

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Poruchy metabolismu mastných kyselin u nemocných s nealkoholickou jaterní  
steatózou

Diplomová práce

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

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Libuše Mařanová**  
Osobní číslo: **C19542**  
Studijní program: **N0914P360001 Bioanalytická laboratorní diagnostika ve zdravotnictví**  
Studijní obor: **Bioanalytická laboratorní diagnostika ve zdravotnictví**  
Téma práce: **Poruchy metabolismu mastných kyselin u nemocných s nealkoholickou jaterní steatózou**  
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

### Zásady pro vypracování

#### Teoretická část:

- 1) Vypracujte literární rešerši se zaměřením na poruchy metabolismu mastných kyselin u nemocných s nealkoholickou jaterní steatózou.
- 2) Popište metodiku stanovení významných lipidů a mastných kyselin pro diagnostiku nealkoholické jaterní steatózy pomocí tenkovrstevné a plynové chromatografie.
- 3) Diskutujte literární údaje a navrhňte vlastní experimentální postup pro zlepšení diagnostiky nealkoholické jaterní steatózy pomocí tenkovrstevné a plynové chromatografie.

#### Experimentální část:

- 1) U pacientů s nealkoholickou jaterní steatózou a u kontrolní skupiny proveďte rozdělení EDTA plazmy do pěti tříd (fosfolipidy, diacylglyceroly, mastné kyseliny, triacylglyceroly a estery cholesterolu) pomocí preparativní chromatografie na tenké vrstvě.
- 2) Stanovte obsah mastných kyselin ve všech třídách lipidů pomocí plynové chromatografie.
- 3) Stanovte koncentrace mastných kyselin a lipogenních enzymů ve všech třídách lipidů u nemocných a kontrolní skupiny. Vypracujte jejich závislosti na koncentracích rutinních klinicko-biochemických analytech (celkový cholesterol, HDL, LDL, triacylglyceroly atd.), nebo na vlastních koncentracích lipidů (celkové mastné kyseliny, celkové mononenasyčené mastné kyseliny, celkové  $\omega$ -3 a  $\omega$ -6 mastné kyseliny atd.)
- 4) Proveďte statistické vyhodnocení výsledků, přehledně je prezentujte pomocí grafů a obrázků a diskutujte jejich použitelnost pro diagnózu nealkoholické jaterní steatózy.

Rozsah pracovní zprávy: **35 s.**  
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**  
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

**Seznam doporučené literatury:**

- 1) Pei K., Gui T., Kan D. et al: An Overview of Lipid Metabolism and Nonalcoholic Fatty Liver Disease, *BioMed Research International*, 2020, Article No. 4020249, 12 p.
- 2) Stefan N., Häring H-U., Cusi K.: Non-alcoholic fatty liver disease: causes, diagnosis, cardiometabolic consequences and treatment strategies, *Lancet Diabetes & Endocrinology*, 2019, vol. 4, p. 313-324.
- 3) Samuel V.T., Shulman G.I.: Nonalcoholic Fatty Liver Disease as a Nexus of Metabolic and Hepatic Diseases, *Cell Metabolism*, 2018, vol. 27, no. 9, p. 22-41.
- 4) Arab J.P., Arrese M., Trauner M.: Recent Insight into the Pathogenesis of Nonalcoholic Fatty Liver Disease, *Annual Review of Pathology: Mechanism of Disease*, 2018, vol. 13, p. 321-350.
- 5) William P. Esler W.P., Bence K.K.: Metabolic Targets in Nonalcoholic Fatty Liver Disease, *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 2019 Vol. 8, no. 2, p. 247-267.

Vedoucí diplomové práce: **prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.**  
Katedra biologických a biochemických věd

Konzultant diplomové práce: **Ing. Martina Špryncová**  
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání diplomové práce: **18. prosince 2020**

Termín odevzdání diplomové práce: **7. května 2021**

L.S.

---

**prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.**  
děkan

---

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

## **Prohlášení**

Prohlašuji:

Práci s názvem „Poruchy metabolismu mastných kyselin u nemocných s nealkoholickou jaterní steatózou“ 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 15.7.2021

Bc. Libuše Mařanová v. r.

## **Poděkování**

Mé poděkování patří především vedoucímu diplomové práce prof. Ing. Alexandrovi Čeganovi, CSc. a Ing. Martině Špryncové za pomoc při praktické části, odborné rady, trpělivost a ochotu, jež mi v průběhu zpracovávání práce věnovali. Dále bych ráda poděkovala Bc. Lucii Zelené za pomoc s grafickou úpravou. V neposlední řadě děkuji také své rodině a přátelům za podporu během celého studia.

## **ANOTACE**

Tato práce se zabývá nealkoholickou jaterní steatózou, onemocněním, pro které je charakteristická patologie lipidového metabolismu (konkrétně změna obsahu mastných kyselin a lipogenních enzymů v plazmě). Cílem experimentální části této práce bylo stanovení mastných kyselin v plazmě pacientů s onemocněním NAFLD a zdravých jedinců. Vzorky byly separovány tenkovrstvou chromatografií, pomocí níž byly rozděleny do pěti lipidových frakcí (fosfolipidy, diacylglyceroly, volné mastné kyseliny, triacylglyceroly a estery cholesterolu). Poté byla pomocí plynové chromatografie stanovena koncentrace jednotlivých mastných kyselin.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

jaterní steatóza, lipidový metabolismus, mastné kyseliny, plynová chromatografie, tenkovrstvá chromatografie

## **TITLE**

Disorders of fatty acid metabolism in patients with nonalcoholic hepatic steatosis

## **ANNOTATION**

This work deals with non-alcoholic liver steatosis, a disease characterized by the pathology of lipid metabolism (specifically changes in the content of fatty acids and lipogenic enzymes in plasma). The aim of the experimental part of this work was to determine the fatty acids in the plasma of patients with NAFLD and healthy individuals. The samples were separated by thin layer chromatography and divided into five lipid fractions (phospholipids, diacylglycerols, free fatty acids, triacylglycerols and cholesterol esters). The concentration of the individual fatty acids was then determined by gas chromatography.

## **KEYWORDS**

hepatic steatosis, lipid metabolism, fatty acids, gas chromatography, thin layer chromatography

# OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ, GRAFŮ A TABULEK .....	10
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK.....	12
ÚVOD.....	14
1 TEORETICKÁ ČÁST .....	15
1.1 Jaterní steatóza .....	15
1.1.1 Typy jaterní steatózy .....	15
1.2 Nealkoholová steatóza jater .....	16
1.2.1 Rizikové faktory.....	17
1.2.2 Patogeneze .....	18
1.2.2.1 Inzulinová rezistence v patogenezi NAFLD .....	20
1.2.3 Klinický obraz.....	21
1.2.4 Diagnostika .....	21
1.2.5 Terapie.....	23
1.3 Lipidy.....	24
1.3.1 Lipidy v organismu .....	25
1.3.2 Lipidový metabolismus při jaterní steatóze .....	26
1.3.2.1 Příjem lipidů játry.....	27
1.3.2.2 <i>De novo</i> lipogeneze.....	28
1.3.2.3 Oxidace mastných kyselin .....	30
1.3.2.4 Export lipidů.....	32
1.3.2.5 Shrnutí jaterního lipidového metabolismu při NAFLD .....	33
1.3.3 Vliv stravy na lipidový metabolismus.....	34
1.3.3.1 Tuky.....	35
1.3.3.2 Sacharidy.....	37
1.3.3.3 Proteiny.....	38
1.3.3.4 Vitaminy – E a D.....	38

1.3.3.5	Polyfenoly .....	39
1.4	Chromatografie.....	39
1.4.1	Plynová chromatografie.....	39
1.4.2	Tenkovrstvá chromatografie .....	41
1.4.3	Chromatografické metody využívané při analýze lipidů.....	43
2	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	45
2.1	Vzorky.....	45
2.2	Pomůcky a přístrojové vybavení pro GC a TLC .....	45
2.3	Chemikálie a další materiál.....	46
2.4	Postup práce .....	49
2.4.1	Denaturace bílkovin a extrakce lipidů.....	49
2.4.2	Tenkovrstvá chromatografie .....	49
2.4.3	Plynová chromatografie.....	51
3	VÝSLEDKY .....	53
3.1	Obsah vybraných mastných kyselin v jednotlivých frakcích.....	53
3.1.1	Fosfolipidy .....	54
3.1.2	Diacylglyceroly .....	55
3.1.3	Volné mastné kyseliny .....	56
3.1.4	Triacylglyceroly .....	57
3.1.5	Estery cholesterolu .....	58
3.2	Polynenasycené mastné kyseliny: omega-3 a omega-6.....	59
3.3	Mononenasycené mastné kyseliny .....	60
3.4	Nasycené mastné kyseliny .....	60
3.5	Aktivitní indexy enzymů.....	61
3.6	Závislost obsahu lipidových frakcí na koncentraci triacylglycerolu a cholesterolů...64	
4	DISKUZE.....	67
5	ZÁVĚR .....	70



6 POUŽITÁ LITERATURA.....	71
7 PŘÍLOHY .....	77

# SEZNAM ILUSTRACÍ, GRAFŮ A TABULEK

<b>Obrázek 1:</b> Schéma progresu onemocnění .....	16
<b>Obrázek 2:</b> Celosvětová prevalence NAFLD a NASH .....	17
<b>Obrázek 3:</b> Příčiny vzniku NAFLD .....	19
<b>Obrázek 4:</b> Terapie při jaterním poškození .....	24
<b>Obrázek 5:</b> Metabolické cesty při jaterní steatóze .....	27
<b>Obrázek 6:</b> Syntéza mastných kyselin v játrech .....	29
<b>Obrázek 7:</b> Shrnutí metabolismu lipidů v játrech u jedinců s NAFLD .....	34
<b>Obrázek 8:</b> Schéma plynového chromatografu .....	40
<b>Obrázek 9:</b> Princip TLC .....	42
<b>Obrázek 10:</b> Pořadí lipidových frakcí na TLC desce .....	50
<b>Obrázek 11:</b> Závislost obsahu MK na koncentraci TAG a cholesterolů ve frakci VMK u zdravých jedinců .....	65
<b>Obrázek 12:</b> Závislost obsahu MK na koncentraci TAG a cholesterolů ve frakci VMK u NAFLD pacientů .....	66
<b>Graf 1:</b> Průměrné koncentrace vybraných mastných kyselin ve frakci PL .....	54
<b>Graf 2:</b> Průměrné koncentrace vybraných mastných kyselin ve frakci PL .....	54
<b>Graf 3:</b> Průměrné koncentrace vybraných mastných kyselin ve frakci DAG .....	55
<b>Graf 4:</b> Průměrné koncentrace vybraných mastných kyselin ve frakci DAG .....	55
<b>Graf 5:</b> Průměrné koncentrace vybraných mastných kyselin ve frakci VMK.....	56
<b>Graf 6:</b> Průměrné koncentrace vybraných mastných kyselin ve frakci VMK.....	56
<b>Graf 7:</b> Průměrné koncentrace vybraných mastných kyselin ve frakci TAG.....	57
<b>Graf 8:</b> Průměrné koncentrace vybraných mastných kyselin ve frakci TAG.....	57
<b>Graf 9:</b> Průměrné koncentrace vybraných mastných kyselin ve frakci CE.....	58
<b>Graf 10:</b> Průměrné koncentrace vybraných mastných kyselin ve frakci CE.....	58
<b>Graf 11:</b> Celková koncentrace omega-3 PUFA v lipidových frakcích .....	59
<b>Graf 12:</b> Celková koncentrace omega-6 PUFA v lipidových frakcích .....	59
<b>Graf 13:</b> Celková koncentrace MUFA v lipidových frakcích .....	60
<b>Graf 14:</b> Celková koncentrace SFA v lipidových frakcích .....	60
<b>Graf 15:</b> Průměrná aktivita $\Delta 9$ -desaturázy v jednotlivých lipidových frakcích .....	61
<b>Graf 16:</b> Průměrná aktivita $\Delta 9$ -desaturázy v jednotlivých lipidových frakcích .....	61
<b>Graf 17:</b> Průměrná aktivita elongázy v jednotlivých lipidových frakcích .....	62
<b>Graf 18:</b> Průměrná aktivita $\Delta 5$ -desaturázy v jednotlivých lipidových frakcích .....	62
<b>Graf 19:</b> Průměrná aktivita $\Delta 6$ -desaturázy v jednotlivých lipidových frakcích .....	63
<b>Tabulka 1:</b> Vybrané mastné kyseliny.....	53
<b>Tabulka 2:</b> Význam závislosti obsahu MK na koncentraci TAG a cholesterolů u pacientů a kontrol .....	64
<b>Tabulka 3:</b> Biochemické parametry vzorků plazmy nemocných NAFLD .....	77
<b>Tabulka 4:</b> Biochemické parametry vzorků plazmy zdravé kontrolní skupiny.....	78

<b>Tabulka 5:</b> Koncentrace MK ve fosfolipidech – zdravá kontrola .....	79
<b>Tabulka 6:</b> Koncentrace MK ve fosfolipidech – zdravá kontrola (pokračování).....	80
<b>Tabulka 7:</b> Koncentrace MK ve fosfolipidech – steatóza.....	81
<b>Tabulka 8:</b> Koncentrace MK ve fosfolipidech – steatóza (pokračování) .....	82
<b>Tabulka 9:</b> Koncentrace MK v diacylglycerolech – zdravá kontrola.....	83
<b>Tabulka 10:</b> Koncentrace MK v diacylglycerolech – zdravá kontrola (pokračování).....	84
<b>Tabulka 11:</b> Koncentrace MK v diacylglycerolech – steatóza .....	85
<b>Tabulka 12:</b> Koncentrace MK v diacylglycerolech – steatóza (pokračování) .....	86
<b>Tabulka 13:</b> Koncentrace MK ve volných mastných kyselinách – zdravá kontrola .....	87
<b>Tabulka 14:</b> Koncentrace MK ve volných mastných kyselinách – zdravá kontrola (pokračování) .....	88
<b>Tabulka 15:</b> Koncentrace MK ve volných mastných kyselinách – steatóza.....	89
<b>Tabulka 16:</b> Koncentrace MK ve volných mastných kyselinách – steatóza (pokračování).....	90
<b>Tabulka 17:</b> Koncentrace MK v triacylglycerolech – zdravá kontrola.....	91
<b>Tabulka 18:</b> Koncentrace MK v triacylglycerolech – zdravá kontrola (pokračování) .....	92
<b>Tabulka 19:</b> Koncentrace MK v triacylglycerolech – steatóza.....	93
<b>Tabulka 20:</b> Koncentrace MK v triacylglycerolech – steatóza (pokračování).....	94
<b>Tabulka 21:</b> Koncentrace MK v esterech cholesterolu – zdravá kontrola .....	95
<b>Tabulka 22:</b> Koncentrace MK v esterech cholesterolu – zdravá kontrola.....	96
<b>Tabulka 23:</b> Koncentrace MK v esterech cholesterolu – steatóza.....	97
<b>Tabulka 24:</b> Koncentrace MK v esterech cholesterolu – steatóza (pokračování) .....	98

## SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

ACC	acetyl-CoA karboxyláza
ACOX	acetyl-CoA oxidáza
apoB	apolipoprotein B
ALT	alaninaminotransferáza
ALP	alkalická fosfatáza
AST	aspartátaminotransferáza
BMI	body mass index
CD36	translokáza mastných kyselin
CE	estery cholesterolu
ChREBP	protein vázající regulační prvek na sacharidy
CIC	citrátový transportér
CT	počítačová tomografie
CYP4A11	cytochrom P450 4A11
CYP2E1	cytochrom P450 2E1
DAG	diacylglyceroly
DNA	deoxyribonukleová kyselina
ER	endoplazmatické retikulum
ESI	elektrosprejová ionizace
ELOVL	enzym prodlužující mastné kyseliny
FABP	protein vázající mastné kyseliny
FAS, FASN	syntáza mastných kyselin
FATP	transportní proteiny mastných kyselin
FID	plamenoionizační detektor
GC	plynová chromatografie
GGT	gamaglutamyltransferáza
HCC	hepatocelulární karcinom
HDL	lipoprotein o vysoké hustotě
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
HPTLC	vysokoúčinná tenkovrstvá chromatografie
IL	interleukin

IRS	inzulinový receptorový substrát
LDL	lipoprotein o nízké hustotě
MALDI	matricí asistovaná laserová desorpce/ionizace
MK	mastné kyseliny
MRI	magnetická rezonance
MTTP	mikrosomální triglyceridový transferový protein
MUFA	mononenasyčené mastné kyseliny
NAFLD	nealkoholická jaterní steatóza
NASH	nealkoholová steatohepatitida
NF- $\kappa$ B	nukleární faktor kappa B
NMR	spektroskopie nukleární magnetické rezonance
PL	fosfolipidy
PNPLA3	<i>patatin-like phospholipase domain containing protein 3</i>
PPAR $\alpha$ , PPAR $\gamma$	receptor aktivovaný proliferátorem peroxisomu $\alpha$ , $\gamma$
PUFA	polynenasycené mastné kyseliny
ROS	reaktivní formy kyslíku
SCD1	stearoyl-CoA desaturáza 1
SFA	nasyčené mastné kyseliny
SREBP1c	protein vázající sterolový regulační element
TAG	triacylglyceroly, též triglyceridy
TK	krevní tlak
TLC	chromatografie na tenké vrstvě
TNF- $\alpha$	tumor nekrotizující faktor alfa
UV	ultrafialové
VLDL	lipoproteiny o velmi nízké hustotě
VMK	volné mastné kyseliny

## ÚVOD

Nealkoholická jaterní steatóza (NAFLD) představuje celosvětově nejrozšířenější chronické onemocnění jater se stále stoupající prevalencí. Jde o získané metabolické onemocnění charakterizované kumulací triacylglycerolů (TAG) ve více než 5 % hepatocytů, které není vyvoláno konzumací alkoholu. Nealkoholické ztučnění jater se může vyskytovat v několika formách, od prosté steatózy po nealkoholickou steatohepatitidu (NASH), která může být doprovázená nejen jaterní fibrózou, cirhózou ale i hepatocelulárním karcinomem (HCC). (Ullah, 2019)

Pro NAFLD je charakteristická inzulinová rezistence, zvýšené plazmatické hladiny volných mastných kyselin, jaterní steatóza, zánět jater, oxidační stres, mitochondriální dysfunkce a nevyvážené hladiny prozánětlivých cytokinů. Patogenezi NAFLD ovlivňují také faktory genetické, epigenetické, životní styl a složení stravy. Při nadvýživě či obezitě dochází ke změně metabolismu mastných kyselin v játrech, což následně vede ke kumulaci TAG v hepatocytech a k rozvoji NAFLD. Zatím není schválený žádný lék proti tomuto onemocnění. Pro účinnou prevenci a léčbu je třeba lépe porozumět mechanismům vedoucím k hromadění lipidů v játrech. V následujícím textu je pozornost věnována především patogenezi onemocnění, lipidovému metabolismu v játrech a stravě ovlivňující metabolismus lipidů.

Experimentální část se zaměřuje na stanovení lipidů u pacientů s NAFLD a zdravých jedinců pomocí tenkovrstvé (TLC) a plynové chromatografie (GC). Těmto technikám je věnována i samostatná kapitola v teoretické části. Výsledky jsou statisticky zpracovány pomocí grafů. Následně je diskutována použitelnost pro lepší diagnózu NAFLD.

