 1. Výskyt a biologický význam. *Časopis lékařů českých*. 29. 1 2009, 148, stránky 16-24.
6. **Tvrzická, E., a další.** Fatty acids as biocompounds: their role in human metabolism, health and disease - a review. Part 1: classification, dietary sources and biological functions. *Biomed Papers Upol*. [Online] 13. 6 2011. [Citace: 3. 12 2020.] <https://biomed.papers.upol.cz/pdfs/bio/2011/02/03.pdf>.
7. **Murray, R. K.** *Harperova biochemie*. Praha : H&H, 1998. str. 492. ISBN 978-80-7262-907-7.
8. **Feingold, K. R.** Introduction to Lipids and Lipoproteins. *Endotext*. [Online] 19. 1 2021. [Citace: 15. 3 2021.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK305896/>.
9. **Kremmyda, L. S., a další.** Fatty acids as biocompounds: their role in human metabolism, health and disease - a review part 2: fatty acid physiological roles and applications in human health and disease. *Biomedical Papers*. [Online] 13. 4 2011. [Citace: 28. 11 2020.] <https://biomed.papers.upol.cz/pdfs/bio/2011/03/01.pdf>.
10. **Karupaiah, T. a Sundram, K.** Effects of stereospecific positioning of fatty acids in triacylglycerol structures in native and randomized fats: a review of their nutritional

implications. *Nutrition & Metabolism*. [Online] 12. 7 2007. [Citace: 16. 12 2020.] <https://nutritionandmetabolism.biomedcentral.com/articles/10.1186/1743-7075-4-16#citeas>.

11. **Lingwood, D. a Simons, K.** Lipid rafts as a membrane-organizing principle. *Science*. [Online] 1. 1 2010. [Citace: 15. 12 2020.] str. 46-50. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20044567/>.

12. **Musil, J., Nováková, O. a Levá, V.** *Biochemie v obrazech a schématech*. Praha : Avicentrum, 1989. stránky 70 - 79.

13. **Kand'ár, R.** *Vybrané kapitoly z obecné biochemie, klinické biochemie a pathobiochemie*. Pardubice : Univerzita Pardubice, 2015.

14. **Fenton, J. I., a další.** Red blood cell PUFAs reflect the phospholipid PUFA composition of major organs. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. [Online] 8. 9 2016. [Citace: 18. 12 2020.] [https://www.plefa.com/article/S0952-3278\(16\)30123-5/fulltext#articleInformation](https://www.plefa.com/article/S0952-3278(16)30123-5/fulltext#articleInformation).

15. **Hodson, L., Skeaff, C. M. a Fielding, B. A.** Fatty acid composition of adipose tissue and blood in humans and its use as a biomarker of dietary intake. *Progress in Lipid Research*. [Online] 4. 4 2008. [Citace: 12. 11 2020.] str. 348-380. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18435934/>.

16. **Liguori, I., a další.** Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical Interventions in Aging*. [Online] 26. 4 2018. [Citace: 19. 12 2020.] str. 752-772. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5927356/>.

17. **Ayala, A., Muñoz, M. F. a Argüelles, S.** Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. [Online] 8. 5 2014. [Citace: 10. 11 2020.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4066722/>.

18. **Dröge, Wulf.** Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*. [Online] 1. 1 2002. [Citace: 10. 11 2020.] <https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/physrev.00018.2001>.

19. **Z., Chmátalová.** Biochemie volných radikálů a oxidační stres. *DocPlayer*. [Online] 2017. [Citace: 11. 7 2021.] <https://docplayer.cz/22216257-Biochemie-volnych-radikalu-a-oxidacni-stres-zuzana-chmatalova.html>.