# 1 TEORETICKÁ ČÁST

## 1.1 Jaterní steatóza

Jaterní steatóza představuje jeden z typů poškození jater, při němž dochází k ukládání lipidů v podobě tukových kapének v jaterní tkáni. Konkrétně je jaterní steatóza definována jako hromadění TAG v cytoplazmě hepatocytů přesahující 5 až 10 % hmotnosti jater nebo jako přítomnost tukových kapének ve více než 5 % hepatocytů. Prostá jaterní steatóza je ve většině případů benigním, bezpříznakovým onemocněním. Akumulace tuků v játrech nepředstavuje závažný problém, ale steatóza často stojí na počátku patologické kaskády dějů, která vede právě od prosté steatózy, přes steatofibrózu, jaterní cirhózu až po rozvoj hepatocelulárního karcinomu. Onemocnění se do fáze cirhózy většinou vyvíjí několik desetiletí. (Blonski, 2010; Lebl, 2012; Rinaldi, 2021)

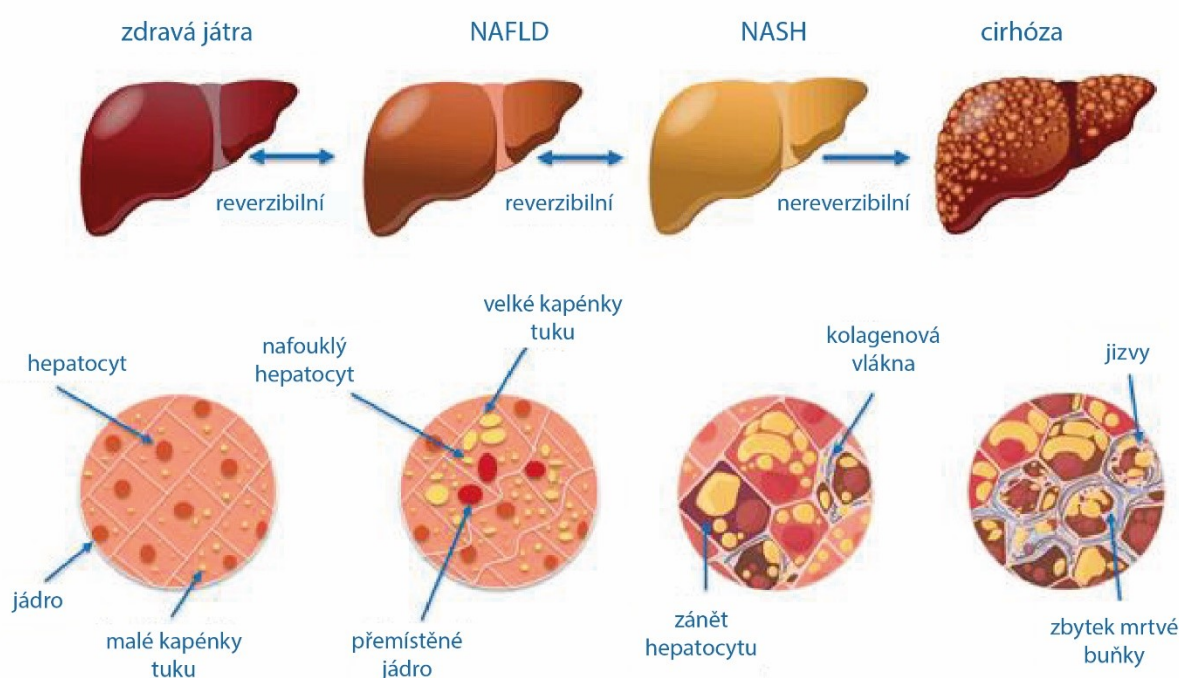
### 1.1.1 Typy jaterní steatózy

Jaterní steatóza se může vyskytovat v několika formách. Nejčastější formou je alkoholová steatohepatitida, která je způsobena nadměrnou konzumací alkoholu (dle Americké asociace pro studium jater je nadměrný příjem alkoholu definován jako týdenní množství vyšší než 210 g u mužů a 140 g u žen). Hlavní roli při rozvoji této formy steatózy hraje acetaldehyd, jenž tvoří adukty s proteiny a DNA, podporuje lipoperoxidaci, poškozuje mitochondrie a snižuje koncentraci glutathionu – důležitého antioxidantu. Vznikající acetát podporuje tvorbu zánětlivých cytokinů. Konzumovaný alkohol také porušuje fyziologickou střevní mikroflóru a zvyšuje tak střevní propustnost pro bakteriální lipopolysacharidy, které podporují dráhy produkující prozánětlivé cytokiny. Prognóza je závažná. Základem léčby je abstinence. (Ehrmann, 2017)

Další formy nesouvisejí s alkoholem, ale charakterizují je stejné histologické změny jako u alkoholového postižení jater. Tyto jednotlivé stupně na sebe navazujících poškození jater (prostá jaterní steatóza, nealkoholová steatohepatitida, fibróza, cirhóza a s ní související komplikace včetně portální hypertenze a hepatocelulárního karcinomu) jsou souhrnně nazývány jako nealkoholové ztučnění jater nebo také jako nealkoholová steatóza. Tato forma nesouvisející s alkoholem bude v následujícím textu podrobněji popsána. (Brůha, 2019; Dvořák, 2012; Hůlek, 2015; Ipsen, 2018)

## 1.2 Nealkoholová steatóza jater

NAFLD je získané metabolické onemocnění charakterizované ukládáním tuku v játrech. Vzniká souběžně s dalšími metabolickými poruchami, jako je obezita, diabetes mellitus či kardiovaskulární onemocnění. Onemocnění je spojeno především s inzulínovou rezistencí. NAFLD se dělí na čtyři stádia – ukládání tuku v játrech (prostá jaterní steatóza), ukládání tuku v játrech provázené zánětem (nealkoholová steatohepatitida – NASH), fibrózou (tvorba jizev) a cirhózou (narušení struktury a funkce hepatocytů). NASH, která byla poprvé popsána roku 1980 Ludwigem, je tedy progresivnější formou NAFLD vyznačující se nejen steatózou, ale i hepatocelulárním balónováním, lobulárním zánětem a téměř ve všech případech i fibrózou. Konečný stav, tedy cirhóza, následně vede k jaternímu selhání. Jednotlivá stádia onemocnění jsou znázorněna na Obrázku 1. (Cobbina, 2017; Ullah, 2019)

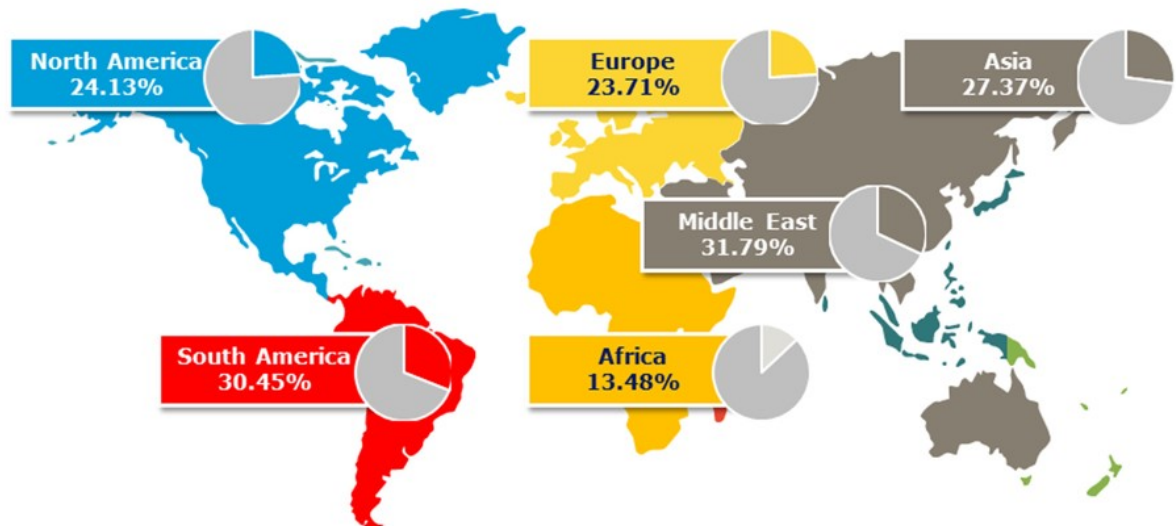


**Obrázek 1:** Schéma progresu onemocnění (převzato a upraveno dle [holisticprimarycare.net](http://holisticprimarycare.net))

NAFLD je v současnosti celosvětově nejčastějším poškozením jater. Prevalence je odhadována na 17–46 % dospělé populace vyspělých zemí. Míra prevalence je vyobrazena na následující straně na Obrázku 2 – nejvyšší je na Středním východě (32 %) a v Jižní Americe (30 %), nejnižší naopak v Africe (13 %). V evropské populaci se pohybuje okolo 24 %. U štíhlých osob se NAFLD vyskytuje s prevalencí 16 %. Během posledních desetiletí se



NAFLD stala druhou nejčastější příčinou transplantace jater ve Spojených státech amerických. (Brůha, 2019)



**Obrázek 2:** Celosvětová prevalence NAFLD a NASH (Younossi, 2019)

### 1.2.1 Rizikové faktory

Steatózou mohou trpět lidé s nadváhou, arteriální hypertenzí, dyslipidemií a diabetem 2. typu, tedy jedinci trpící metabolickým syndromem. Z výše uvedeného vyplývá, že metabolický syndrom je komplexní poruchou metabolismu. Dle studií bylo prokázáno, že 30–100 % jedinců s NAFLD je obézních, až 75 % má diabetes mellitus 2. typu či poruchu glukozové tolerance, u 50–92 % se vyskytuje dyslipidemie a u 70 % případů je přítomna hypertenze. Dyslipidemie je u pacientů s NAFLD obvykle charakterizovaná hypertriglyceridemií a nízkými koncentracemi HDL-cholesterolu. Negativně se uplatňuje zejména narušení metabolismu lipidů či nerovnováha v produkci hormonů tukové tkáně. Rizikové faktory jsou shrnuty níže. (Hůlek, 2015; Jackuliaková, 2009; Liu, 2010; Procaccini, 2010)

Metabolické rizikové faktory:

- Nadváha (BMI > 25)
- Viscerální typ obezity (obvod pasu > 102 cm u mužů, > 88 cm u žen)
- Diabetes mellitus 2. typu
- Arteriální hypertenze (TK > 130/85 mmHg)

- Porucha glukózové tolerance (glykémie nalačno > 6,1 mmol/l)
- Hypertriglyceridemie (> 1,7 mmol/l)
- Nízký HDL-cholesterol (< 1,0 mmol/l u mužů, < 1,3 mmol/l u žen)
- Rodinná anamnéza nadváhy, diabetu, kardiovaskulárních chorob
- Ateroskleróza
- Zvýšená hladina ferritinu
- Spánková apnoe, syndrom polycystických ovarií. (Dvořák, 2012)

Sekundární příčiny NAFLD:

- Alkohol (> 40 g/den u mužů, > 20 g/den u žen)<sup>1</sup>
- Léky (cytostatika, antibiotika, amiodaron, estrogeny, kortikosteroidy...)
- Jiné příčiny (celiakie, malnutrice, parenterální výživa, syndrom krátkého střeva). (Antunes, 2021)

U osob s NAFLD bylo jednoznačně prokázáno dvakrát vyšší riziko úmrtí na kardiovaskulární onemocnění než na jaterní komplikace, což je dáno rizikovými faktory, jako je diabetes mellitus, obezita a hypertenze. Dále bylo prokázáno, že rozvoj NASH zvyšuje riziko mortality na jaterní choroby desetkrát a celkové mortality téměř dvaapůlkrát. (Brůha, 2019; Fejfar, 2019; Friedman, 2018)

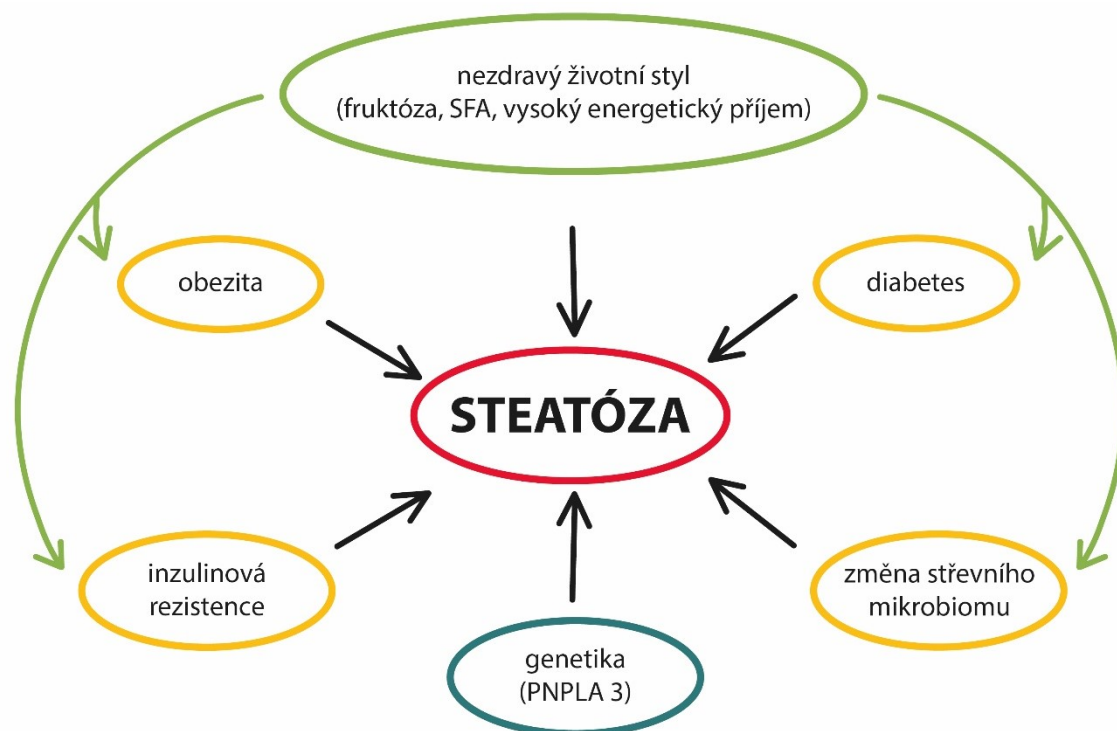
### 1.2.2 Patogeneze

Patogeneze NAFLD není doposud dostatečně probádána, ale nyní je uznáváno, že vývoj NAFLD je multifaktoriálním procesem. Mezi společně působící faktory se řadí vlivy nejen genetické, epigenetické a faktory zevního prostředí, ale i vysoký kalorický příjem, nevhodné složení stravy a nedostatečná fyzická aktivita. Jako nedílná součást patogeneze NAFLD je již mnoho let uznávána inzulinová rezistence, která vykazuje zhoršující se tendenci úměrně s progresí onemocnění. Za základní mechanismus spojující metabolický syndrom s NAFLD je považován nepoměr mezi energetickým příjmem a výdejem, který vede k akumulaci lipidů nejen v adipocytech tukové tkáně, ale i v orgánech k tomu neurčených (játra, svaly či pankreas). Při vzniku obezity či inzulinové rezistence se následně tuková tkáň chová jako endokrinní orgán, jenž uvolňuje vyšší množství VMK a řadu cytokinů. Na následném rozvoji NASH se pravděpodobně podílejí vedlejší produkty či meziprodukty metabolismu VMK, oxidační stres

---

<sup>1</sup> Některé studie připouštějí i vyšší denní dávky

vznikající při zvýšené oxidaci mastných kyselin v mitochondriích, cytokiny produkované v tukové tkáni a játrech, bakteriální toxiny původem z tenkého střeva a další faktory. Příčiny vzniku NAFLD jsou shrnuty na níže umístěném Obrázku 3. (Brůha, 2019; Friedman, 2018; Kupčová, 2019)



**Obrázek 3:** Příčiny vzniku NAFLD (upraveno dle Stefan, 2019)

V souvislosti s progresí NAFLD bývá nejčastěji uváděna hypotéza několika patologických faktorů zahrnující steatózu, lipotoxicitu (tedy abnormální složení buněčných lipidů vedoucích k akumulaci toxických lipidů, dysfunkci organel a poškození buněk) a zánět. Tyto faktory následně vedou ke složitým změnám histopatologických i biochemických vlastností jater. Doposud však není zcela jasné, které mechanismy se uplatňují při prvotním poškození jaterní tkáně, a které tvoří až následné změny klíčové pro rozvoj NASH. V současnosti však převládá názor, že se při vzniku i následné progresi uplatňuje lipotoxicita VMK, ke které dochází vlivem obezity a inzulínové rezistence. Tento faktor následně vede k akumulaci lipidů ve formě tukových kapének v cytoplazmě hepatocytů a způsobuje prostou steatózu. Dále může docházet k zánětu jater a nekróze, případně vedoucí až k fibróze a cirhóze. Dochází k oxidačnímu stresu s tvorbou reaktivních forem kyslíku (ROS) a k mitochondriální dysfunkci, což vede ke stavu lipotoxicity. Imunitní odpovědi na lipotoxicitu jsou podporovány

zánětlivé procesy a procesy hojení vedoucí k fibrogenezi a progresi NAFLD. K tomuto faktoru se řadí i vliv mikrobiomu. Dále se uplatňují genetické faktory. Různé studie prokázaly familiární výskyt či rasové rozmanitosti v prevalenci NAFLD včetně predispozice k tomuto onemocnění. (Brůha, 2019; Cobbina, 2017; Hůlek, 2018; Kupčová, 2019; Pei, 2020)

Vývoj střevního mikrobiomu odráží nejen měnící se stravu, ale i užívání antibiotik u hospodářských zvířat i lidí. U pacientů s NAFLD bylo potvrzeno zvýšené množství fekálních mikroorganismů rodu *Escherichia*, *Prevotella* a *Streptococcus* a snížené množství rodu *Coprococcus*, *Faecalibacterium* a *Ruminococcus*. Pozměněný mikrobiom může způsobit zvýšenou propustnost střev vedoucí k endotoxínemii a k aktivaci Kupfferových buněk. Dojít může také ke změně lipidového metabolismu v organismu. Vazby spojující pozměněný mikrobiom s jaterní steatózou byly popsány několika studiemi. Výzkum mikrobiomu je relativně nový, ale v následujících letech se očekává hlubší poznání. (Friedman, 2018; Li, 2021)

Rozvoj metabolických poruch, včetně tohoto onemocnění, může být dán i podílem genetických faktorů. Z těchto faktorů je nejvýznamnější modifikace genu pro *patatin-like phospholipase domain containing protein 3* (PNPLA3), což je gen lokalizovaný na 22. chromozomu (konkrétně 22q13). Missense varianta v tomto genu je kvůli snížené lipázové aktivitě spojena se zvýšenou akumulací lipidů v játrech (ne však již v jiných orgánech). NAFLD u pacientů s touto genetickou variantou je nezávislý na přítomnosti diabetu, inzulínové rezistence či obezity. Má sklon k vývoji do NASH s rizikem vzniku jaterní cirhózy a hepatocelulárního karcinomu. Přítomnost této genetické varianty částečně vysvětluje vznik NAFLD u štíhlých jedinců. Bylo zjištěno, že tato varianta genu způsobuje značné rozdíly v prevalenci NAFLD mezi různými rasovými / etnickými skupinami. Nejvyšší frekvence výskytu této varianty byla shledána u Hispánců. (Murag, 2021; Speliotes, 2011; Trépo, 2016)

### **1.2.2.1 Inzulínová rezistence v patogenezi NAFLD**

Inzulínová rezistence je definována jako porucha účinku inzulínu, kdy normální koncentrace inzulínu vyvolávají nižší odpověď tkání na hormon než při fyziologickém stavu. Tento patologický stav je kompenzován další tvorbou inzulínu a následně dochází k hyperinzulinemii. Inzulínová rezistence se uplatňuje nejen v metabolismu glukózy, ale i v metabolismu proteinů a lipidů. (Pelikánová, 2014)

NAFLD a inzulínová rezistence jsou velmi těsně provázány. Je prokázáno, že inzulínová rezistence vede ke vzniku NAFLD. Některé studie dokonce tvrdí, že sama NAFLD vyvolává rozvoj inzulínové rezistence. Jak inzulínová rezistence, tak NAFLD jsou u jedince rozvíjeny na základě stejné genetické predispozice. Významně jsou uplatňovány i faktory zevního

prostředí. Při inzulínové rezistenci dochází k vystupňování *de novo* syntézy TAG, které se hromadí právě v hepatocytech. Také je abnormálně zvýšena syntéza apolipoproteinu B (apoB), přičemž je provázena nadměrnou produkcí lipoproteinů bohatých na TAG, především VLDL částic. Zároveň není dostatečně potlačena aktivita hormon senzitivní lipázy a dochází tak ke zvýšení lipolýzy v periferní tukové tkáni. Přebytek uvolněných mastných kyselin se nestihá oxidovat a zabudovává se v játrech do molekul TAG. Dochází tedy nejen k rozvoji jaterní steatózy, ale i k nadměrné produkci VLDL částic do krevního oběhu, což vede k hypertriglyceridemii. Zvýšená koncentrace VMK má dále toxické účinky pojící se s tvorbou prozánětlivých cytokinů. Následně se aktivují příslušné molekulární kaskády a rozvíjí se tak mitochondriální dysfunkce, oxidační stres a peroxidace lipidů v membránách hepatocytů. Inzulínová rezistence také inhibuje aktivitu periferní lipoproteinové lipázy, což je enzym umístěný na endotelu kapilár. Tento enzym uvolňuje z VLDL částic a z chylomikronů mastné kyseliny, které jsou následně využity v buňkách. (Alves-Bezerra, 2017; Jackuliaková, 2009)

Inzulínová rezistence také významně přispívá ke zvýšení kardiovaskulárního rizika. NAFLD je však spojena s kardiovaskulárním rizikem i bez vlivu inzulínové rezistence. Dále bylo prokázáno, že nemocní s NAFLD mají tlustší stěnu *intima media* a i častější výskyt aterosklerotických plátů. Ateroskleróza koronárních tepen je u těchto jedinců závažnější. NAFLD je tedy spojována s vyšším rizikem rozvoje kardiovaskulárních onemocnění, včetně ischemické choroby srdeční, srdečního selhání, cévní mozkové příhody a arytmie. Kardiovaskulární onemocnění je jednou z nejčastějších příčin úmrtí u jedinců trpících NAFLD. (Jackuliaková, 2009; Przybyszewski, 2021)

### **1.2.3 Klinický obraz**

U většiny pacientů s prostou jaterní steatózou nejsou patrné žádné symptomy. Vzácně se vyskytuje pocit přeplněnosti či lehký tlak pod pravým obloukem žeberním. Nalézána bývá hepatomegalie (nápadně zvětšená tuhá játra), která je v pozdějších stádiích přítomna až u 75 % pacientů s NAFLD. Dále bývá přítomna také únava, slabost a především komorbidity související s metabolickým syndromem, jako je obezita, hypertenze či diabetes mellitus 2. typu. (Angulo, 2002; Kupčová, 2019)

### **1.2.4 Diagnostika**

Pro přesné stanovení patologických změn v jaterní tkáni je důležité histopatologické vyšetření, které je zásadní pro přesnou diagnostiku poškození. Pro prognózu nemocných je

nejpodstatnější míra jaterní fibrózy. Ve stádiu fibrózy může být pozorováno mizení lipidů z hepatocytů (vzniká takzvaný vyhaslý NASH). Diagnóza je v tomto případě potvrzena dle anamnézy a klinických souvislostí. (Brůha, 2019; Fejfar, 2019)

Diagnostika jaterní steatózy je prováděna pomocí běžných zobrazovacích metod, tedy ultrazvuku, počítačové tomografie (CT) či magnetické rezonance (MRI). Ultrazvuk a CT mají srovnatelnou citlivost a detekují steatózu při více než 20 % lipidů v játrech. Oproti tomu MRI detekuje steatózu již při 5 %. Přítomnost steatózy může být také posouzena výpočtem *fatty liver index* (zahrnuje váhu, výšku, obvod pasu, koncentraci gamaglutamyltransferázy (GGT) a TAG pacienta), který slouží při screeningu steatózy rizikových skupin pacientů. (Brůha, 2019; Friedman, 2018)

Diagnóza NASH byla do nedávna možná pouze pomocí výsledků z jaterní biopsie. V posledních letech se však objevují i neinvazivní vyšetření, jako jsou sérové markery (například cytokerin-18), jimiž by mohla být jaterní biopsie nahrazena. Pro histologické hodnocení NASH je využíváno NASH CRN (NASH Clinical Research Network) skóre. K provedení jaterní biopsie by u jedinců s NAFLD mělo dojít za těchto situací:

- Nejistá diagnóza, zvažování jiných jaterních onemocnění
- Pacienti bez metabolického syndromu, u nichž je zvažována NAFLD
- Podezření na pokročilou fibrózu či rozvíjející se cirhózu s nejednoznačnými výsledky neinvazivních vyšetření. (Brůha, 2019; Ten Hove, 2020; Yeh, 2014)

Jaterní biopsie je indikována také u nemocných s opakovaně vyššími hodnotami jaterních enzymů (ALT – alaninaminotransferáza, AST – aspartátaminotransferáza, ALP – alkalická fosfatáza, GGT – gamaglutamyltransferáza). Nejčastější příčinou elevace jaterních transferáz bývá NASH. Novější studie však ukázaly, že až polovina pacientů ve všech stádiích NAFLD může vykazovat fyziologické hodnoty jaterních testů. Biopsie jater je však řadou nemocných odmítána, a proto se hodnocení stanovuje dle sérových markerů jaterního zánětu a fibrózy a neinvazivní a relativně přesnou metodou zvanou elastografie. Snížená elasticita jater vypovídá o tvorbě vaziva v játrech, tedy finálním produktu zánětu. (Dvořák, 2012; Fejfar, 2019; Hůlek, 2015)

Běžná diferenciální diagnostika u pacientů s vyššími hodnotami jaterních testů zahrnuje vyloučení jiných možných příčin jaterního postižení – virové hepatitidy B i C a vzácnějších metabolických chorob jater, jako je autoimunitní hepatitida, Wilsonova choroba, hemochromatóza či porfyrie. Dále je prováděno ultrasonografické vyšetření jater a vyloučení

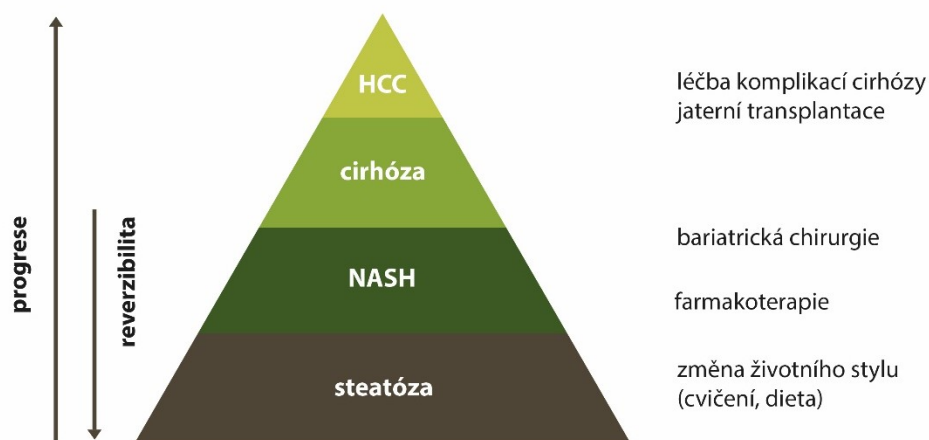
nadměrného požívání alkoholu. U většiny pacientů je onemocnění diagnostikováno mezi 5. a 6. dekadou života, ale může být nalezeno i u mladších jedinců či dokonce u dětí. (Brůha, 2019; Dvořák, 2012)

### 1.2.5 Terapie

Prostou jaterní steatózu není třeba léčit. Dostačující je správná terapie pro léčbu jednotlivých složek metabolického syndromu – tedy terapie diabetu, arteriální hypertenze a lipidového metabolismu. Je však důležité identifikovat a léčit nemocné s NASH a pokročilejšími stádii NAFLD. Základními faktory jsou redukce váhy, abstinence, zvýšení fyzické aktivity a změna stravy. Samotná změna stravy bez úbytku hmotnosti však není dostatečně účinná v potlačení onemocnění. Zároveň rychlý úbytek hmotnosti byl shledán jako zhoršující faktor NAFLD. Bylo prokázáno, že tyto změny společně vedou ke snížení obsahu TAG v játrech, snížení hodnot jaterních testů i zlepšení parametrů glukózové tolerance a inzulínové senzitivity. Farmakologická léčba NASH připadá v úvahu u pacientů s pokročilou fibrózou či v případě neúspěšné změny životního stylu. Dosud však neexistuje lék, který by byl přímo určen k léčbě NASH. Jedincům s biopsicky prokázanou NASH se doporučují dva preparáty – vitamin E a pioglitazon (agonista receptoru aktivovaného proliferátorem peroxisomu  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ )). Dle studie PIVENS, ve které byl hodnocen pioglitazon (30 mg/den), vitamin E (800 IU/den) a placebo, byl u vitaminu E pozorován příznivý účinek na histologické změny steatohepatitidy a u pioglitazonu snížení steatózy, zánětu i inzulínové rezistence. Oba preparáty mají nicméně svá rizika, a proto je jejich užívání nutno individuálně zvážit. V několika studiích byla zmínka o spojitosti mnohaletého užívání vitaminu E s rizikem rozvoje karcinomu prostaty. Jako další preparát může být podávána i kyselina ursodeoxycholová (10-15 mg/den), která snižuje aktivitu jaterních testů, ale ovlivnění fibrózy není jednoznačně prokázáno. V souvislosti s léčbou NAFLD je nově studována kyselina obeticholová. Dalším možným léčivem by mohl být metformin patřící do třídy antidiabetik. U něj bylo několika studiemi prokázáno zpomalení progresu NAFLD následkem zlepšení metabolických parametrů. Toto léčivo však stále není schváleno ke klinické léčbě. (Arroyave-Ospina, 2021; Brůha, 2019; Dvořák, 2012; Fejfar, 2019; Ullah, 2019)

Dalším způsobem léčby může být bariatrická chirurgie. Bylo prokázáno, že redukce hmotnosti po tomto zákroku vede ke zlepšení či dokonce vymizení prosté steatózy, NASH i fibrózy. Tento typ terapie není vhodný pro všechny pacienty a nezaručuje úplné vyléčení NASH. Při pokročilejším jaterním selhání a hepatocelulárním karcinomu je nezbytné provedení transplantace jater. (Brůha, 2019; Hůlek, 2015; Samuel, 2018)

Základní možnosti léčby jednotlivých stupňů jaterního poškození jsou vyobrazeny pomocí níže umístěného Obrázku 4.



Obrázek 4: Terapie při jaterním poškození (Brůha, 2019)

### 1.3 Lipidy

Lipidy jsou různorodou skupinou látek dobře rozpustných v organických rozpouštědlech. Ve vodě jsou naopak nerozpustné nebo špatně rozpustné. Z biologického hlediska jsou lipidy využívány především jako zásoba energie a k zajištění ochranné, mechanické a signální funkce organismu. Jsou součástí buněčných a mitochondriálních membrán v podobě fosfolipidové dvojvrstvy, působí jako koenzymy ovlivňující příslušné buněčné reakce a také se uplatňují jako výchozí látky pro syntézu mnoha důležitých produktů. Nejvýznamnějšími druhy lipidů jsou acylglyceroly, vosky, isoprenoidy, fosfolipidy, glykolipidy a lipoproteiny. Lipoproteiny jsou kulovité komplexy tvořené vrstvou fosfolipidů, cholesterolem a bílkoviny. V jejich jádru jsou obsaženy TAG a estery cholesterolu. (Kodíček, 2015; Koolman, 2012)

Základními stavebními kameny složitějších lipidů jsou mastné kyseliny, což jsou alifatické monokarboxylové látky. V tucích a membránách jsou mastné kyseliny esterifikovány alkoholy, v krvi jsou naopak přítomny v neesterifikované podobě jako volné mastné kyseliny. Mastné kyseliny mohou být buď nasycené nebo nenasycené s jednou či několika dvojnými vazbami. (Kodíček, 2015; Mashek, 2013)



### 1.3.1 Lipidy v organismu

Lipidy jsou potravou přijímány především v podobě TAG, fosfatidátů a sfingolipidů. V trávicím traktu poté dochází k odštěpování mastných kyselin z těchto lipidů. Menší množství TAG se může odbourávat již v žaludku, většina však v tenkém střevě pomocí lipáz z pankreatu za pomoci emulpace žlučovými kyselinami. Hydrolyzou TAG vznikají volné mastné kyseliny a monoacylglycerol. Ty jsou přenášeny do buněk střevního epitelu. V těchto buňkách jsou posléze TAG resyntetizovány a následně v lipoproteinech přenášeny spolu s estery cholesterolu do krve. TAG mohou být také syntetizovány játry a skladovány v adipocytech. Mohou být hydrolyzovány na volné mastné kyseliny a přenášeny krví navázané na sérový albumin. (Kodíček, 2015)

Hlavní formou při skladování a transportu mastných kyselin nejen v buňkách, ale i v plazmě jsou molekuly TAG. Jedná se o estery glycerolu se třemi mastnými kyselinami. V lidském těle je nejvíce zastoupena především kyselina palmitová, stearová, olejová a v menším množství i kyselina linolová, linolenová a arachidonová. Denně je játry zpracováváno velké množství mastných kyselin, ale ukládáno je jen malé množství ve formě TAG, které u zdravého jedince tvoří okolo 15 % celkové hmotnosti těla. Toto malé množství TAG je v játrech skladováno intracelulárně v cytoplazmatických lipidových kapénkách. Ty jsou složeny z fosfolipidové monovrstvy a jádra z neutrálních hydrofobních lipidů, tedy nejen z TAG ale i z esterů cholesterolu. Uvnitř mohou být také zastoupeny i méně časté druhy, jako jsou etherové lipidy či vosky. (Alves-Bezerra, 2017; Matouš, 2010; Ten Hove, 2020)

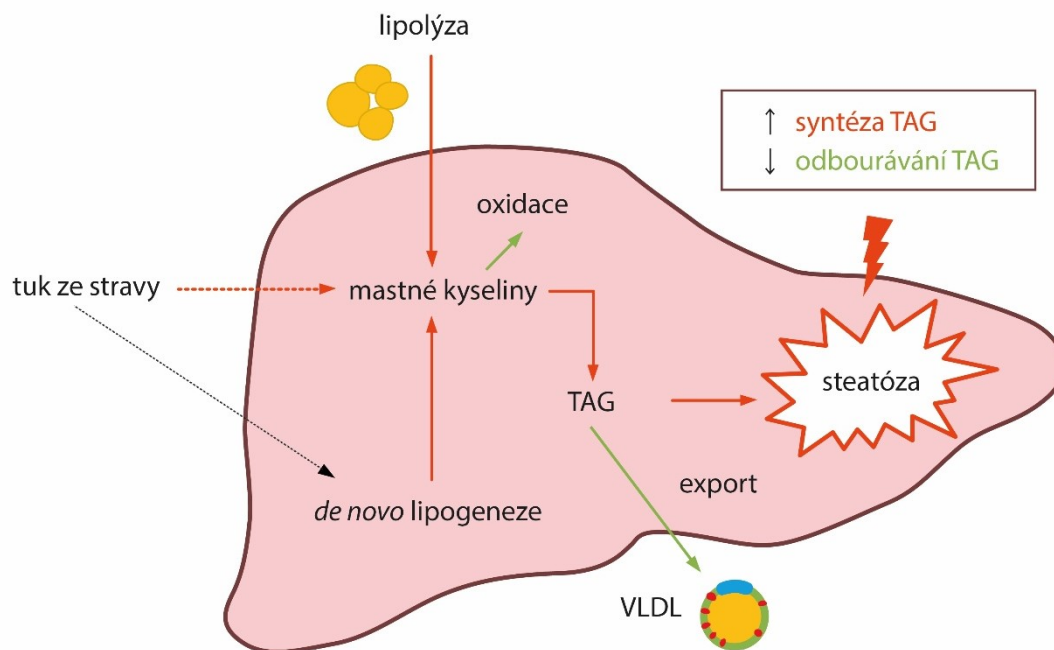
Nadměrné hromadění lipidů a jejich toxických metabolitů vede k buněčným reakcím zahrnujících mitochondriální dysfunkci, stres endoplazmatického retikula (ER), oxidační stres, zánět a následnou apoptózu. Tyto děje lze souhrnně označit termínem lipotoxicita. Během posledních let bylo prokázáno, že lipotoxicita také vyvolává uvolňování extracelulárních vezikul (exosomy, mikrovezikuly, apoptická tělíska) a ovlivňuje hypoxii. Zvýšenou sekrecí extracelulárních vezikul následně dochází k aktivaci jaterních stelátových buněk, angiogenezi a aktivaci makrofágů. Toxické lipidy mohou být charakterizovány počtem, polohou či konfigurací dvojných vazeb. Řadí se mezi ně nasycené mastné kyseliny (SFA), volný cholesterol, glycerofosfolipidy a sfingolipidy. Jako ochranné lipidy jsou naopak považovány TAG. Příznivé účinky při NAFLD prokazují také mononenasycené mastné kyseliny (MUFA) a polynenasycené mastné kyseliny (PUFA), jelikož mohou inhibovat oxidační stres a zánět a mimo jiné také snižovat ukládání lipidů. (Geng, 2021; Mota, 2016; Musso, 2018; Neuschwander-Tetri, 2010)

### 1.3.2 Lipidový metabolismus při jaterní steatóze

Játra jsou hlavním orgánem metabolismu lipidů a představují tak centrální regulátor lipidové homeostázy. Řídí syntézu nových mastných kyselin, jejich export, redistribuci do dalších tkání a jejich případné využití jako energetických substrátů. Procesy jsou regulovány interakcemi mezi hormony, transkripčními faktory a jadernými receptory, pomocí nichž je udržována homeostáza lipidů v játrech. Porušení některé z těchto cest může být příčinou rychlejšího zadržování tuku v játrech a tím i rychlejšího rozvoje NAFLD. Nadměrná akumulace lipidů je důsledkem nerovnováhy mezi příjmem a exportem lipidů. Játra získávají lipidy pomocí absorpce cirkulujících mastných kyselin a *de novo* lipogeneze. Lipidy jsou naopak z jater odstraňovány oxidací a exportem jako částice VLDL. Bylo prokázáno, že zhruba 60 % TAG v játrech pochází z VMK z tukové tkáně, 26 % z *de novo* lipogeneze a 15 % z přijímané stravy. (Donnelly, 2005; Ferramosca, 2014; Ipsen, 2018)

Hlavní organelou pro syntézu lipidů v buňce je endoplazmatické retikulum. Vzhledem k tomu, že je ER spojeno s jadernou membránou, může syntéza probíhat také v ní. Během posledních let se hromadí důkazy naznačující, že právě jaderný obal hraje důležitou roli v metabolismu lipidů, a může tedy také přispívat k rozvoji NAFLD. Membrána hladkého ER může hrát také podstatnou roli, jelikož se na ní nacházejí enzymy katalyzující reakce lipidového metabolismu. (Östlund, 2020; Koolman, 2012)

Hlavní cesty metabolismu mastných kyselin v játrech jsou znázorněny na Obrázku 5 níže a budou podrobněji probrány v následujících podkapitolách. Ze schématu je jasně patrné, že narušená rovnováha mezi syntézou a odstraňováním TAG vede k rozvoji jaterní steatózy. Ta vede k systémové metabolické dysbalanci, která nepříznivě ovlivňuje řadu orgánů. Na Obrázku 5 jsou metabolické cesty podílející se na syntéze TAG značeny červenými šipkami a odstraňování TAG zelenými šipkami. Tuky přijímané stravou, které mohou ovlivnit *de novo* lipogenezi, jsou značeny černou tečkovanou čarou. (Ferramosca, 2014)



**Obrázek 5:** Metabolické cesty při jaterní steatóze (Ferramosca, 2014)

### 1.3.2.1 Příjem lipidů játry

Příjem cirkulujících lipidů je závislý na transportérech mastných kyselin a méně také na pasivní difuzi. U jedinců s NAFLD bylo prokázáno, že v játrech dochází ke zvýšené absorpci cirkulujících lipidů (především VMK a lipoproteinů). Zvýšená absorpce souvisí se zvýšenou hladinou lipidových transportních proteinů v plazmatické membráně a zvýšenými hladinami jaterní a lipoproteinové lipázy, vzniklými v důsledku inzulinové rezistence. Transport zprostředkovávají transportní proteiny mastných kyselin (FATP), translokáza mastných kyselin (CD 36) a kaveoliny umístěné v plazmatické membráně hepatocytů. Regulace příjmu je dána pomocí PPAR $\gamma$ , jehož aktivace zlepšuje citlivost na inzulin a zvyšuje metabolismus glukózy. FABP (protein vázající mastné kyseliny) usnadňuje transport hydrofobních mastných kyselin do různých kompartmentů buněk v cytoplazmě. (Esler, 2019; Geng, 2021; Ipsen, 2018)

Izoformy FATP – FATP2 a FATP5 se nacházejí primárně v játrech. Několika studiemi byl zkoumán vliv poklesu těchto izoform na absorpci mastných kyselin a případné zlepšení steatózy. Výsledky se však rozcházejí, a proto bude k detailnějšímu pochopení úlohy FATP při NAFLD nutné provést další studie. (Ipsen, 2018)

Translokáza mastných kyselin – CD36 usnadňuje transport mastných kyselin s dlouhým řetězcem. U jedinců s NAFLD byla prokázána vyšší exprese CD36 v porovnání se zdravými jedinci. Další studie však ukázala, že hladiny CD36 jsou podobné jak u obézních jedinců

s jaterní steatózou, tak u obézních se zdravými játry. Imunohistochemicky bylo zjištěno, že u jedinců s NAFLD se CD36 nachází v plazmatické membráně hepatocytů a u zdravých jedinců naopak v cytoplazmě hepatocytů. Toto naznačuje, že by translokace CD36 z cytoplazmy na membránu mohla být spouštěčem rozvoje NAFLD. (Ipsen, 2018; Pei, 2020)

Kaveoliny zahrnují tři membránové proteiny, které přispívají k transportu lipidů a tvorbě tukových kapének. Novější studie naznačují spíše ochrannou roli kaveolinu 1 při NAFLD. Uvažuje se ale, že se role kaveolinu 1 při akumulaci lipidů v játrech může lišit dle toho, jestli je steatóza vyvolána stravou s vysokým obsahem tuku nebo jiným způsobem. (Ipsen, 2018)

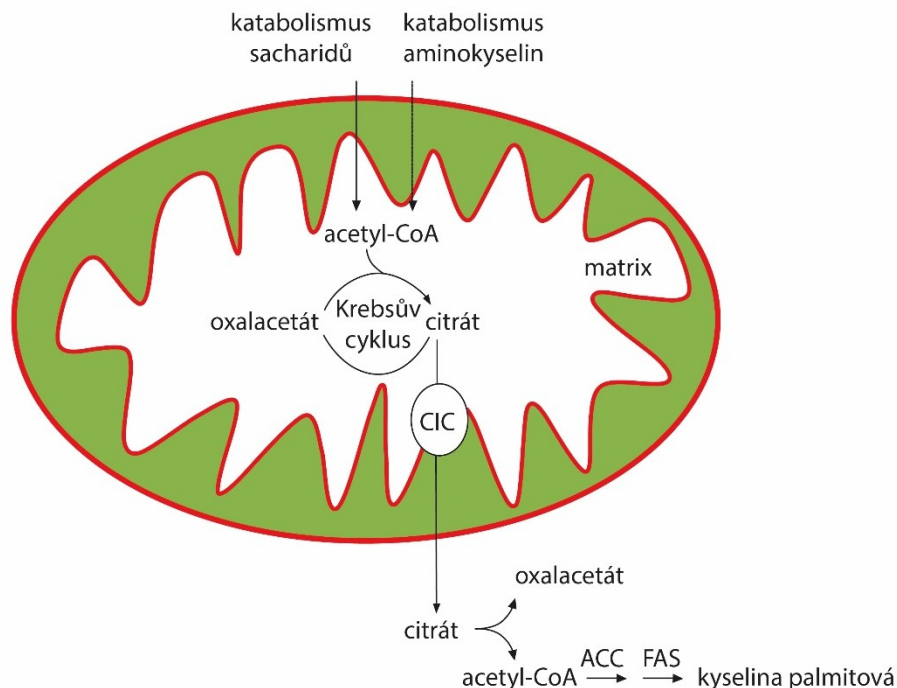
Mastné kyseliny po absorpci nepronikají volně do cytosolu, ale musí být převáděny mezi různé orgány pomocí specifických proteinů vázajících mastné kyseliny (FABP), přičemž převládající izoformou v játrech je FABP1. Tento protein usnadňuje transport, skladování a využití mastných kyselin a jejich derivátů. Také může mít ochranný účinek proti lipotoxicitě daný vazbou VMK a usnadněním jejich oxidace či zabudováním do TAG. Zvýšený intracelulární přenos mastných kyselin v játrech jedinců s NAFLD tak může ukládat škodlivé mastné kyseliny a podporovat tak steatózu. Hladiny FABP se liší dle závažnosti onemocnění – zvýšeny jsou u obézních jedinců se steatózou, naopak sníženy u pacientů s pokročilejším stádiem, tedy s NASH. Zvýšení FABP1 v počátečních stádiích NAFLD může vést ke zvýšení příjmu lipidů jako kompenzačnímu mechanismu omezení lipotoxicity. V dalších stádiích choroby se snižuje hladina FABP1, což potenciálně vede ke zvýšení hladin lipidů. Následná lipotoxicita podporuje vývoj onemocnění poškozením orgánů a buněk v játrech. Studiemi bylo prokázáno, že steatóza jater a jejich následné poškození je možné zlepšit inhibicí exprese FABP1. (Ipsen, 2018; Wu, 2018)

### **1.3.2.2 *De novo* lipogeneze**

Významnou roli v patogenezi NAFLD hraje *de novo* lipogeneze, kterou je převáděn acetyl-CoA (původem z nadbytečných sacharidů) na nové mastné kyseliny. Ty jsou následně esterifikovány a uloženy jako TAG. *De novo* lipogeneze je spojena nejen s nadměrným příjmem sacharidů, ale i s inzulínovou rezistencí, která brání oxidaci glukózy a přesouvá tak sacharidy do této dráhy. Regulace je kontrolována dvěma klíčovými transkripčními faktory – SREBP1c (protein vázající sterolový regulační element 1c) a ChREBP (protein vázající regulační prvek na sacharidy). *De novo* lipogeneze je ovlivněna zejména výživovými faktory, především složením mastných kyselin ve stravě. Tyto poznatky se začínají promítat i do léčby