20. **Sokola-Wysoczańska, E., a další.** Polyunsaturated Fatty Acids and Their Potential Therapeutic Role in Cardiovascular System Disorders—A Review. *Nutrients*. [Online] 10. 10 2018. [Citace: 5. 12 2020.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6213446/>.
21. **Kimura, I., a další.** Free Fatty Acid Receptors in Health and Disease. *Physiological Reviews*. [Online] 1. 1 2020. [Citace: 10. 12 2020.] <https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/physrev.00041.2018>.
22. **Fritsche, K. L.** The Science of Fatty Acids and Inflammation. *Advances in Nutrition*. [Online] 6. 5 2015. [Citace: 19. 11 2020.] str. 293-301. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4424767/>.
23. **Jindrová, A.** Vliv mastných kyselin membrán erytrocytů a fosfolipidů séra na dynamiku zánětlivých markerů po implantaci koronárního stentu u nemocných s ischemickou chorobou srdeční. *Digitální knihovna Univerzity Pardubice*. [Online] 1. 5 2018. [Citace: 5. 6 2021.] https://dk.upce.cz/bitstream/handle/10195/70788/JindrovaA_Vliv_mastnych_VNM_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
24. **Kawasaki, T. a Kawai, T.** Toll-Like Receptor Signaling Pathways. *Frontiers in Immunology*. [Online] 25. 9 2014. [Citace: 27. 12 2020.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4174766/>.
25. **Roh, J. S. a Sohn, D. H.** Damage-Associated Molecular Patterns in Inflammatory Diseases. *Immune Network*. [Online] 13. 8 2018. [Citace: 12. 1 2021.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6117512/>.
26. **Erridge, C. a Samani, N. J.** Saturated fatty acids do not directly stimulate Toll-like receptor signaling. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. [Online] 29. 11 2009. [Citace: 20. 10 2020.] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19661481/>.
27. **Farhana, A. a Khan, Y. S.** Biochemistry, Lipopolysaccharide. *StatPearls Publishing*. [Online] 29. 4 2021. [Citace: 20. 5 2021.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554414/>.
28. **Lee, J. Y., a další.** Saturated fatty acids, but not unsaturated fatty acids, induce the expression of cyclooxygenase-2 mediated through Toll-like receptor 4. *Journal of Biological Chemistry*. [Online] 18. 5 2001. [Citace: 2. 12 2020.] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11278967/>.

29. **Liaunardy-Jopeace, A. a Gay, N. J.** Molecular and Cellular Regulation of Toll-Like Receptor-4 Activity Induced by Lipopolysaccharide Ligands. *Frontiers in Immunology*. [Online] 6. 10 2014. [Citace: 2. 6 2021.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4186342/>.
30. **Oosting, M., a další.** Human TLR10 is an anti-inflammatory pattern-recognition receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. [Online] 21. 10 2014. [Citace: 26. 5 2020.] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25288745/>.
31. **Slepička, J.** Význam TLR-4 receptorů pro modulaci nociceptivní signalizace. *Bakalářská práce*. [Online] Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Katedra fyziologie, 2016. [Citace: 7. 6 2021.] Vedoucí práce Paleček, Jiří. https://dspace.cuni.cz/bitstream/handle/20.500.11956/78817/BPTX_2015_1_11310_0_41255_1_0_172370.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
32. **Cani, P. D., a další.** Metabolic Endotoxemia Initiates Obesity and Insulin Resistance. *Diabetes*. [Online] 7 2007. [Citace: 18. 12 2020.] <https://diabetes.diabetesjournals.org/content/56/7/1761.long>.
33. **Calder, P. C.** Functional Roles of Fatty Acids and Their Effects on Human Health. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*. [Online] 15. 7 2015. [Citace: 13. 2 2021.] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26177664/>.
34. **Noce, A., a další.** Potential Cardiovascular and Metabolic Beneficial Effects of ω -3 PUFA in Male Obesity Secondary Hypogonadism Syndrome. *Nutrients*. [Online] 20. 8 2020. [Citace: 26. 11 2020.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7551945/>.
35. **Masopust, J.** Patogeneze aterosklerózy. *Stefair*. [Online] 13. 5 2005. [Citace: 13. 5 2021.] <https://www.stefajir.cz/files/Atero.pdf>.
36. **Jackson, K. H. a Harris, W. S.** Blood Fatty Acid Profiles: New Biomarkers for Cardiometabolic Disease Risk. *Curr Atheroscler Rep*. [Online] 20. 3 2018. [Citace: 23. 6 2021.] <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11883-018-0722-1>.
37. **Yilmaz, M., Claiborn, K. C. a Hotamisligil, G. S.** De Novo Lipogenesis Products and Endogenous Lipokines. *Diabetes*. [Online] 10. 6 2016. [Citace: 29. 12 2020.] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27288005/>.