NAFLD. Role výživy na rozvoj NAFLD je rozebrána v následující kapitole (1.3.3). (Ferramosca, 2014; Geisler, 2017; Ipsen, 2018)

*De novo* syntéza mastných kyselin zahrnuje sérii reakcí, které začínají v mitochondriální matrix a pokračují v cytosolu hepatocytů. Hlavní látkou pro syntézu je acetyl-CoA. Acetyl-CoA je tvořen v mitochondriích, ale syntéza mastných kyselin probíhá v cytosolu. Proto musí být acetylová skupina přesunuta z intra mitochondriální části buňky do extra mitochondriální ještě před přeměnou na mastné kyseliny. V mitochondriální matrix je nejprve acetyl-CoA kondenzován s oxalacetátem za tvorby meziproductu Krebsova cyklu, citrátu. Tento meziproduct je v Krebsově cyklu buď spálen, či za přebytku buněčné energie přesunut z mitochondriální matrix do cytosolu pomocí citrátového transportéru (CIC) pevně zabudovaného do vnitřní mitochondriální membrány. Transportovaný citrát v cytosolu generuje acetyl-CoA, který tvoří prumer pro *de novo* syntézu mastných kyselin a cholesterolu. Syntéza mastných kyselin začíná přeměnou acetyl-CoA na malonyl-CoA za katalýzy acetyl-CoA karboxylázou (ACC). Poté je alkanový řetězec prodlužován po dvou uhlících za katalýzy syntázou mastných kyselin (FAS) až do vzniku hlavního produktu *de novo* syntézy mastných kyselin, kyseliny palmitové. Nová mastná kyselina poté prochází desaturací, prodlužováním a esterifikací. Nakonec je uložena jako TAG nebo exportována v podobě VLDL částic. Schéma syntézy mastných kyselin je znázorněno na Obrázku 6. (Ferramosca, 2014)



**Obrázek 6:** Syntéza mastných kyselin v játrech (Ferramosca, 2014)

Zvýšená *de novo* lipogeneze může způsobit jaterní steatózu a hypertriglyceridemii. Také může vyvolat i steatohepatitidu, jelikož nasycené mastné kyseliny mohou způsobit zánět a apoptózu. U pacientů s NAFLD byla prokázána abnormálně zvýšená *de novo* lipogeneze oproti zdravým jedincům. Dostupné klinické údaje souhrnně naznačují, že selhání regulace *de novo* lipogeneze je důležitým rysem akumulace lipidů v játrech u jedinců s NAFLD. (Ipsen, 2018)

Transkripční regulace *de novo* lipogeneze je řízena dvěma klíčovými transkripčními faktory: SREBP1c a ChREBP. Exprese SREBP1c je u pacientů s NAFLD zvýšena. U myši s nadměrnou expresí SREBP1c byly prokázány vyšší hladiny TAG v játrech, zatímco u myši s inaktivovaným SREBP1c byla potvrzena snížená exprese lipogenních enzymů. Mimo jiné SREBP1c nepřímo přispívá k rozvoji jaterní inzulínové rezistence, jelikož zvýšená lipogeneze a následující akumulace škodlivých lipidů (např. diacylglycerolů) může interferovat s inzulínovou signalizací. U myši bylo prokázáno, že inaktivace ChREBP snižuje syntézu mastných kyselin v játrech o 65 %, podporuje inzulínovou rezistenci, zpožďuje clearance glukózy a dochází k intoleranci jednoduchých sacharidů, jako je sacharóza a fruktóza, kvůli neschopnosti přemístění fruktózy do glykolytických drah. ChREBP je tak nezbytný pro normální lipogenní reakci. Vyšší hladiny ChREBP by u jedinců s NAFLD mohly potenciálně působit jako ochranný mechanismus před dalším poškozováním jater a progresí k NASH. Zvýšená *de novo* lipogeneze může vyvolat steatózu, ale zároveň může být protektivní ve vztahu k progresi onemocnění. (Ipsen, 2018)

Na zvířatech bylo prokázáno, že hyperinzulinemie a hyperglykemie podporují *de novo* lipogenezi zvýšením regulace lipogenních transkripčních faktorů – SREBP-1c a ChREBP. Aktivace SREBP-1c zprostředkovaná inzulinem zvyšuje malonyl-CoA, dochází k inhibici karnitinpalmitoyltransferázy 1 a tím také k inhibici vstupu mastných kyselin s dlouhým řetězcem do mitochondrií, kde má být provedena jejich  $\beta$ -oxidace. Dochází tak k větší akumulaci jaterních TAG. (Hooper, 2011)

### 1.3.2.3 Oxidace mastných kyselin

Oxidace mastných kyselin je řízena pomocí PPAR $\alpha$  a snižuje množství intrahepatálních lipidů pomocí jejich využití jako zdroje energie.  $\beta$ -oxidace probíhá především v mitochondriích a vede ke zkrácení mastných kyselin na acetyl-CoA. Přetížením tohoto mechanismu pomocí lipidů či narušenou mitochondriální funkcí však dochází k vyššímu stupni oxidace mastných kyselin v peroxisomech a cytochromech. Tím dochází k tvorbě ROS, oxidačního stresu

a toxických dikarboxylových kyselin, které mohou potenciálně podporovat zánět a progresi onemocnění. (Ipsen, 2018)

Vstup mastných kyselin z cytosolu do mitochondrií je dán karnitinpalmitoyltransferázou 1, která je umístěna ve vnější mitochondriální membráně. Mitochondriím však chybí schopnost oxidovat mastné kyseliny s velmi dlouhým řetězcem, a proto jsou metabolizovány peroxisomální  $\beta$ -oxidací. Při přetížení lipidy dochází k  $\omega$ -oxidaci v cytochromech, kde jsou mastné kyseliny hydroxylovány na dikarboxylové kyseliny. Aktivování PPAR $\alpha$  indukuje transkripci genů souvisejících s oxidací mastných kyselin v mitochondriích, peroxisomech a cytochromech, čímž dochází ke snižování množství jaterních lipidů. Naopak vyřazení PPAR $\alpha$  u myši způsobilo jaterní steatózu, z čehož plyne, že PPAR $\alpha$  má důležitou roli v regulaci metabolismu lipidů v játrech. U lidí bylo prokázáno snížení PPAR $\alpha$  u jedinců s NASH ve srovnání s pacienty trpícími steatózou a se zdravými jedinci. Expres PPAR $\alpha$  klesá se zhoršujícím se stupněm NAFLD a stádiem fibrózy. Snížení PPAR $\alpha$  u NASH zvýšilo DNA vazebnou kapacitu c-Jun N-terminální kinázy 1 a NF- $\kappa$ B (nukleární faktor kappa B), což vede ke zvyšování rozvoje jaterního zánětu. Expres PPAR $\alpha$  tak upravuje nejen lipidovou homeostázu, ale také zánětlivé procesy. (Ipsen, 2018)

Steatóza vede ke zvýšené signalizaci transkripčního faktoru NF- $\kappa$ B. Aktivace tohoto faktoru vyvolává produkci prozánětlivých mediátorů – TNF- $\alpha$  (tumor nekrotizující faktor alfa), IL-6 a IL-1 $\beta$  (interleukin 6 a 1beta). Tyto cytokiny přispívají k aktivaci Kupfferových buněk, tedy jaterních makrofágů, zprostředkovávajících zánět u NASH. Důkazy dále naznačují, že Kupfferovy buňky zajišťují i další děje v patogenezi NAFLD, jde nejen o imunitní toleranci, ale i o lipidovou homeostázu. (Cobbina, 2017; Ullah, 2019)

Očekávaným důsledkem zvýšené akumulace lipidů v játrech je i zvýšená oxidace mastných kyselin. Oxidace mastných kyselin se však může lišit dle stádia a tím pádem i závažnosti onemocnění. Byla prokázána vyšší exprese genů souvisejících s mitochondriální a peroxisomální  $\beta$ -oxidací u osob s těžší formou steatózy v porovnání s pacienty s mírnější steatózou a zdravými jedinci. Zvýšená oxidace mastných kyselin může být odpovědí u osob s NAFLD, u kterých tak dochází ke snaze snížit nadbytečné množství lipidů a lipotoxicitu. Na druhou stranu však dochází k produkci ROS a nadměrná oxidace tak může přesáhnout antioxidační kapacitu systému a následně vyvolat oxidační stres. V závislosti na tomto tvrzení byly prokázány nižší hladiny antioxidantů (glutathion, glutathionperoxidáza, superoxidodismutáza) v jaterních biopsiích jedinců s NAFLD. U jedinců trpících NASH bylo významně zvýšeno oxidační poškození DNA, což naznačuje vyšší náchylnost k oxidačnímu stresu u takto nemocných jedinců a následné zhoršení poškození jater. Oxidace lipidů

a poškození mitochondriální DNA snižuje mitochondriální funkci, což může vést k využívání alternativních drah oxidace mastných kyselin. (Ipsen, 2018)

Pro metabolismus mastných kyselin a homeostázu lipidů v játrech jsou důležité také peroxisomy. Počáteční krok při oxidaci mastných kyselin v peroxisomech katalyzuje acetyl-CoA oxidáza (ACOX). Vyřazení peroxisomů specifických pro hepatocyty či nedostatek ACOX vede k následnému hromadění lipidů v játrech, fibróze, oxidačnímu stresu a zánětu. U pacientů s NAFLD byly prokázány vyšší hladiny ACOX, z čehož by mohlo vyplývat, že zvýšení peroxisomální oxidace mastných kyselin může být kompenzační odpovědí k vyřešení rozvíjející se steatózy. Peroxisomy však, stejně jako  $\omega$ -oxidace v cytochromech, produkují ROS, tím mohou vyvolávat oxidační stres a podporovat tak progresi onemocnění. (Ipsen, 2018)

Souhrnně tedy můžeme konstatovat, že jsou současné informace o oxidaci mastných kyselin u jedinců s NAFLD protichůdné. Ze studií však vyplývá, že zesílená oxidace mastných kyselin není dostatečná k odstranění lipidů z jater. Oxidace mastných kyselin v dysfunkčních mitochondriích produkuje značné množství ROS a může také docházet k upřednostněnému využití peroxisomů či cytochromů při oxidaci mastných kyselin. Tím je usnadněna progresse onemocnění pomocí oxidačního stresu a zánětu. (Ipsen, 2018)

#### **1.3.2.4 Export lipidů**

Export TAG je spolu s oxidací mastných kyselin jedinou možností, jak snížit množství lipidů v játrech. Hydrofobní mastné kyseliny mohou být exportovány z jater pouze po zabalení do ve vodě rozpustných částic VLDL, které mohou být následně využity v jiných tkáních. VLDL částice jsou tvořeny v ER, kde je apoB100 lipidován pomocí mikrosomálního triglyceridového transferového proteinu (MTTP). Vzniklé částice jsou poté přeneseny do Golgiho aparátu, přičemž je během procesu částice dále lipidována, dokud není vytvořena zralá VLDL částice. Molekula apoB100 je spojena s každou částicí VLDL, jelikož je nutná pro následný export VLDL. Z předešlého vyplývá, že apoB100 a MTTP jsou nepostradatelnými součástmi jaterní sekrece VLDL a tím i udržování lipidové homeostázy. Bylo prokázáno, že mírné vystavení mastným kyselinám zvyšuje sekreci apoB100, ale výraznější vystavení již vede ke stresu ER a k posttranslační degradaci apoB100, což následně vede k jeho snižující se sekreci. Stres ER je tedy spojen s rozvojem NAFLD inhibicí apoB100. Transkripce genu MTTP je pozitivně regulována pomocí PPAR $\alpha$ . PPAR $\alpha$  působí tedy nejen jako katalyzátor oxidace mastných kyselin, ale také jako regulátor metabolismu lipoproteinů, jelikož zvyšuje HDL v lidské plazmě. Negativní regulace apoB100 a MTTP je způsobena produkcí inzulínu, který indukci degradace apoB100 a potlačením syntézy MTTP snižuje export lipidů v játrech.



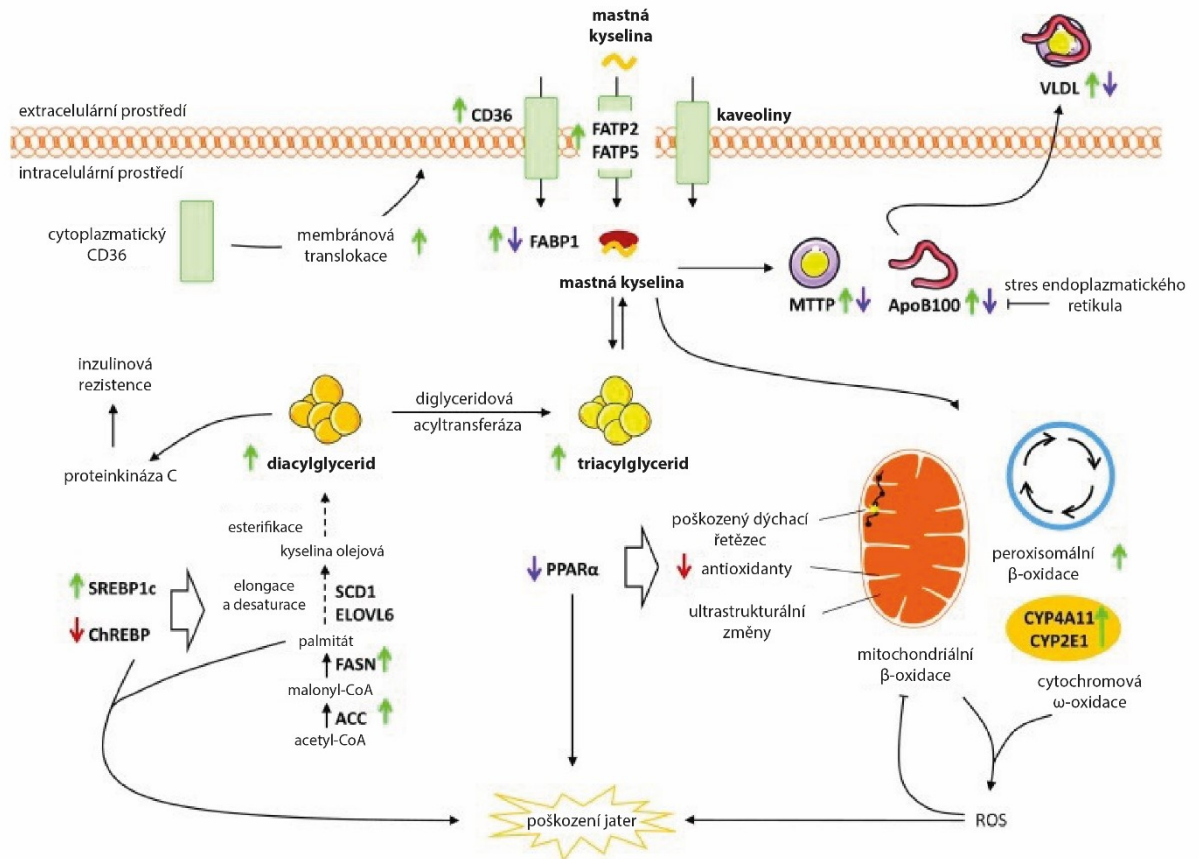
Vysoká hladina inzulínu v postprandiálním stavu snižuje jaterní produkci VLDL, což upřednostňuje chylomikrony zprostředkované dodávání lipidů z potravy na periférii. Selektivní jaterní inzulínová rezistence u jedinců s NAFLD umožňuje inzulínu stimulovat *de novo* lipogenezi bez inhibice produkce VLDL. U pacientů s NAFLD byla vyzorována zvýšená sekrece VLDL, přičemž ke stagnaci sekrece začalo docházet při přesažení 10 % tuku v játrech, jelikož byla překročena kompenzační kapacita v zabránění zvýšené akumulace lipidů v játrech. Bylo prokázáno, že pacienti s NAFLD nevyklučují větší množství VLDL částic, ale místo toho objemově větší a na TAG bohatší částice. Průměr VLDL částice však nemůže přesáhnout průměr sinusových endoteliálních pórů. Pokud se tak stane, může docházet k retenci lipidů a dalšímu rozvoji NAFLD. U jedinců s NAFLD s pokročilejší steatózou (30 % a více) byly pozorovány snížené hladiny MTTP v porovnání se zdravými jedinci, z čehož vyplývá, že export lipidů může být také ovlivněn akumulací značného množství intracelulárních lipidů. Vzhledem k působení PPAR $\alpha$  na metabolismus lipoproteinů lze soudit, že klesající množství PPAR $\alpha$  s rozvojem NAFLD přispívají ke snižování hladin MTTP a také ke snižování rychlosti sekrece apoB100. Naopak jinými studiemi byly prokázány srovnatelné hladiny exprese MTTP a apoB100 jak u jedinců s NAFLD, tak u zdravých osob. (Ipsen, 2018)

Rozdílné výsledky některých studií lze vysvětlit tím, že je u jedinců s NAFLD export lipidů dvoufázový, nejdříve se zvyšuje (vlivem zvýšeného množství lipidů v játrech) a poté nastává fáze plató či dokonce snižování (dané přesáhnutím kompenzační kapacity). Snížený export vede k přetížení jater lipidy a k intracelulární akumulaci lipidů, což vede ke steatóze, lipotoxicitě, poškození jater a podpoře rozvoje onemocnění včetně vzniku fibrózy. (Ipsen, 2018)

### **1.3.2.5 Shrnutí jaterního lipidového metabolismu při NAFLD**

Role jaterních kaveolinů je stále nejasná. Zvýšenou absorpci cirkulujících lipidů při NAFLD zprostředkovává CD36, FATP2 a FATP5. Nejdříve je FABP1 zvýšené, ale hladiny mohou následně klesat s progresí onemocnění, což může omezovat mobilitu mastných kyselin a pomáhat udržovat steatózu. K akumulaci lipidů významně přispívá *de novo* lipogeneze zprostředkovaná SREBP1c. Zároveň při NAFLD klesá potenciálně hepatoprotektivní ChREBP. Informace týkající se regulace oxidace mastných kyselin jsou částečně protichůdné, ale mitochondriální dysfunkce je charakteristickým rysem při NAFLD. To vede ke zvýšené tvorbě ROS a zprostředkování oxidace pomocí cytochromů a peroxisomů, což dále podporuje oxidační stres a dochází k poškození mitochondriálních membrán a tím k poškození buněčného dýchání a zhoršení funkce jater. Nakonec dochází ke zvyšování exportu lipidů. Při NASH mohou být

hladiny MTTP a apoB100 sníženy a omezen tak export VLDL, přičemž dojde k usnadnění akumulace lipidů. Souhrnně můžeme říct, že jde o chronickou dyslipidemii a přetížení jater lipidy, což má špatný vliv nejen na jaterní metabolismu, ale i na jejich funkci, vedoucí k nevratnému poškození jater. (Ipsen, 2018)



**Obrázek 7:** Shrnutí metabolismu lipidů v játrech u jedinců s NAFLD (Ipsen, 2018)

Zelená šipka (na Obrázku 7) značí zvýšenou expresi, červená sníženou expresi a fialová odlišnou expresi mezi steatózou a NASH. Doposud neuvedené zkratky: ELOVL (enzym prodlužující mastné kyseliny), FASN (syntáza mastných kyselin), SCD1 (stearoyl-CoA desaturáza 1), CYP4A11 a CYP2E1 (cytochrom P450 4A11 a 2E1). (Ipsen, 2018)

### 1.3.3 Vliv stravy na lipidový metabolismus

Strava hraje důležitou roli v patogenezi NAFLD. Dieta bohatá na tuky a sacharidy může bránit nebo naopak podporovat rozvoj NAFLD. Fruktóza, SFA, trans nenasycené mastné kyseliny a omega-6 mastné kyseliny podporují patogenezi NAFLD. Stejně tak přebytek cholesterolu v potravě podporuje zánět jater a přispívá tak k NASH. Naopak vláknina, MUFA

a omega-3 mastné kyseliny zabraňují patogenezí onemocnění. Příznivé účinky na NAFLD mají také proteiny. Mikroživiny – vitamin C, vitamin E, vitamin D a polyfenoly také zabraňují patogenezí. Tyto oblasti výzkumu NAFLD jsou však nové a vyžadují provedení dalších experimentů. Významnější složky stravy související s NAFLD budou podrobněji rozebrány v této kapitole. (Jump, 2015; Trunečka, 2013; Ullah, 2019)

### 1.3.3.1 Tuky

Bylo prokázáno, že příjem některých mastných kyselin stravou může být prospěšný nebo naopak škodlivý pro rozvoj NAFLD. Přijímané mastné kyseliny jsou schopny regulovat různé metabolické dráhy, které se podílejí na metabolismu lipidů především pomocí mírné modulace genové transkripce specifických enzymů. Tuky přijímané stravou tak mohou ovlivnit nejen patogenezí onemocnění jater, ale i zabránit nebo dokonce zvrátit expanzi onemocnění. (Ferramosca, 2014)

#### **Polynenasycené mastné kyseliny (PUFA)**

PUFA jsou třídou mastných kyselin s dvěma nebo více dvojnými vazbami v uhlovodíkovém řetězci. Vyskytují se v mořských rybách, listové zelenině, řepkovém oleji a lněných semínkách. Jsou považovány za významné látky ovlivňující NAFLD. Důležité PUFA hrající roli v NAFLD jsou omega-3 a omega-6. Omega-3 jsou prospěšné, naopak omega-6 zvyšují zánětlivé markery, a proto je třeba se jim vyvarovat. Typickým zástupcem omega-6 je kyselina arachidonová, která je prekurzorem silně prozánětlivých eikosanoidů. Omega-3 regulují expresi genů podílejících se na metabolismu lipidů v játrech, oxidaci mastných kyselin a expresi prozánětlivých genů. Mezi tyto mastné kyseliny se řadí například kyselina dokosaheptaenová, kyselina linolenová a kyselina eikosapentaenová. Omega-3 mastné kyseliny zlepšují lipidový profil, citlivost na inzulín, snižují sekreci VLDL a TAG z hepatocytů, steatózu jater i produkci cytokinů. Dále up-regulují PPAR- $\alpha$ , což následně vede k aktivaci  $\beta$ -oxidace a potlačení SREBP-1c, čímž dochází k inhibici *de novo* lipogeneze. Také snižují aktivitu NF- $\kappa$ B, což vede ke snížení jaterního zánětu a potencionálně i fibrózy. V menších studiích s jednorocní suplementací omega-3 bylo prokázáno snížení aktivity jaterních enzymů i zlepšení histologického nálezu nezávisle na změně tělesné hmotnosti. Strava s jejich nedostatkem (a tím pádem s vysokým poměrem omega-6/ omega-3) může být vyvolávacím faktorem jaterní steatózy a dalších chronických onemocnění. U pacientů s NASH byl pozorován vysoký příjem omega-6 mastných kyselin a abnormální poměr omega-3/ omega-6. Doporučený poměr omega-3/ omega-6 by měl být 1:1 až 1:4. K potvrzení, zda jsou omega-3 vhodné k léčbě

NAFLD jsou zapotřebí další studie. (Calder, 2010; Ferramosca, 2014; Ten Hove, 2020; Ullah, 2019)

Jako prevence jaterní steatózy bylo studováno několik olejů. Účinky olivového oleje na obsah tuku v játrech nejsou zcela objasněny, ale u krilového oleje a oleje z piniových ořechů byl prokázán ochranný účinek proti jaterní steatóze. Krilový olej, získávaný z antarktického zooplanktonu (*Euphausia superba*), obsahuje dvě omega-3 PUFA – kyselinu eikosapentaenovou a kyselinu dokosahexanovou. Tento olej je složením kyselin podobný rybímu oleji, poměr kyselin se však v obou olejích liší, přičemž krilový olej má vyšší účinnost ve srovnání s olejem rybím. Účinky krilového oleje byly prokázány u lidí i zvířat několika studiemi. Krilový olej stimuluje rozklad přebytečného tuku, inhibuje syntézu mastných kyselin *de novo* a tím brání rozvoji jaterní steatózy. Dalším zkoumaným doplňkem stravy byl olej ze semen borovice *Pinus koraiensis*, který obsahuje, kromě dalších mastných kyselin, účinnou kyselinu pinolenovou (kyselinu all-cis-5,9,12-oktadekatrienovou). Tato neobvyklá omega-6 PUFA má příznivé účinky prokázané poklesem plazmatických TAG a VLDL. U těchto olejů jsou však zapotřebí ještě další studie k potvrzení užitečnosti konzumace u nemocných s NAFLD. (Ferramosca, 2014)

### **Mononenasyčené mastné kyseliny (MUFA)**

MUFA jsou mastné kyseliny s uhlovodíkovým řetězcem obsahujícím pouze jednu dvojnou vazbu, zbytek tvoří jednoduché vazby. Vyskytují se v ořechách, olivovém oleji a avokádu. Dieta s MUFA snižuje hladinu oxidovaného LDL, LDL cholesterolu a TAG bez snížení HDL. Nahrazením sacharidů a nasycených tuků pomocí MUFA dochází ke zvýšení HDL a snížení glukózy u diabetiků, z čehož vyplývá, že tato dietní úprava může být prospěšná při léčbě NAFLD. (Ullah, 2019)

### **Nasycené mastné kyseliny (SFA)**

SFA jsou mastné kyseliny, které mají ve svém základním uhlovodíkovém řetězci pouze jednoduché vazby. Řadí se mezi ně například ceramidy, palmitát a lysofosfatidylcholin. Během stresových reakcí dochází k nadměrné regulaci enzymů, které mění oxidaci VMK a dochází tak k akumulaci SFA a jejich sníženému vylučování. Zvýšené množství těchto SFA může hrát podstatnou roli v rozvoji jaterní steatózy. Bylo prokázáno, že SFA indukují stres ER a poškození hepatocytů apoptózou. Také mohou aktivovat jaterní stelátové buňky a makrofágy, čímž mohou podporovat steatohepatitidu a fibrózu. Vyšší příjem energie ze SFA může

podporovat inzulínovou rezistenci, zatímco méně energie ze SFA snižuje hladinu LDL a TAG v plazmě. (Ferramosca, 2014; Ten Hove, 2020; Ullah, 2019)

### **Trans nenasycené mastné kyseliny**

Tyto kyseliny jsou také spojovány s patogenezí NAFLD. Trans mastné kyseliny se skládají z mnoha izomerů, které odlišně regulují lidský metabolismus. Uvádí se, že příjem trans-10, cis-12 konjugované kyseliny linolové přítomné v hydrogenovaných olejích zvyšuje zánětlivé markery u žen a nepříznivě ovlivňuje lipidový profil v plazmě – zvyšuje poměr LDL:HDL a poměr celkový cholesterol:HDL. Přesná role trans nenasycených mastných kyselin na mechanismus účinku a profil lipidů není dosud zřejmá. Při NAFLD je však doporučeno se vyhýbat výrobkům obohaceným o trans nenasycené mastné kyseliny. K odhalení úlohy v patogenezi NAFLD jsou nutné další studie. (Ullah, 2019)

Konjugované linolové kyseliny se mohou také pojit s vývojem jaterní steatózy. Několik studií uvedlo, že mají příznivé účinky na kardiovaskulární onemocnění, obezitu a cukrovku. Tyto příznivé účinky jsou však vyváženy nepříznivými účinky v podobě vyvolání jaterní steatózy. (Ferramosca, 2014)

### **1.3.3.2 Sacharidy**

Příjem sacharidů také podporuje rozvoj NAFLD. Strava bohatá na sacharidy je hlavním zdrojem produkce VMK v játrech u jedinců s NAFLD. U nich produkce dosahuje 30 %, zatímco u zdravých jedinců vysoký příjem sacharidů produkuje pouze 5 % těchto kyselin. Diety s nízkým obsahem sacharidů (pod 45 % sacharidů za den) pomáhají zlepšovat úbytek hmotnosti, celkový metabolismus, snižují obsah intrahepatálních TAG, a naopak zvyšují hladinu HDL. Z toho vyplývá, že nízký příjem sacharidů zlepšuje i NAFLD. Paradoxně však bylo prokázáno, že dlouhodobá konzumace (delší než 6 měsíců) této dietní stravy podněcuje patogenezi NAFLD a také i intoleranci glukózy u zvířecích modelů. U lidí bylo prokázáno zvýšení celkového cholesterolu a LDL. Důležité je i složení požívaných sacharidů. (Ullah, 2019)

Ke zvýšení rychlosti rozvoje NAFLD pravděpodobně přispívá jaterní lipogeneze vyvolaná fruktózou (jednoduchý cukr, přirozeně se vyskytující v ovoci). Nadbytečné množství fruktózy, přijímané především ve formě fruktózo-glukóзовého sirupu v nápojích, podporuje všechny složky metabolického syndromu – tedy nejen inzulínovou rezistenci a jaterní steatózu, ale i dyslipidemii, hyperglykemii, obezitu a hypertenzi. Také dochází k inhibici leptinu, snížení aktivity PPAR $\alpha$  a oxidace lipidů v játrech a k stimulaci exprese NF- $\kappa$ B, což vede k oxidačnímu

stresu, jaterní steatóze, a i k fibróze. Fruktóza ve srovnání s glukózou vykazuje větší vliv na aktivaci *de novo* lipogeneze a podporu syntézy TAG. Také podporuje několik biochemických dějů, které zhoršují vývoj NASH, jako je tvorba konečných produktů pokročilé glykace a ROS. Omezení příjmu fruktózy stravou představuje atraktivní terapeutický cíl pro NAFLD i NASH. (Esler, 2019; Jensen, 2018; Jump, 2015; Ullah, 2019)

### **1.3.3.3 Proteiny**

Podvýživa a nedostatek bílkovin mohou indukovat jaterní steatózu i NASH. Příjem bílkovin stravou je důležitý pro regeneraci hepatocytů a pro poskytování důležitých aminokyselin, které zabraňují ukládání tuku v játrech. Studií bylo také prokázáno, že strava s vysokým obsahem bílkovin a nízkým obsahem sacharidů zlepšuje lipidový profil, homeostázu inzulinu i jaterní enzymy. (Ullah, 2019)

### **1.3.3.4 Vitaminy – E a D**

Mitochondriální dysfunkce vyvolaná ROS je jedním z mechanismů patogeneze NAFLD. Příznivé účinky proti NAFLD mohou mít antioxidanty, mezi něž se řadí i vitamin E, který je rozpustný v tucích. Tento vitamin byl zkoumán několika studiemi, přičemž výsledky účinnosti vitaminu E na zlepšení hladin ALT u jedinců s NAFLD se rozcházejí. U kombinace užívání vitaminu E, kyseliny dokosaheptaenové a cholinu bylo potvrzeno snížení hladiny ALT a glukózy, a i zlepšení steatózy u jedinců s NASH. Která složka však měla pozitivní účinky není možno určit, jelikož příznivé účinky na NAFLD mají všechny tři látky. U pacientů s NASH bylo po doplnění vitaminu E potvrzeno snížení jaterní steatózy, zánětu a zvýšení hladiny aminotransferáz. Vitamin E je tak účinný proti steatohepatitidě, ale neúčinný proti jaterní fibróze. Evropskou asociací pro studium jater je vitamin E doporučován jako lék první volby pro nediabetické dospělé jedince s NASH. (Ullah, 2019)

Vitamin D reguluje některé geny podílející se na metabolismu glukózy a lipidů v játrech. Snížené hladiny vitaminu D souvisejí s inzulinovou rezistencí a diabetem 2. typu. Správné doplňování tohoto vitaminu tak může zlepšovat citlivost na inzulin. U pacientů s NAFLD byl několika studiemi prokázán nedostatek vitaminu D, ale role nedostatku v patogenezi NAFLD a případná doplňková léčba tímto vitaminem při NAFLD je třeba dále prozkoumat. (Ullah, 2019)

### 1.3.3.5 Polyfenoly

K polyfenolům se řadí resveratrol, u kterého byly prokázány antisteatotické, protizánětlivé a antioxidační účinky a tím bylo dokázáno, že léčba touto látkou zlepšuje patogenezi NAFLD. Příznivé účinky při léčbě NAFLD vykazovaly i další látky řadící se do polyfenolů – kurkumin, kvercetin, antokyanin a polyfenoly zeleného čaje a kávy. K ověření jsou ještě nutné podrobnější studie. (Ullah, 2019)

Nedávnými studiemi bylo interpretováno, že konzumace kávy dokáže chránit před NAFLD. Účinek je dán nejen přítomností kofeinu (1,3,7-trimethylxantinu), ale i nekofeinovými složkami. Molekulární mechanismy nejsou dosud plně objasněny, ale je naznačována souvislost s antioxidačními vlastnostmi. U kofeinu byla prokázána modulace metabolismu lipidů, včetně podpory přeměny SFA na MUFA. (Arroyave-Ospina, 2021)

## 1.4 Chromatografie

Chromatografie patří do skupiny separačních metod založených na rozdílech v rovnovážné distribuci složek mezi fází, tedy na fázových rovnováhách. Jedná se o metodu poskytující jak kvalitativní, tak kvantitativní analýzu. Principem chromatografie je vnášení vzorku mezi dvě navzájem nemísitelné fáze – stacionární (nepohyblivou) fázi a mobilní (pohyblivou) fázi. Mobilní fází je vzorek unášen a jednotlivé složky vzorku jsou zachycovány stacionární fází, přičemž dochází k jejich zdržování oproti ostatním složkám. Složky se tímto způsobem od sebe separují. Nejrychleji se na konec stacionární fáze dostávají složky nejméně zdržované. (Klouda, 2003)

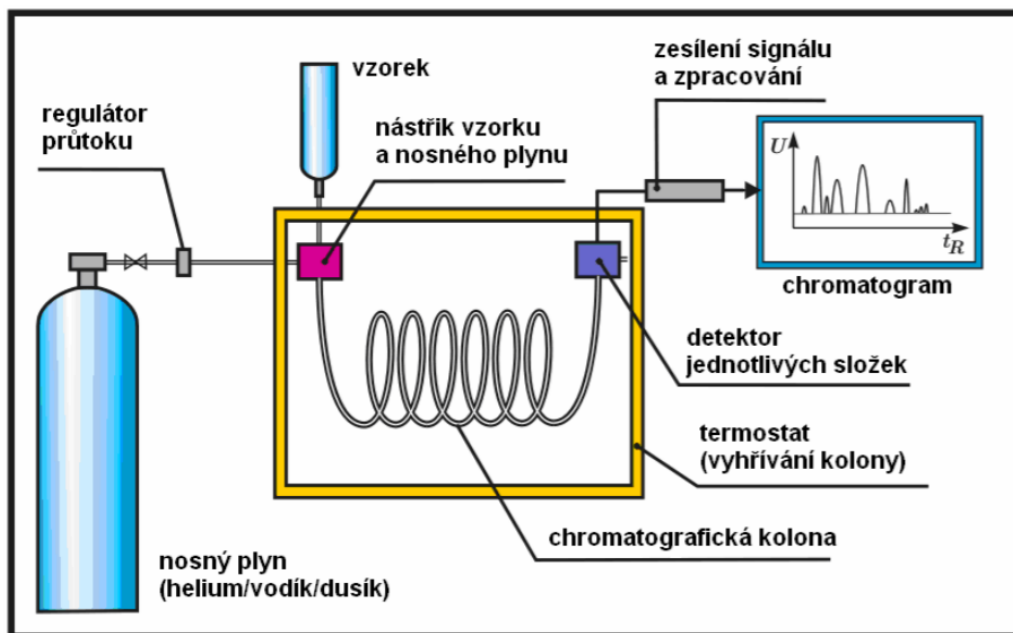
Chromatografické metody se dělí dle skupenství mobilní fáze na chromatografii kapalinovou a chromatografii plynovou. Dle uspořádání stacionární fáze rozlišujeme chromatografii kolonovou a plošné techniky, které zahrnují chromatografii papírovou a chromatografii na tenké vrstvě. Podle povahy děje, který převládá při separaci, rozlišujeme chromatografii rozdělovací, adsorpční, iontově-výměnnou, gelovou a afinitní. (Klouda, 2003)

### 1.4.1 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie je separační metoda představená roku 1935 Jamesem a Martinem. Jde o jednu z nejpoužívanějších technik kvalitativní a kvantitativní analýzy. Mobilní fází tvoří inertní nosný plyn, stacionární fází je nejčastěji kapalina zakotvená na nosiči v koloně. Vzorek je po nadávkování do proudu plynu ihned zplyněn a unášen kolonou. Složky vzorku jsou separovány v koloně na základě své distribuce mezi plynnou mobilní a kapalnou

nebo pevnou stacionární fází. Jednotlivé složky opouštějící kolonu jsou zaznamenávány detektorem a poté vyhodnocovány. (Klouda, 2003; Sparkman, 2011)

Plynový chromatograf se skládá ze zdroje nosného plynu (tlaková láhev s vodíkem, dusíkem, heliem nebo argonem), z čistícího zařízení (zachycuje vlhkost a nečistoty), regulačního systému, dávkovacího zařízení, chromatografické kolony (náplňové nebo kapilární), detektoru, vyhodnocovacího zařízení a termostatu. Schéma plynového chromatografu je znázorněno na Obrázku 8. (Klouda, 2003)



Obrázek 8: Schéma plynového chromatografu (Opletal, 1994)

Nosný plyn, dodávaný v tlakové lahvi, zajišťuje transport látek kolonou. Volba nosného plynu závisí na jeho čistotě, viskozitě a hustotě a také na typu detektoru. Ovlivňuje účinnost a rychlost analýzy. Plyn musí být inertní, tedy bez chemické afinity ke stacionární fázi nebo ke složkám vzorku. Jeho jedinou funkcí je unášení analytu. Průtok plynu ovlivňuje kvalitativní i kvantitativní analýzu. Ke kontrole průtoku plynu jsou využívány regulátory tlaku, tlakoměry a průtokoměry. Měření průtoku plynu kolonou se provádí pomocí objemového průtokoměru (bublínkový průtokoměr umístěný na konci kolony) nebo průtokoměru hmotnostního. (Skoog, 2019)

Dávkování vzorků je možné pomocí kalibrované injekční mikrostříkačky přes silikonovou membránu nebo pomocí dávkovacího ventilu. U moderních plynových chromatografů je dávkování možné i pomocí automatických autosamplerů. Množství vzorku se pohybuje mezi 0,1 až 10  $\mu\text{l}$ . U kapilárních kolon je využíván dělič vzorku umožňující dávkovat



na kolonu pouze část vzorku a zbytek odvádět do odpadu. Dávkovací zařízení dělíme na odpařovací, kdy je vzorek dávkován do horké zóny za okamžitého odpaření a neodpařovací, kdy je naopak analyt dávkován do studené zóny a zůstává v kapalném skupenství do vzrůstu teploty dané teplotním programem. (Klouda, 2003; Opekar, 2002; Skoog, 2019)

Kolony rozlišujeme dvou základních typů – náplňové a kapilární. V minulosti byly využívány především kolony náplňové, které dnes nahradily více používané kapilární kolony. Kolony, stočené do smyček, jsou umístěny v termostatu a dosahují délky až desítek metrů. (Skoog, 2019)

Detektory musí disponovat vysokou citlivostí, rychlou odezvou na změnu složení eluentu a především stabilitou signálu v čase. Rozlišujeme je na destrukční a nedestrukční. Nedestrukční detektory látku chemicky nemění. Řadí se mezi ně tepelně vodivostní detektor, detektor elektronového záchytu a další méně významné detektory. V destrukčních detektorech dochází k ireverzibilní změně látky. Do této skupiny spadá plamenový ionizační detektor (FID) a hmotnostní spektrometr. Změna složení eluátu vytékajícího z kolony je v detektoru převáděna na elektrický signál, který je zaznamenáván zapisovačem v závislosti na čase jako chromatogram. (Churáček, 1990)

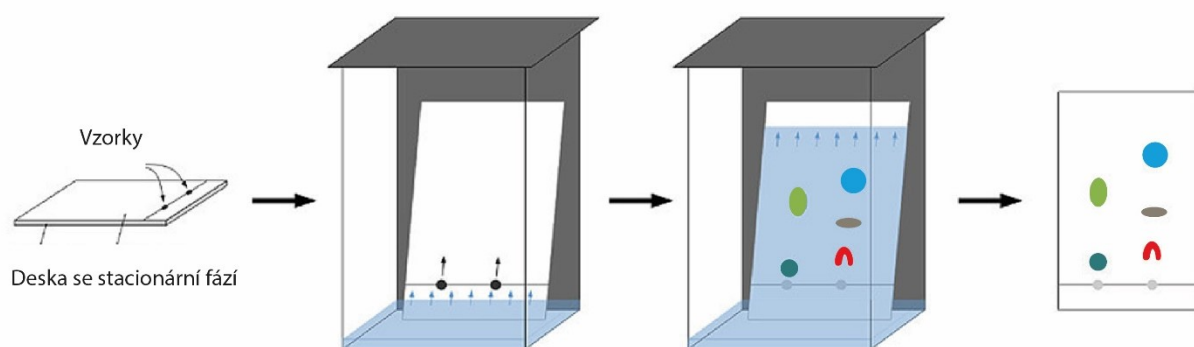
Kvalitativní analýza, tedy identifikace složek vzorku, je možná porovnáním naměřených elučních dat s elučními daty referenčních látek. Kvantitativní analýza, sloužící ke zjištění obsahu jednotlivých složek ve vzorku, vychází z porovnání plochy nebo výšky píku analytu ve vzorku se standardem. (Churáček, 1990)

Plynová chromatografie je určena pro těkavé, málo a středně polární organické látky. Je využívána k analýze mnohasložkových vzorků a jako preparativní metoda k izolaci látek. Uplatňuje se při analýze životního prostředí (pesticidy) a ropných produktů, klinické a soudní analýze (drogy, antidepresiva, metabolity léčiv, ethanol v krvi), v potravinářství a kosmetickém průmyslu (terpeny, estery, mastné kyseliny). (Churáček, 1990; Opekar, 2002)

#### **1.4.2 Tenkovrstvá chromatografie**

Tenkovrstvá chromatografie (TLC) je jednoduchá, vysoce účinná, rychlá a finančně nenákladná metoda, známá již od roku 1938. Roku 1975 byla představena vysokoúčinná tenkovrstvá chromatografie (HPTLC), metoda umožňující provádění separací s mnohem vyšší kvalitou i vyšší citlivostí. TLC je založena na rozdělení složek vzorku mezi kapalnou mobilní fází a kapalnou nebo pevnou stacionární fází. Stacionární fáze je součástí tenké vrstvy silikagelu, oxidu hlinitého nebo křemeliny nanesené na podložce ze skla, hliníku či polyesteru. Při analýze lipidů je nejvíce používán silikagel. Vzorek je nanášen manuálně pomocí kapiláry,

mikropipety nebo pomocí mechanických dávkovačů na předem vyznačený start umístěný 1 až 2 cm od okraje desky. Deska je poté tímto koncem ponořena do mobilní fáze, přičemž vyvíjení probíhá vzestupně v prostoru nasyceném parami mobilní fáze. Mobilní fáze vzlíná tenkou vrstvou pomocí kapilárních sil a unáší s sebou složky vzorku. Složky jsou unášeny tím rychleji, čím méně jsou poutány ke stacionární fázi a čím jsou lépe rozpustné v mobilní fázi. Vyvíjení je ukončeno před dosažením konce tenké vrstvy. Čelo je ihned vyznačeno, jelikož by po vyschnutí desky nemuselo být viditelné. Průběh TLC je znázorněn na níže umístěném Obrázku 9. (Churáček, 1990; Klouda, 2003; Skoog, 2019; Štulík, 2004)



**Obrázek 9:** Princip TLC (převzato a upraveno dle mz-at.de)

K lokalizaci analytů je využíváno několik metod. Při chemickém způsobu detekce se nanáší na desku činidlo reagující se separovanými látkami na barevné sloučeniny. Nejběžněji se provádí postřik roztokem jodu nebo koncentrovanou kyselinou sírovou, kdy dochází ke vzniku tmavých skvrn. Další metodou je fluorescenční detekce, kdy je do stacionární fáze přidán fluorescenční materiál a deska je po vyvinutí pozorována pod ultrafialovým (UV) zářením. Složky vzorku zhasí fluorescenci materiálu, tudíž fluoreskuje povrch desky s výjimkou míst s nefluoreskujícími složkami vzorku. (Skoog, 2019)