38. **Song, Z., Xiaoli, A. M. a Yang, F.** Regulation and Metabolic Significance of De Novo Lipogenesis in Adipose Tissues. *Nutrients*. [Online] 29. 9 2018. [Citace: 2. 11 2020.] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30274245/>.
39. **Dupal, L.** Kyselina eruková, riziko řepkového oleje? *Spotřebitel za kvalitou*. [Online] 15. 9 2017. [Citace: 15. 12 2020.] <https://spotrebitelzakvalitou.cz/users/files/famy-bludy/Erukova-kyselina.pdf>.
40. **Djoussé, L., a další.** Red Blood Cell Membrane Concentration of cis - Palmitoleic and cis - Veccenic Acids and Risk of Coronary Heart Disease. *The Americans Journal of Cardiology*. [Online] 12. 5 2012. [Citace: 30. 6 2021.] https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3408824/#__ffn_sectitle.
41. **Estruch, R., Ros, E. a Salas-Salvadó, J. et al.** Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *New England Journal of Medicine*. [Online] 25. 2 2013. [Citace: 19. 12 2020.] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23432189/>.
42. **Itcho, K., Yoshii, Y. a Ohno, H. et al.** Association between Serum Elaidic Acid Concentration and Insulin Resistance in Two Japanese Cohorts with Different Lifestyles. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*. [Online] 1. 12 2017. [Citace: 14. 11 2020.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5742366/>.
43. **Khodarahmi, M. a Azadbakht, L.** The Association Between Different Kinds of Fat Intake and Breast Cancer Risk in Women. *International Journal of Preventive Medicine*. [Online] 1 2014. [Citace: 8. 12 2020.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3915474/>.
44. **Zhu, Y., Bo, Y. a Liu, Y.** Dietary total fat, fatty acids intake, and risk of cardiovascular disease: a dose-response meta-analysis of cohort studies. *Lipids in Health and Disease*. [Online] 6. 4 2019. [Citace: 8. 11 2020.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6451787/>.
45. **Zapolska, D., Bryk, D. a Olejarz, W.** Trans Fatty Acids and Atherosclerosis-effects on Inflammation and endothelial function. *Journal of Nutrition & Food Sciences*. [Online] 2015. [Citace: 10. 11 2020.] <https://www.longdom.org/open-access/trans-fatty-acids-and-atherosclerisiseffects-on-inflammation-and-endothelial-function-2155-9600-1000426.pdf>.

46. **Packard, R. S., Lichtman, A. H. a Libby, P.** Innate and Adaptive Immunity in Atherosclerosis. *Seminars in Immunopathology*. [Online] 31. 6 2009. [Citace: 26. 11 2020.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2823132/>.
47. **Mozaffarian, D., Aro, A. a Willett, W. C.** Health effects of trans-fatty acids: experimental and observational evidence. *European Journal of Clinical Nutrition*. [Online] 5 2009. [Citace: 6. 12 2020.] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19424218/>.
48. **De Roos, M. M., Bots, M. L. a Martijn, B.** Replacement of dietary saturated fatty acids by trans fatty acids lowers serum HDL cholesterol and impairs endothelial function in healthy men and women. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. [Online] 7 2001. [Citace: 29. 9 2020.] https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/hq0701.092161?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed.
49. **Iwata, N. G., a další.** Trans fatty acids induce vascular inflammation and reduce vascular nitric oxide production in endothelial cells. *PLoS ONE*. [Online] 28. 12 2011. [Citace: 16. 1 2021.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3247279/>.
50. **Drake, C. M., Burton, J. L. a Shui-Lin, N.** Trans fatty acid derived phospholipids show increased membrane cholesterol and reduced receptor activation as compared to their cis analogs. *Biochemistry*. [Online] 22. 3 2005. [Citace: 28. 9 2020.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1779501/>.
51. **Nindrea, R. D., a další.** Association of Dietary Intake Ratio of n-3/n-6 Polyunsaturated Fatty Acids with Breast Cancer Risk in Western and Asian Countries: A Meta-Analysis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. [Online] 2019. [Citace: 8. 12 2020.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6857870/>.
52. **Kalogeropoulos, N., a další.** Unsaturated fatty acids are inversely associated and n-6/n-3 ratios are positively related to inflammation and coagulation markers in plasma of apparently healthy adults. *Clinica Chimica Acta*. [Online] 26. 1 2010. [Citace: 30. 6 2021.] <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0009898110000549?via%3Dihub>.
53. **Ander, B. P., a další.** Polyunsaturated fatty acids and their effects on cardiovascular disease. *Experimenta & Clinical Cardiology*. [Online] 2003. [Citace: 20. 10 2020.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2719153/>.

54. **Kris-Etherton, P. M., Harris, W. S. a Appel, L. J.** Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: new recommendations from the American Heart Association. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. [Online] 1. 2 2003. [Citace: 20. 4 2021.] https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/01.atv.0000057393.97337.ae?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed.
55. **Schacky, C., a další.** The effect of dietary omega-3 fatty acids on coronary atherosclerosis. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Annals of Internal Medicine*. [Online] 6. 4 1999. [Citace: 2. 4 2021.] https://www.acpjournals.org/doi/10.7326/0003-4819-130-7-199904060-00003?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed&.
56. **Manson, J. E., Cook, N. R. a Lee, I. M. et al.** Marine n-3 Fatty Acids and Prevention of Cardiovascular Disease and Cancer. *New England Journal of Medicine*. [Online] 10. 11 2018. [Citace: 20. 3 2021.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6392053/>.
57. **Patterson, E., Wall, R. a Fitzgerald, G. F. et al.** Health Implications of High Dietary Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acids. *Journal of Nutrition and Metabolism*. [Online] 5. 4 2012. [Citace: 6. 6 2021.] str. 1-16. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3335257/>. ISSN 2090-0724.
58. **Marion-Letellier, R., Savoye, G. a Ghosh, S.** Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *IUBMB Life*. [Online] 23. 9 2015. [Citace: 6. 6 2021.] <https://iubmb.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/iub.1428>. ISSN 15216543.
59. **Cholewski, M., Tomczykowa, M. a Tomczyk, M.** A Comprehensive Review of Chemistry, Sources and Bioavailability of Omega-3 Fatty Acids. *Nutrients*. [Online] 4. 11 2018. [Citace: 16. 5 2021.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6267444/>.
60. **Kapoor, R. a Huang, Y. S.** Gamma linolenic acid: an antiinflammatory omega-6 fatty acid. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. [Online] 12 2006. [Citace: 27. 3 2021.] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17168669/>.
61. **Dennis, E. A. a Norris, P. C.** Eicosanoid storm in infection and inflammation. *Nature Reviews Immunology*. [Online] 15. 9 2015. [Citace: 19. 1 2021.] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26139350/>.