Identifikace jednotlivých složek je možná porovnáním pozice skvrn analytu a skvrn standardu naneseného vedle vzorku. Další možností je výpočet retardačního (retenčního) faktoru  $R_f$  separovaných látek a následné porovnání s hodnotou retardačního faktoru standardu. Hodnota retardačního faktoru (bezrozměrná veličina nabývající hodnot od 0 do 1) je dána jako podíl vzdálenosti středu skvrny od startu a vzdálenosti čela od startu. Dnes se častěji využívá metoda založená na spektrodensitometrii, kdy zařízení měří hodnotu absorbance či intenzitu fluorescence. Ze záznamu je poté možno určit retenční charakteristiky složek vzorku. Kvantitativní analýza se provádí porovnáním intenzity zbarvení skvrn vzorku se skvrnami standardů o známé koncentraci. Při použití spektrodensitometru je možno určit plochy píků

látek a vypočítat jejich koncentraci. Možná je i nepřímá kvantifikace, kdy je skvrna z desky vyškrábána a vyextrahována vhodným rozpouštědlem. Koncentrace složek vzorku se poté stanoví vhodnou analytickou metodou. (Klouda, 2003; Skoog, 2019; Štulík, 2004)

Metoda je využívána pro organické syntézy, kvantitativní analýzy, ke zjišťování nečistot, identifikaci a čištění některých látek. Slouží především pro orientační analýzy velkého počtu vzorků. Využívána je v průmyslu farmaceutickém, v oblasti klinické biochemie, forenzní analýzy, v potravinářství, při analýze životního prostředí a v jiných oblastech. (Hahn-Deinstrop, 2007)

### 1.4.3 Chromatografické metody využívané při analýze lipidů

Nejčastější metodu, využívanou pro analýzu lipidů v biologických vzorcích, představuje plynová chromatografie (GC). Postupně je ale stále více nahrazována metodami měkké ionizace (matricí asistovaná laserová desorpce/ionizace – MALDI, elektrosprejová ionizace – ESI) hmotnostní spektrometrie. Tyto metody umožňují charakterizovat lipidy, aniž by došlo k velké fragmentaci analytu. Jedná se o vysoce citlivé a z hlediska manipulace jednoduché techniky. Kvalita je ovšem významně ovlivněna případnou přítomností nečistot. Využívána je také tenkovrstvá chromatografie (TLC), pomocí níž je umožněna separace složitějších směsí. Touto metodou mohou být analyzovány všechny lipidové třídy. Pokud je ovšem TLC deska skladována delší dobu, může docházet k oxidaci nenasycených lipidů, jelikož lipidový povrch je vystaven atmosférickému kyslíku. Tenkovrstvá chromatografie je často využívána jako počáteční metoda analýzy složité lipidové směsi. Při analýze lipidů dále nachází uplatnění vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) umožňující vysoce kvalitní separace. V porovnání s TLC je časově i finančně náročnější. U nenasycených lipidů je detekce obtížnější. Jde o metodu rutinně používanou k izolaci lipidů v mnoha laboratořích. Při analýze lipidů se v posledních letech uplatňuje zejména HPLC spojená s elektrosprejovou hmotnostní spektrometrií. Méně je využívána spektroskopie nukleární magnetické rezonance (NMR), která disponuje relativně nízkou citlivostí, ale na rozdíl od předchozí metody umožňuje analýzu lipidů *in vivo*. (Fuchs, 2011; Christie, 2010; Kartsoli, 2020; Ten Hove, 2020)

Vzhledem k rostoucímu počtu onemocnění doprovázených změnami lipidového složení ve tkáních či tělesných tekutinách, se analýza lipidů uplatňuje čím dál více. Jde zejména o onemocnění jako je ateroskleróza či jiné revmatické nemoci, u nichž jsou změny lipidových hladin značně diagnosticky významné. V současnosti je využíváno k analýze lipidů mnoho metod založených na chromatografickém nebo spektrofotometrickém principu. HPTLC je ovšem považována za nejvšestrannější a nejspolehlivější metodu lipidové analýzy. Vzhledem

k nízkým nárokům na objem používaných rozpouštědel, je velice výhodná i z hlediska životního prostředí. (Fuchs, 2011)

## 2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 2.1 Vzorky

Bylo zpracováno 7 vzorků plazmy od pacientů s NAFLD a 15 vzorků plazmy od zdravých jedinců. Vzorky byly rozděleny do pěti lipidových tříd (fosfolipidy, diacylglyceroly, mastné kyseliny, triacylglyceroly, estery cholesterolu) pomocí TLC a poté stanoven obsah mastných kyselin v jednotlivých třídách lipidů pomocí GC. Ve všech třídách lipidů u nemocných i zdravých jedinců byly stanoveny koncentrace mastných kyselin a lipogenních enzymů. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny pomocí grafů s následným zhodnocením jejich využití pro diagnózu NAFLD.

### 2.2 Pomůcky a přístrojové vybavení pro GC a TLC

- Pipety
  - Automatické – 100, 200, 500 a 1000  $\mu$ l; špičky
  - Skleněné – 1, 5 a 10 ml; pipetovací balónek
  - Pasteurovy pipety
- Odměrné baňky – 100, 250 a 500 ml
- Odměrné válce – 50 a 250 ml
- Skleněné zkumavky
- Mikrozukmavky Eppendorf
- Stojánky na zkumavky
- Magnetická míchadla
- Chromatografická vana
- Pyrexové zkumavky
  - Typ: 1636/26MP, 761152 Culture Tube 16x100 SVL SCORE
  - Výrobce: Barloworld Scientific Group Limited, Stone, Staffs, UK
- Chromatografické vialky s pryžovým septem pro GC
  - Typ: 5188-6599
  - Výrobce: Agilent Technologies, 5301 Stevens Creek Blvd, Santa Clara, Kalifornie 95051, USA
- Inserty do chromatografických vialek
  - Typ: 8010-0132

- Výrobce: Agilent Technologies, 5301 Stevens Creek Blvd, Santa Clara, Kalifornie 95051, USA
- Centrifuga
  - Typ: MPW-340
  - Výrobce: Mechanika Precyzna, Polsko
  - Distributor: Servis Unimed, Vestec 41, 252 42 Vestec u Prahy, ČR
- Třepačka Vortex
  - Typ: REAX top
  - Výrobce: Heidolph instrumenst GmbH & Co. KG, Walpersdorfer Strasse 12, 911 26 Schwabach, DE
- Termoblok Pierce Reacti-Therm Heating/Stirring Module a odpařovací zařízení
  - Typ: 18971 a 18821
  - Výrobce: THERMOSCIENCETIFIC, 28 Scheneck Parkway, Asheville, Severní Karolína 28803, USA
- Plynový chromatograf Agilent Technologies 7890A GC Systém
  - Výrobce: Agilent Technologies, 5301 Stevens Creek Blvd, Santa Clara, Kalifornie 95051, USA
- Kolona HP-88
  - Typ: 100 m x 0,250 mm x 0,20 μm, teplotní limit od 50 °C do 250 °C, pro dělení methylesterů mastných kyselin
  - Výrobce: Agilent Technologies 5301 Stevens Creek Blvd, Santa Clara, Kalifornie 95051, USA
- UV 240 lampa
  - Výrobce: A. Krüss Optronic GmbH, Darmstadt, DE
- Rozprašovací sprej, Desaga spray gun
  - Výrobce: Desaga GmbH D-690 Heidelberg 1, DE
- Digestoř
- Mraznička

## 2.3 Chemikálie a další materiál

### Deproteinační roztok

- Isopropylalkohol, p.a.

- Balení 1000 ml, obsah 99,8 %, hustota 780 kg/m<sup>3</sup>, M = 60,1 g/mol, číslo šarže: PP/2017/02567
- Výrobce: Lach-Ner, s.r.o., Tovární 157, 277 11 Neratovice, ČR
- n-heptan
  - Balení 1000 ml, hustota 680 kg/m<sup>3</sup>, M = 100,21 g/mol, číslo šarže: PP/2010/14672
  - Výrobce: Lach-Ner, s.r.o., Tovární 157, 277 11 Neratovice, ČR
- Kyselina fosforečná, p.a.
  - Balení 1000 ml, obsah 85 %, hustota 1700 kg/m<sup>3</sup>, M = 98 g/mol, číslo šarže: 1801230113
  - Výrobce: PENTA, Ing. Petr Švec, Wuchterlova 16, 160 41 Praha 6, ČR

#### Mobilní fáze pro TLC

- n-hexan, p.a.
  - Balení 1000 ml, obsah 99 %, hustota 659 kg/m<sup>3</sup>, M = 86,18 g/mol, číslo šarže: 2307190718
  - Výrobce: PENTA, Ing. Petr Švec, Wuchterlova 16, 160 41 Praha 6, ČR
- Diethylether, p.a., nestabilizovaný
  - Balení 1000 ml, obsah 99,7 %, hustota 714 kg/m<sup>3</sup>, M = 74,12 g/mol, číslo šarže: 1512091214
  - Výrobce: PENTA, Ing. Petr Švec, Wuchterlova 16, 160 41 Praha 6, ČR
- Kyselina octová, čistá
  - Balení 1000 ml, obsah 99 %, hustota 1050 kg/m<sup>3</sup>, M = 60,05 g/mol, číslo šarže: 1907280714
  - Výrobce: PENTA, Ing. Petr Švec, Wuchterlova 16, 160 41 Praha 6, ČR

#### Detekční činidlo

- 2',7'-dichlorfluorescein
  - Číslo šarže: 319108554
  - Výrobce: Carl Roth GmbH + Co.KG, 76185 Karlsruhe, DE

#### Interní standard

- Kyselina cis-13,16,19 dokosatrienová

- Výrobce: Larodan Fine Chemicals AB, Limhamnsgårdens allé 9, SE 216 16 Malmö, Švédsko

#### Další chemikálie

- Acetylchlorid, Reagent Plus > 99%
  - Balení 500 ml, číslo šarže: STBD5754V
  - Výrobce: SIGMA-ALDRICH Chemie GmbH, Reidstrasse 2, 895 55 Steinheim, DE
- Metanol, p.a.
  - Balení 1000 ml, obsah 99,8 %, hustota 791 kg/m<sup>3</sup>, M = 32,04 g/mol, číslo šarže: 2209270917
  - Výrobce: PENTA, Ing. Petr Švec, Wuchterlova 16, 160 41 Praha 6, ČR
- Toluén, p.a.
  - Balení 1000 ml, obsah 99 %, hustota 867 kg/m<sup>3</sup>, M = 92,14 g/mol, číslo šarže: PP/2013/02444
  - Výrobce: Lach-Ner, s.r.o., Tovární 157, 277 11 Neratovice, ČR
- Uhlíčan draselný, bezvodý
  - Balení 500 g, M = 138, 21 g/mol, číslo šarže: PP/2013/12622
  - Výrobce: Lach-Ner, s.r.o., Tovární 157, 277 11 Neratovice, ČR
- Chloroform, p.a.
  - Balení 1000 ml, obsah 99,8 %, hustota 1483 kg/m<sup>3</sup>, M = 119,38 g/mol, číslo šarže: 1611101111
  - Výrobce: PENTA, Ing. Petr Švec, Wuchterlova 16, 160 41 Praha 6, ČR
- Dichlormethan, p.a.
  - Balení 1000 ml, obsah 99,5 %, hustota 1330 kg/m<sup>3</sup>, M = 84,93 g/mol, číslo šarže: 2207100717
  - Výrobce: PENTA, Ing. Petr Švec, Wuchterlova 16, 160 41 Praha 6, ČR
- Standard pro TLC: pool plazma
- Destilovaná voda

#### Tlakové láhve

- Dusík: N<sub>2</sub> 4.0, UN 1066
  - Výrobce: Linde Gas a.s., U Technoplynu 1324, 198 00 Praha 9, ČR



- Helium: He 5.0, UN 1046
  - Výrobce: Linde Gas a.s., U Technoplynu 1324, 198 00 Praha 9, ČR
- Vodík: H<sub>2</sub> 5.0 ≥ 99, 999
  - Výrobce: Linde Gas a.s., U Technoplynu 1324, 198 00 Praha 9, ČR
- Vzduch: O<sub>2</sub> 20 %, N<sub>2</sub> 80 %, UN 1956
  - Výrobce: Linde Gas a.s., U Technoplynu 1324, 198 00 Praha 9, ČR

#### Chromatografické desky

- TLC Silica gel 60, 25 Glass plates 20x20 cm, balení 25 kusů, číslo produktu 1.05721.001
- Výrobce: Merck spol. s.r.o., 642 71, Darmstadt, DE

## **2.4 Postup práce**

### **2.4.1 Denaturace bílkovin a extrakce lipidů**

Do zkumavek bylo napipetováno 500 µl vzorku plazmy či standardu, ke kterému bylo poté přidáno 2,5 ml deproteinačního roztoku (připraven smícháním 2-propanolu, n-heptanu a 2M kyseliny fosforečné v poměru 40:20:1). Směs byla následně promíchána pomocí vortexu a poté byla ponechána 10 minut při pokojové teplotě. Následně byl k obsahu přidán 1 ml interního standardu a 1,5 ml destilované vody. Opět byla směs promíchána na vortexu a poté centrifugována po dobu deseti minut při 3000 otáčkách za minutu. Horní organická fáze byla odpipetována do zkumavky a v digestoři byla pod dusíkem při pokojové teplotě odpařena do sucha.

### **2.4.2 Tenkovrstvá chromatografie**

#### Příprava chromatografické desky

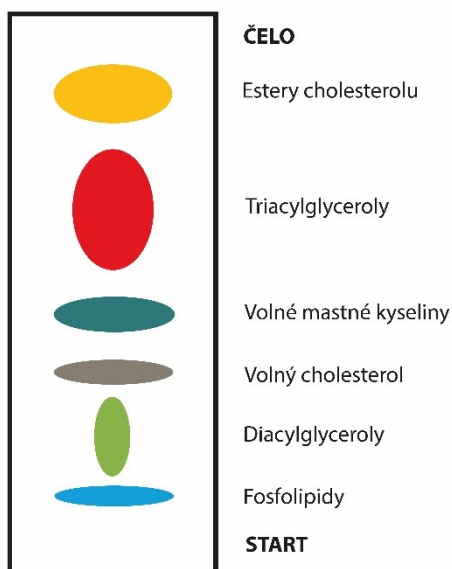
Na chromatografické desky byly měkkou tužkou narýsovány jednotlivé dráhy, start a čelo. Start byl vyznačen 2,5 cm od spodního okraje desky a čelo 1 cm od jejího horního okraje. Plocha byla poté rozdělena do šesti drah, každá o šířce 3 cm. Po obou okrajích desky byly vyznačeny okraje široké 1 cm. Nad jednotlivými drahami byla poznamenána čísla vzorků.

### Příprava mobilní fáze

Mobilní fáze byla připravena smícháním 160 ml hexanu, 40 ml diethyletheru a 6 ml 99% kyseliny octové. Takto namíchaná směs byla přelita do chromatografické vany, která se ponechala sytit parami mobilní fáze po dobu 30 až 40 minut před vložení desky.

### Vlastní tenkovrstvá chromatografie

K odparku bylo přidáno 75  $\mu$ l směsi chloroform-metanol v poměru 2:1 a Pasteurovými pipetami byla tato směs nanášena na startovní čáru chromatografické desky. Postupováno bylo obezřetně, aby nedošlo k poškození povrchu desky. Takto připravená deska byla po viditelném zaschnutí vložena do chromatografické vany a nechala se vyvíjet cca 60 minut (do doby, než mobilní fáze dosáhla vyznačeného čela). Poté byla deska vyjmuta z vany a usušena v digestoři. Tímto postupem byly lipidy rozděleny do pěti tříd: fosfolipidy, diacylglyceroly, volné mastné kyseliny, triacylglyceroly a estery cholesterolu. Pořadí lipidových frakcí je znázorněno na Obrázku 10.



**Obrázek 10:** Pořadí lipidových frakcí na TLC desce

### Detekce rozdělených vrstev

K detekci byl použit 2,7-dichlorfluorescein, jenž byl na pole se standardem rovnoměrně rozprášen sprejem. Ostatní dráhy se vzorky byly před detekčním činidlem ochráněny zakrytím. Pro zviditelnění jednotlivých lipidových frakcí byla použita UV lampa.

### Izolace jednotlivých složek

Jednotlivé lipidové frakce (fosfolipidy, diacylglyceroly, volné mastné kyseliny, triacylglyceroly a estery cholesterolu) byly označeny měkkou tužkou 0,5 cm nad horním i pod dolním okrajem skvrny. Tato pole byla vyškrábána z chromatografické desky do předem označených pyrexových zkumavek s uzávěrem s teflonovým těsněním.

### **2.4.3 Plynová chromatografie**

#### Derivatizace – převedení na methylestery

Do pyrexových zkumavek s jednotlivými vyškrábanými lipidovými frakcemi byl nadávkován 1 ml roztoku interního standardu pro plynovou chromatografii (kyselina cis-13,16,19 dokosatrienová) o koncentraci 10 µg/ml a 1 ml směsi toluen-metanol v poměru 4:1. Následně bylo do zkumavek vloženo magnetické míchadlo a napipetováno 200 µl acetylchloridu, jenž slouží jako katalyzátor esterifikace. Poté byly zkumavky uzavřeny víčkem s teflonovým těsněním a umístěny na jednu hodinu do termobloku vyhřátého na 100 °C se zapnutým magnetickým mícháním. Po uplynutí esterifikační reakce byly zkumavky ponechány k vychladnutí na pokojovou teplotu. Následně byla provedena neutralizace pomocí 5 ml 6% vodného roztoku K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a poté byla směs v ruce 2 minuty intenzivně třepána, následně centrifugována 10 minut při 3000 otáčkách za minutu. Po rozdělení směsi byla horní organická vrstva odpipetována do čisté zkumavky a odpařena v digestoři pod dusíkem do sucha. Nakonec bylo přidáno 100 µl směsi methanol-toluen 1:4, promícháno na vortexu a roztok přepipetován do chromatografických vialek s insertem. Vialky byly uzavřeny víčkem s pryžovým septem a uskladněny v mrazáku do doby jejich změření na plynovém chromatografu.

#### Vlastní plynová chromatografie

Uzavřené vialky byly naskládány do karuselu a po naprogramování dané sady vzorků byl plynový chromatograf Agilent Technologies 7890A spuštěn. Teplotní program na koloně byl následující: počáteční teplota 130 °C, teplota nástřiku 230 °C a teplota FID detektoru 250 °C. Celkový čas analýzy jednoho vzorku byl 92 minut, u vzorků obsahujících estery cholesterolu 120 minut. Měření bylo v módu split v poměru 10:1.

#### Vyhodnocení výsledků

Pro identifikaci jednotlivých píků mastných kyselin byly použity eluční časy získané měřením jednotlivých roztoků mastných kyselin. Všechny analýzy byly prováděny s použitím vnitřního standardu. Získané chromatogramy byly poté integrovány v programu GC

ChemStation B04.03 a získaná data byla dále statisticky zpracována pomocí MS Excel 2016 a Statistica 12.

### 3 VÝSLEDKY

Pomocí tenkovrstvé a plynové chromatografie byla provedena analýza 22 vzorků plazmy. Jednalo se o 7 vzorků plazmy pacientů trpících NAFLD a 15 vzorků plazmy zdravých dárců krve. Rutinní výsledky biochemických analýz vzorků pacientů s jaterní steatózou jsou uvedeny v tabulce 2 a 3 v příloze.

Plochy píků kyselin byly zintegrovány a následně byl proveden přepočítání k získání koncentrací příslušných MK. Tyto koncentrace MK v jednotlivých frakcích lipidů byly využity pro výpočet aktivit enzymů ( $\Delta 9$ -desaturázy, elongázy,  $\Delta 5$ -desaturázy a  $\Delta 6$ -desaturázy). Dále byly výsledky zpracovány v programu Microsoft Office Excel 2016 a Statistica 12.

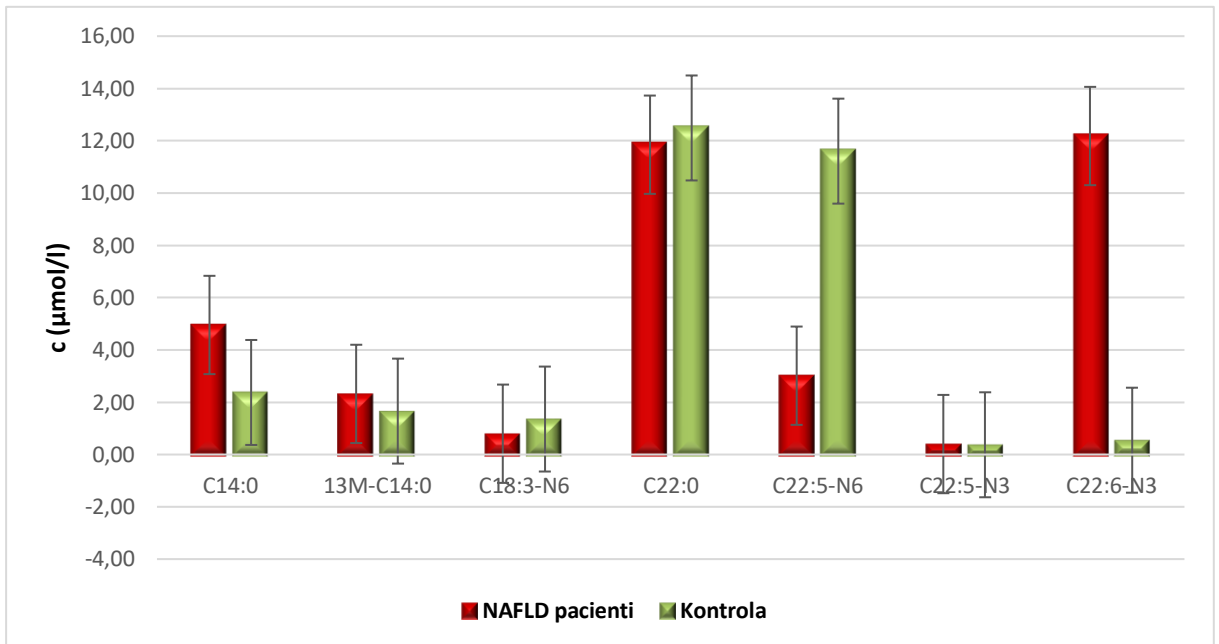
#### 3.1 Obsah vybraných mastných kyselin v jednotlivých frakcích

V grafech, zhotovených pomocí programu Microsoft Excel 2016, byla pozorována závislost průměrné koncentrace vybraných mastných kyselin v jednotlivých lipidových frakcích u pacientů s NAFLD a u zdravých jedinců. Analyzováno bylo 40 mastných kyselin, z nichž bylo vybráno 14 statisticky významných (Tabulka 1).