62. **William, R. a Sordillo, L. M.** Dietary Polyunsaturated Fatty Acids and Inflammation: The Role of Phospholipid Biosynthesis. *International Journal of Molecular Sciences*. [Online] 22. 10 2013. [Citace: 6. 6 2021.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3821664/>. doi:10.3390/ijms141021167.
63. **Sala, A., Folco, G. a Murphy, R. C.** Transcellular biosynthesis of eicosanoids. *Pharmacological Reports*. [Online] 13. 8 2015. [Citace: 9. 2 2021.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4535419/>.
64. **Sonnweber, T., a další.** Arachidonic Acid Metabolites in Cardiovascular and Metabolic Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*. [Online] 23. 10 2018. [Citace: 26. 2 2021.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6274989/>.
65. **Lecerf, J. M.** Fatty acids and cardiovascular disease. *Nutrition Reviews*. [Online] 1. 5 2009. [Citace: 13. 4 2021.] <https://academic.oup.com/nutritionreviews/article/67/5/273/1825660>.
66. **Papáčková, Z. a Cahová, M.** Fatty Acid Signaling: The New Function of Intracellular Lipases. *International journal of molecular sciences*. [Online] 2 2015. [Citace: 20. 3 2021.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4346929/>.
67. **Kumar, V.** Toll-like receptors in immunity and inflammatory diseases: Past, present, and future. *International Immunopharmacology*. [Online] 4. 5 2018. [Citace: 24. 2 2021.] <https://europepmc.org/article/med/29730580#>.
68. **Cavalca, V., a další.** Oxidative stress and homocysteine in coronary artery disease. *Clin Chem*. [Online] 5 2001. [Citace: 6. 5 2021.] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11325893/>.
69. **Rafieian-Kopaei, M., a další.** Atherosclerosis: Process, Indicators, Risk Factors and New Hopes. *International journal of preventive medicine*. [Online] 8 2014. [Citace: 25. 4 2021.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4258672/>.
70. **Racek, J.** Oxidované LDL a ateroskleróza. *Labor aktuell*. [Online] 3 2010. [Citace: 10. 6 2021.] <https://objednavky.roche-diagnostics.cz/download/la/0310/OxidovaneLDL.pdf>.
71. **Češka, R.** *Cholesterol a ateroskleróza, léčba dislipidemií*. Praha : Triton, 2005. ISBN 80-7254-738-0.

72. **Kröge, J. a Simone, J. et al.** Erythrocyte membrane fatty acid fluidity and risk of type 2 diabetes in the EPIC-Potsdam study. *Diabetologia*. [Online] 25. 10 2014. [Citace: 30. 6 2021.] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4287658/>.

73. **Bays, H., Mandarino, L. a De Fronzo, R.** Role of the Adipocyte, Free Fatty Acids, and Ectopic Fat in Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus: Peroxisomal Proliferator-Activated Receptor Agonists Provide a Rational Therapeutic Approach. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. [Online] 1. 2 2004. [Citace: 2. 6 2021.] <https://academic.oup.com/jcem/article/89/2/463/2840736>.

74. **Masopust, J. a Průša, R.** Poruchy metabolismu glukózy. *Patobiochemie metabolických drah*. [Online] 29. 9 2011. [Citace: 7. 6 2021.] https://www.wikiskripta.eu/index.php?title=Poruchy_metabolismu_gluk%C3%B3zy&oldid=447189.

75. **Enzenbach, C. a Kröge, J. et al.** Erythrocyte membrane phospholipid polyunsaturated fatty acids are related to plasma C-reactive protein and adiponectin in middle-aged German women and men. *European Journal of Nutrition*. [Online] 8. 2 2011. [Citace: 30. 6 2021.] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21301856/>.