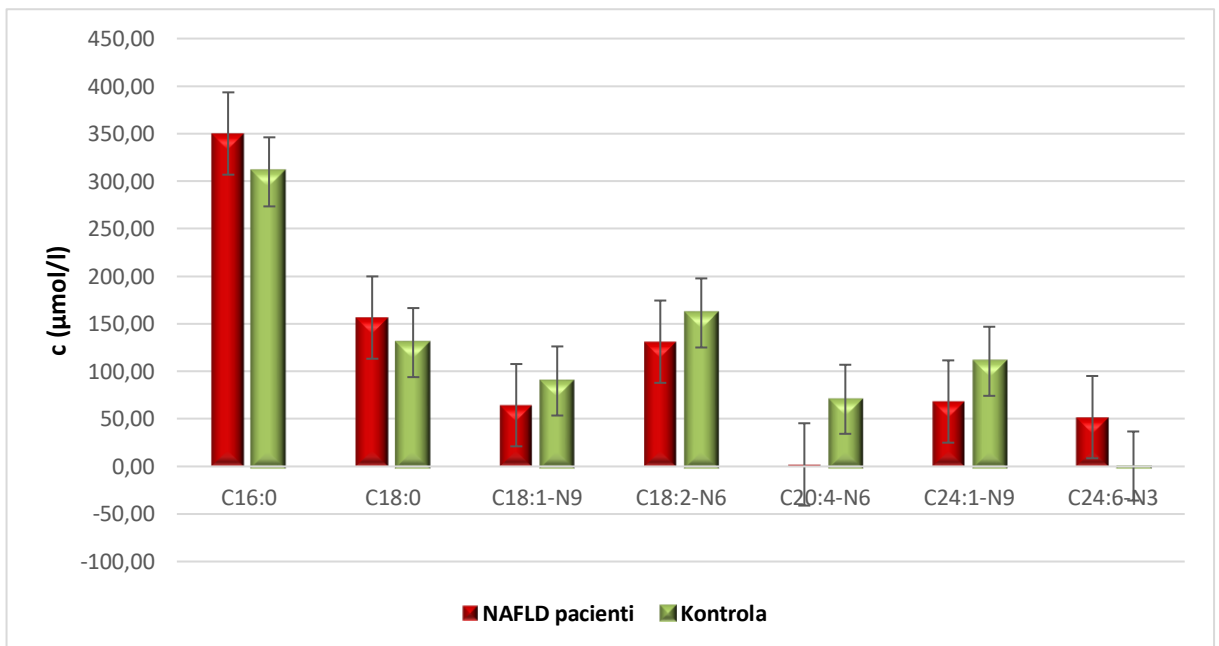
**Tabulka 1:** Vybrané mastné kyseliny

Název kyseliny	Zkratka kyseliny
Myristová kyselina	C14:0
13-Methylmyristová kyselina	13M-C14:0
Palmitová kyselina	C16:0
Stearová kyselina	C18:0
Olejevá kyselina	C18:1-N9
Linolová kyselina	C18:2-N6
$\gamma$ -Linolenová kyselina	C18:3-N6
Behenová kyselina	C22:0
Arachidonová kyselina	C20:4-N6
Nervonová kyselina	C24:1-N9
Dokosapentaenová kyselina	C22:5-N6
Dokosapentaenová kyselina	C22:5-N3
Dokosahexaenová kyselina	C22:6-N3
Tetrakosahexaenová kyselina	C24:6-N3

### 3.1.1 Fosfolipidy



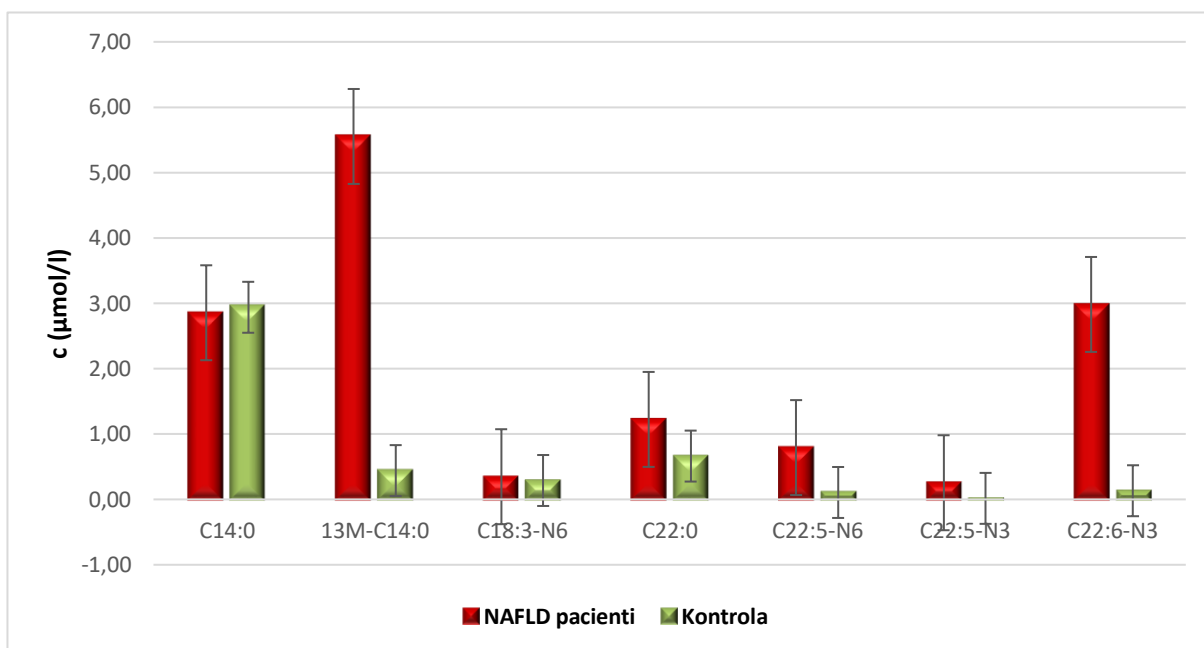
**Graf 1:** Průměrné koncentrace vybraných mastných kyselin ve frakci PL



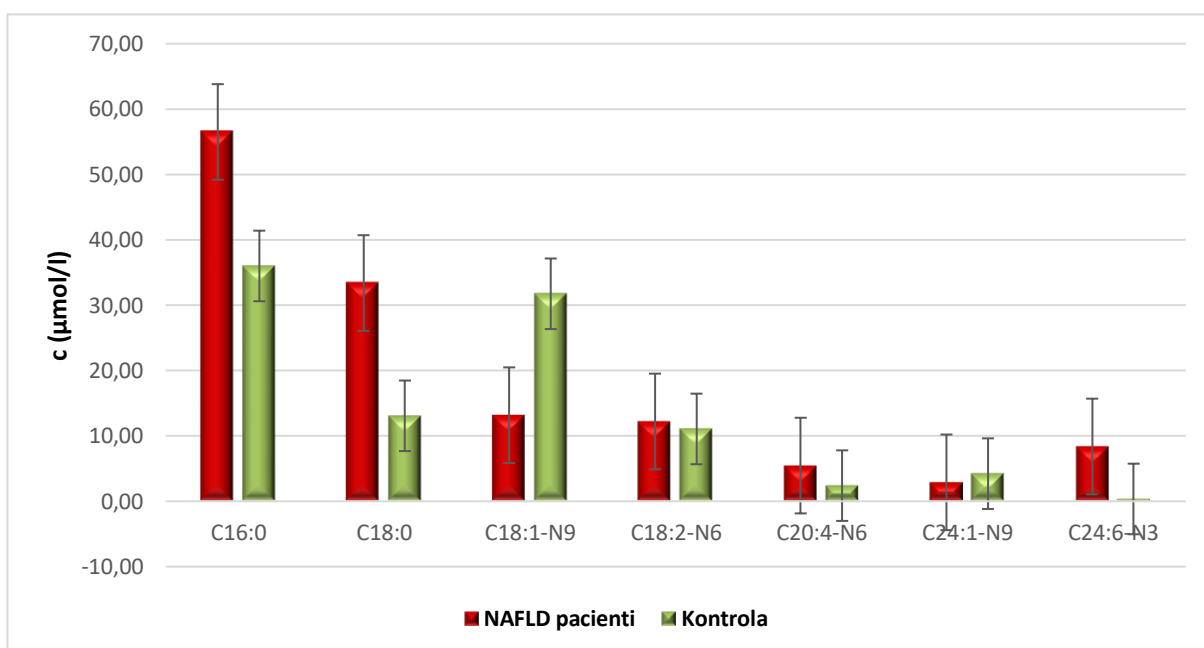
**Graf 2:** Průměrné koncentrace vybraných mastných kyselin ve frakci PL

Ve frakci fosfolipidů je z výše umístěných Grafů 1 a 2 patrné zásadní zvýšení obsahu kyseliny myristové, dokosaheptaenové a tetrakosaheptaenové u vzorků NAFLD pacientů oproti kontrolní skupině. Zásadně snížené hodnoty jsou u kyseliny dokosapentaenové (C22:5-N6) a kyseliny arachidonové. U ostatních kyselin není patrný velký rozdíl mezi vzorky NAFLD pacientů a vzorky zdravé kontrolní skupiny.

### 3.1.2 Diacylglyceroly



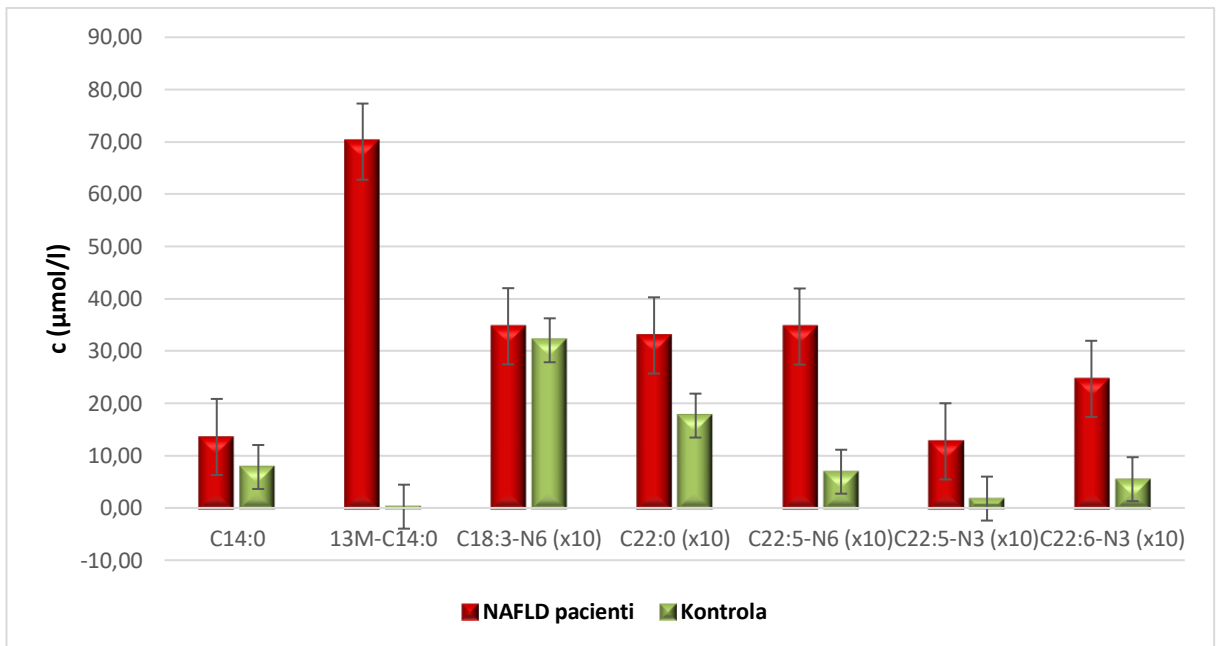
**Graf 3:** Průměrné koncentrace vybraných mastných kyselin ve frakci DAG



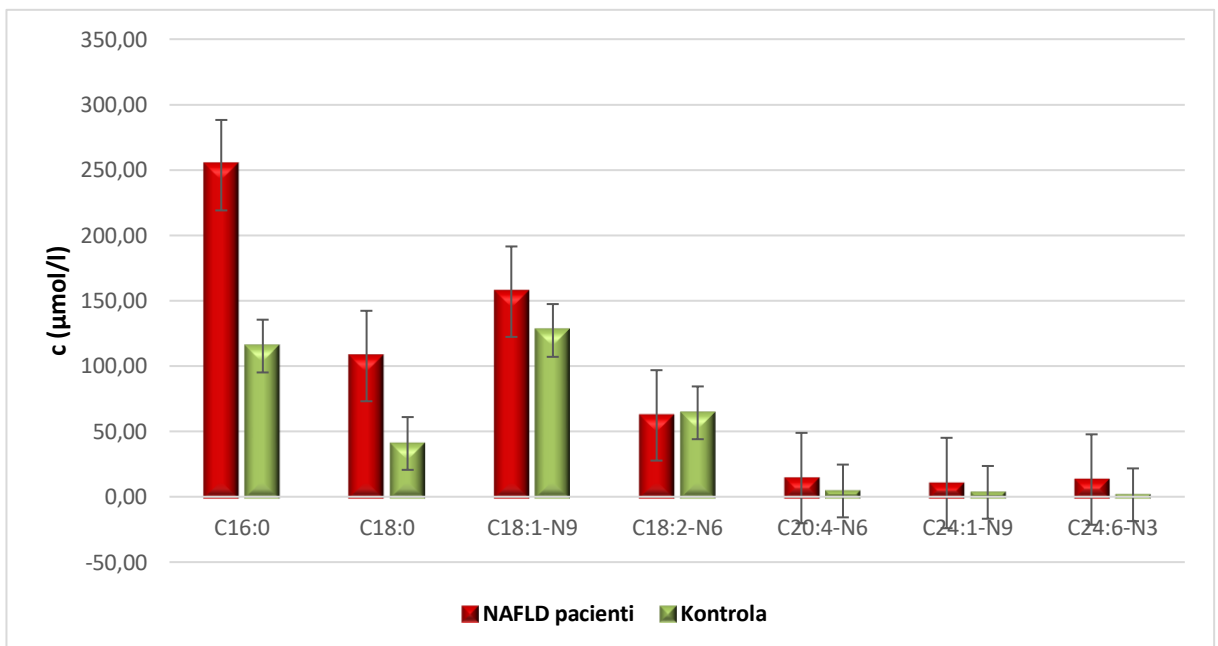
**Graf 4:** Průměrné koncentrace vybraných mastných kyselin ve frakci DAG

Z Grafů 3 a 4, znázorňujících obsah mastných kyselin ve frakci DAG, je patrné zásadní zvýšení kyseliny 13-methylmyristové, dokosapentaenové (C22:5-N6), dokosahexaenové, palmitové, stearové a tetrakosahexaenové u vzorků pacientů oproti hodnotám vzorků zdravých jedinců. Naopak jsou u pacientů pozorovány snížené hodnoty kyseliny olejové. U ostatních kyselin není patrný významnější rozdíl mezi hodnotami vzorků pacientů a zdravých jedinců.

### 3.1.3 Volné mastné kyseliny



**Graf 5:** Průměrné koncentrace vybraných mastných kyselin ve frakci VMK

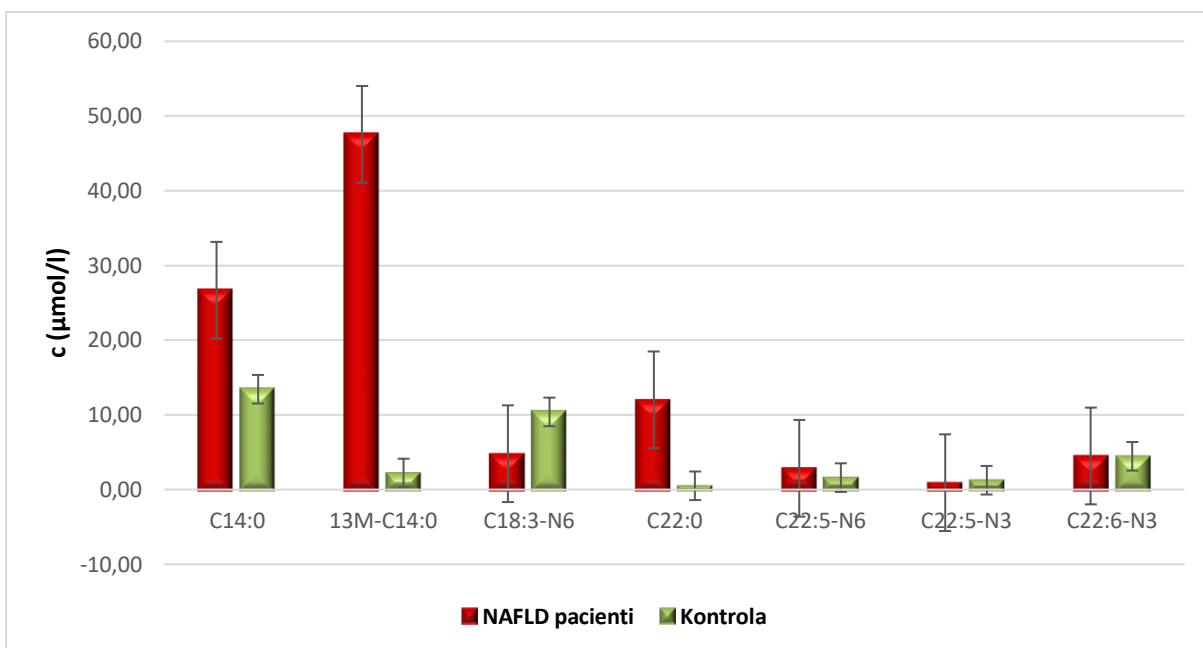


**Graf 6:** Průměrné koncentrace vybraných mastných kyselin ve frakci VMK

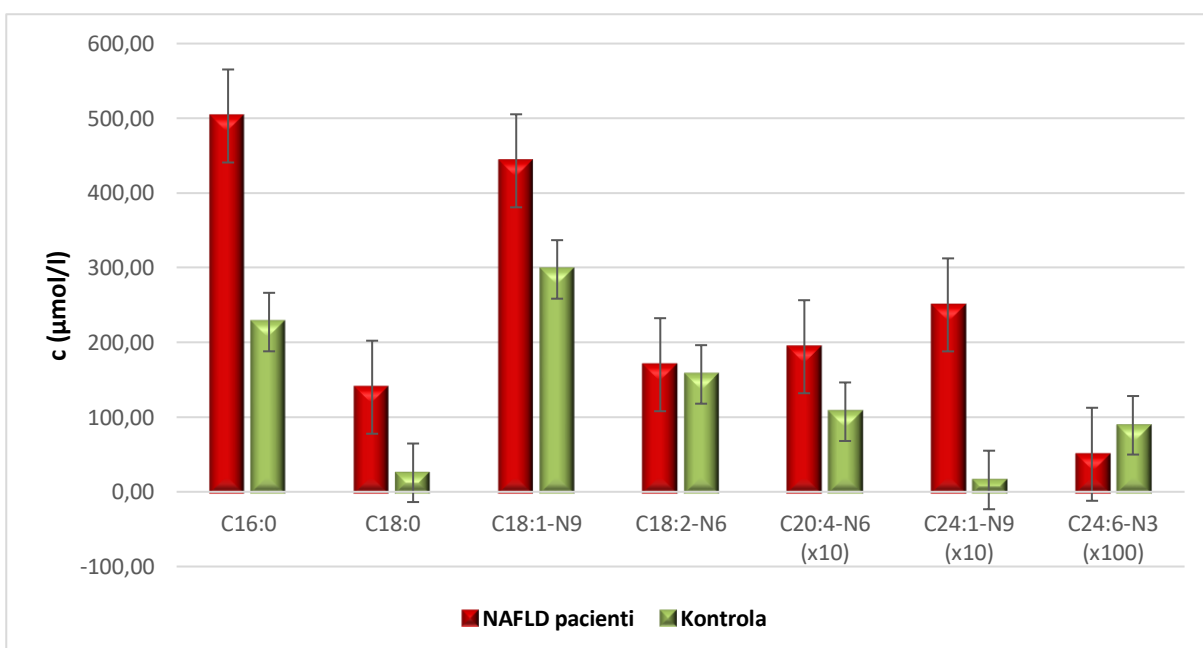
Graf 5 a 6 vyobrazuje vybrané mastné kyseliny ve frakci VMK. V této frakci je u vzorků pacientů oproti vzorkům zdravých jedinců pozorována zvýšená hodnota u všech vybraných kyselin kromě kyseliny linolové, jejíž hodnoty jsou shodné u pacientů i zdravých jedinců. Nejvíce zvýšená hodnota je u kyseliny 13-methylmyristové.



### 3.1.4 Triacylglyceroly



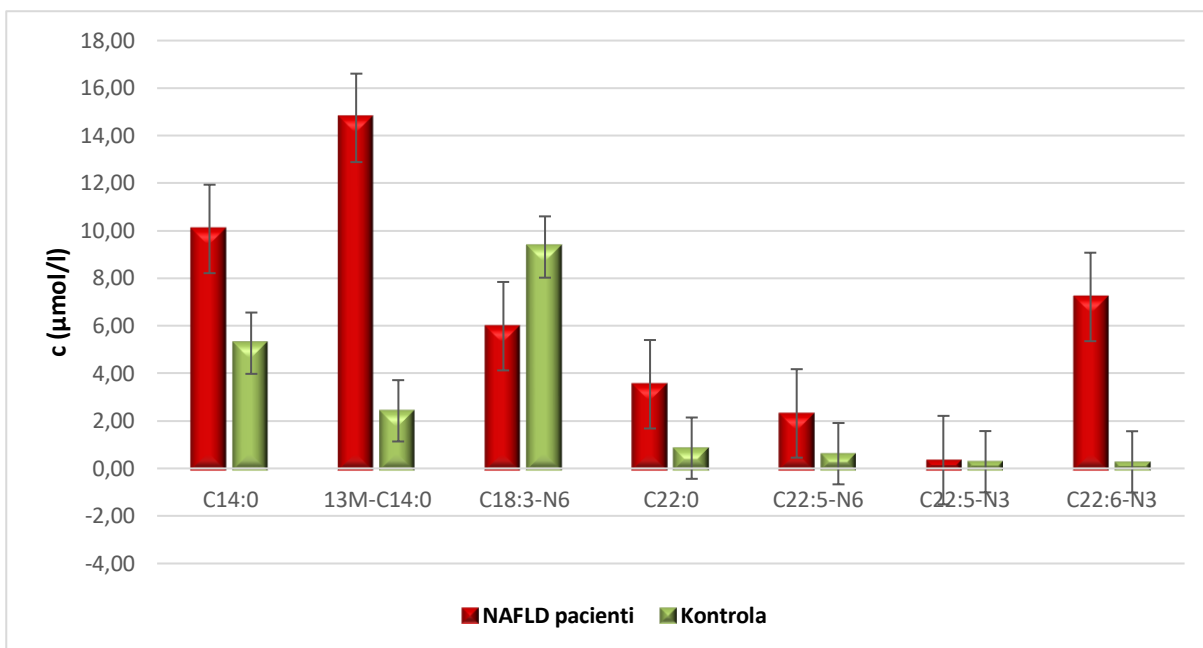
**Graf 7:** Průměrné koncentrace vybraných mastných kyselin ve frakci TAG



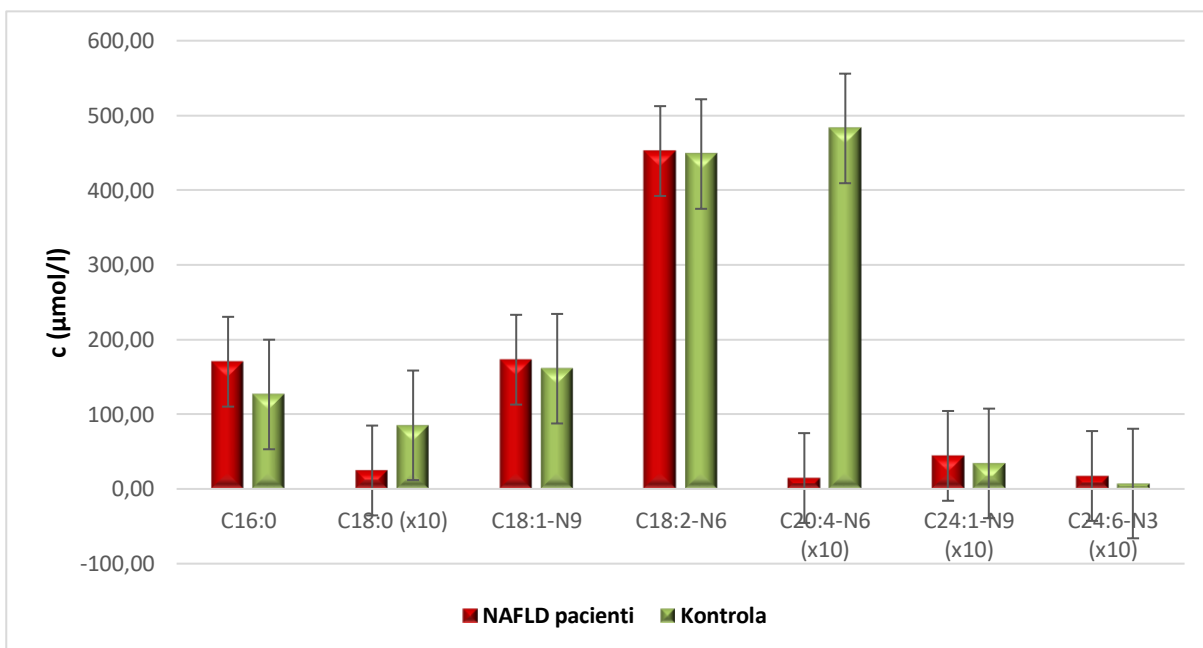
**Graf 8:** Průměrné koncentrace vybraných mastných kyselin ve frakci TAG

Ve frakci TAG je z Grafu 7 a 8 patrné významnější zvýšení kyseliny 13-methylmyristové, behenové, stearové a nervonové. Kromě kyseliny  $\gamma$ -linolenové a tetrakosahexaenové, které jsou u pacientů oproti kontrolním vzorkům snižené, vykazují všechny ostatní kyseliny u pacientů mírně zvýšené hodnoty oproti zdravé kontrolní skupině.

### 3.1.5 Estery cholesterolu



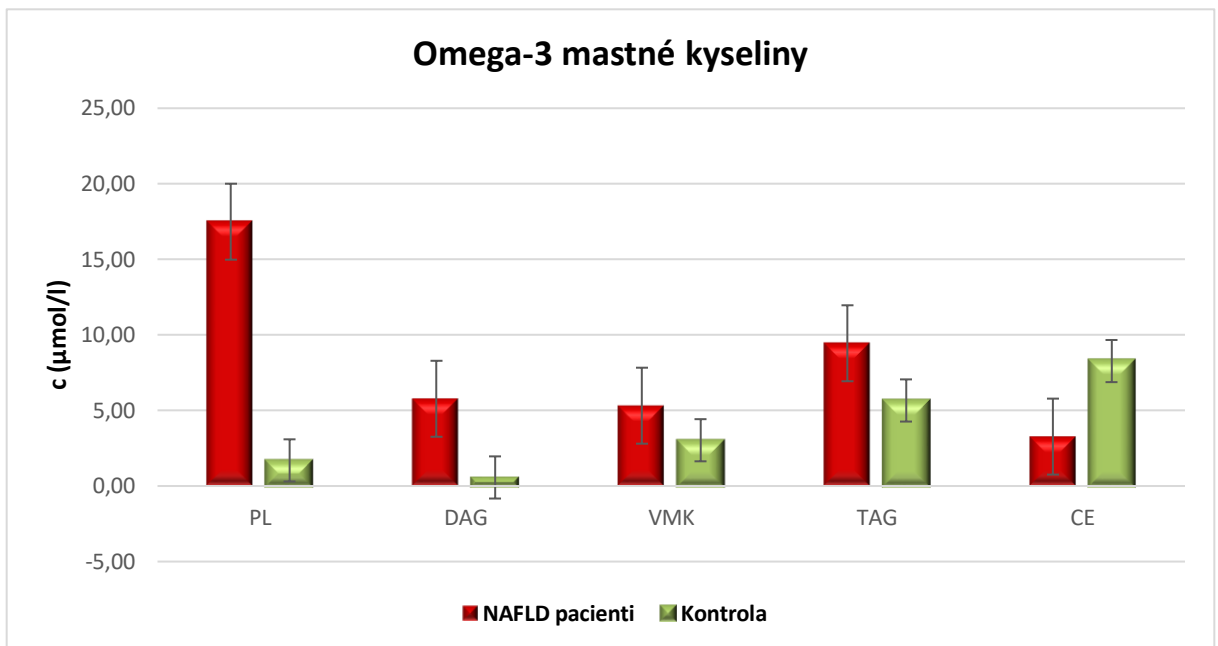
**Graf 9:** Průměrné koncentrace vybraných mastných kyselin ve frakci CE



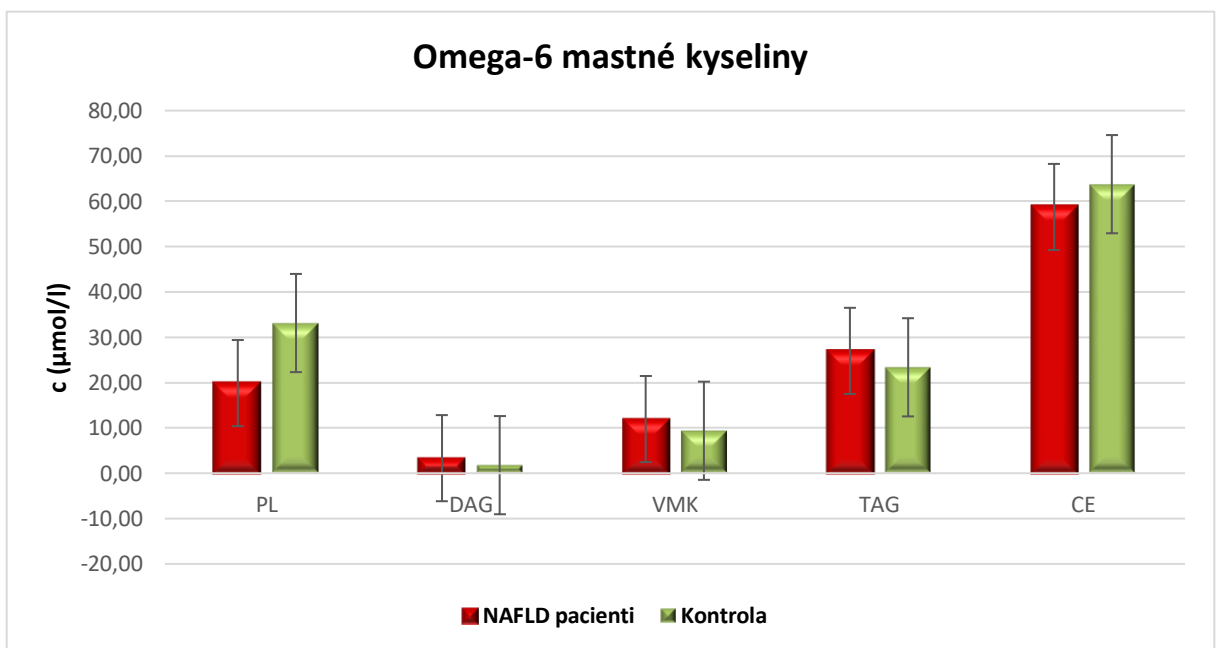
**Graf 10:** Průměrné koncentrace vybraných mastných kyselin ve frakci CE

Grafy 9 a 10 znázorňují koncentrace mastných kyselin ve frakci CE. Oproti kontrolní skupině je u pacientů s NAFLD zásadně zvýšený obsah kyseliny 13-methylmyristové a dokosaheptaenové. Ostatní kyseliny ve vzorcích pacientů jsou mírně zvýšené oproti zdravé kontrole. Výjimkou je kyselina arachidonová, která je u NAFLD pacientů výrazně snížena. Mírně snížena je i kyselina  $\gamma$ -linolenová a kyselina stearová.

### 3.2 Polynenasycené mastné kyseliny: omega-3 a omega-6



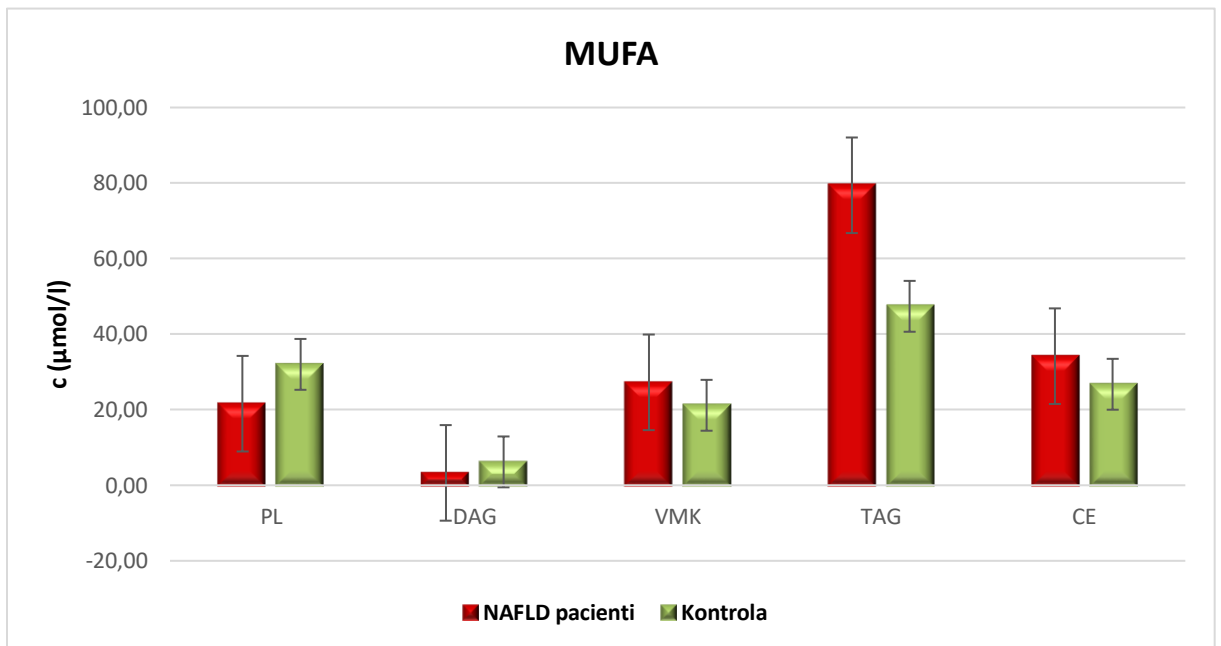
**Graf 11:** Celková koncentrace omega-3 PUFA v lipidových frakcích



**Graf 12:** Celková koncentrace omega-6 PUFA v lipidových frakcích

Z Grafu 11 je u NAFLD pacientů patrné zvýšení koncentrace omega-3 mastných kyselin ve všech lipidových frakcích, kromě frakce CE. Z Grafu 12 vyplývá, že omega-6 mastné kyseliny jsou u nemocných s jaterní steatózou zvýšené ve frakci DAG, VMK a TAG. Naopak mírně snížené jsou ve frakci PL a CE.

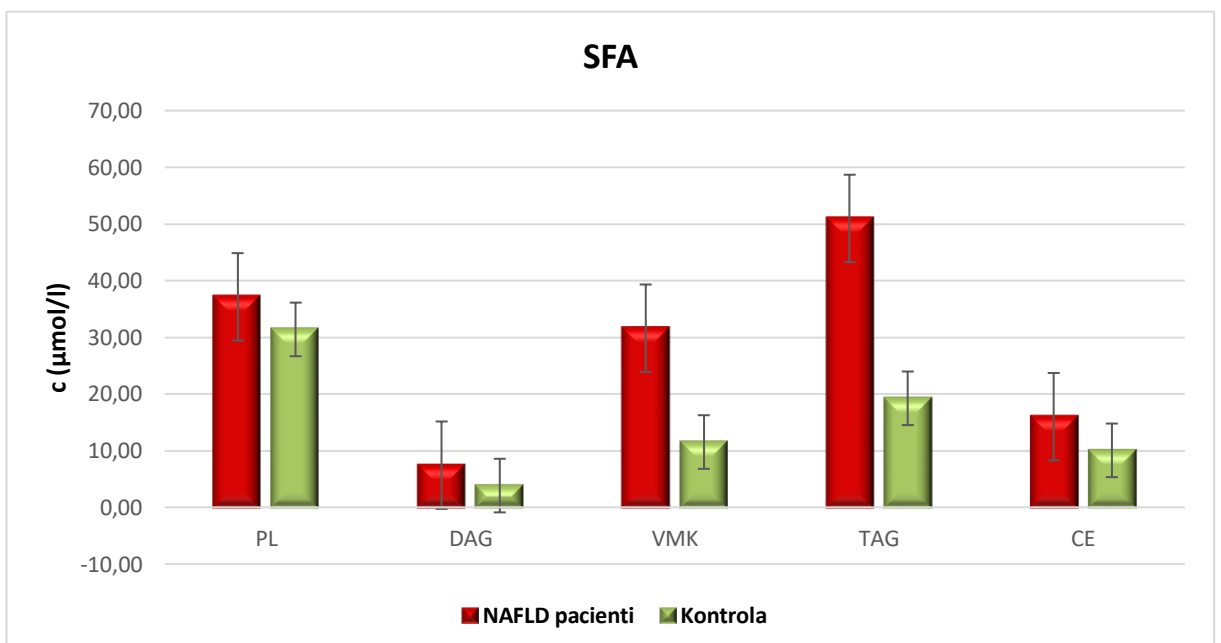
### 3.3 Mononenasyčené mastné kyseliny



**Graf 13:** Celková koncentrace MUFA v lipidových frakcích

Výše umístěný Graf 13 znázorňuje zvýšení koncentrace mononenasyčených mastných kyselin ve frakci VMK, TAG i CE. Ve frakcích PL a DAG jsou tyto kyseliny mírně sniženy.

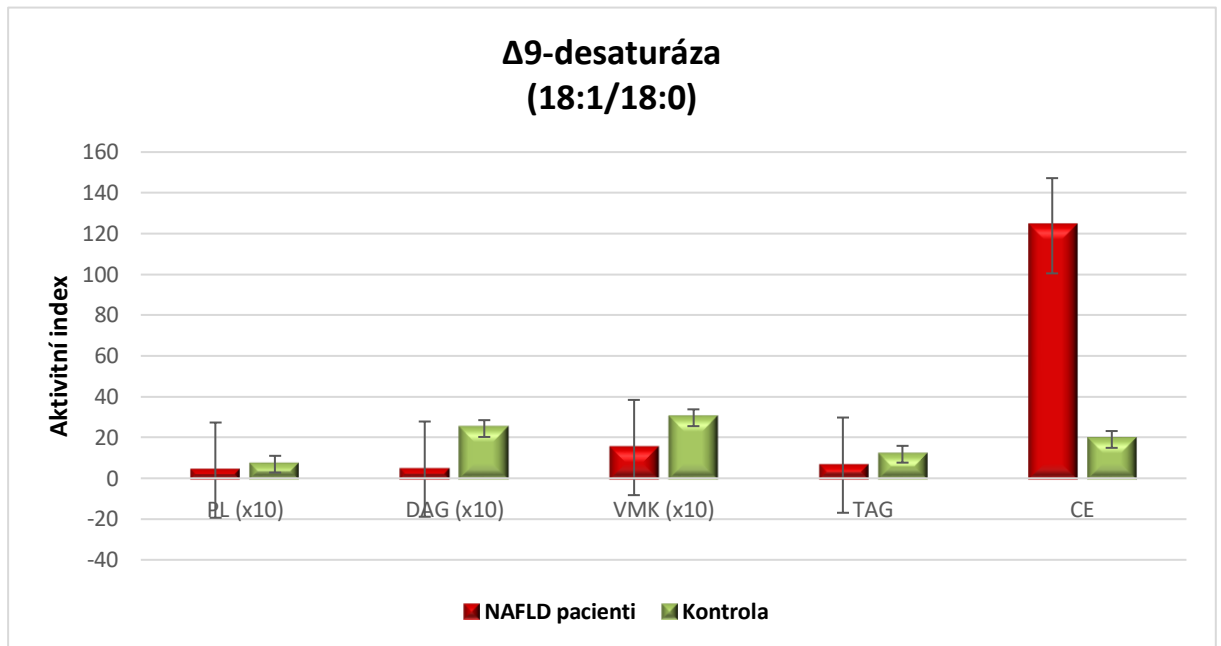
### 3.4 Nasycené mastné kyseliny



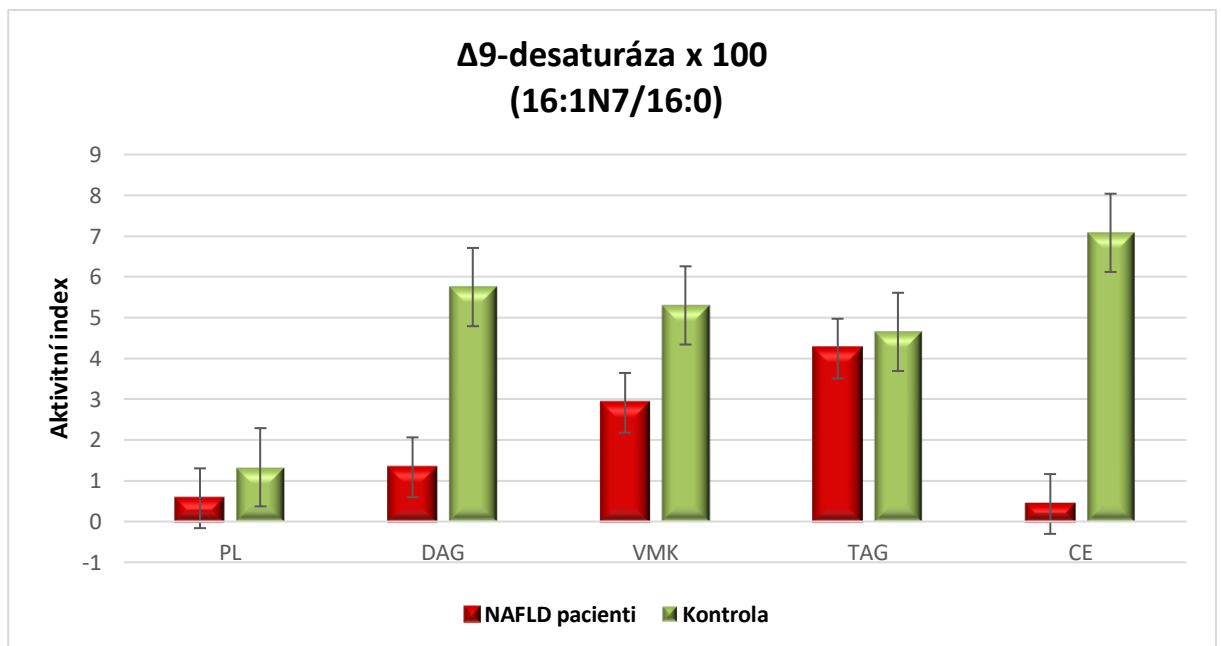
**Graf 14:** Celková koncentrace SFA v lipidových frakcích

Nasycené mastné kyseliny jsou u pacientů s jaterní steatózou zvýšeny ve všech lipidových frakcích, přičemž ve frakci VMK a TAG je pozorováno výraznější zvýšení.

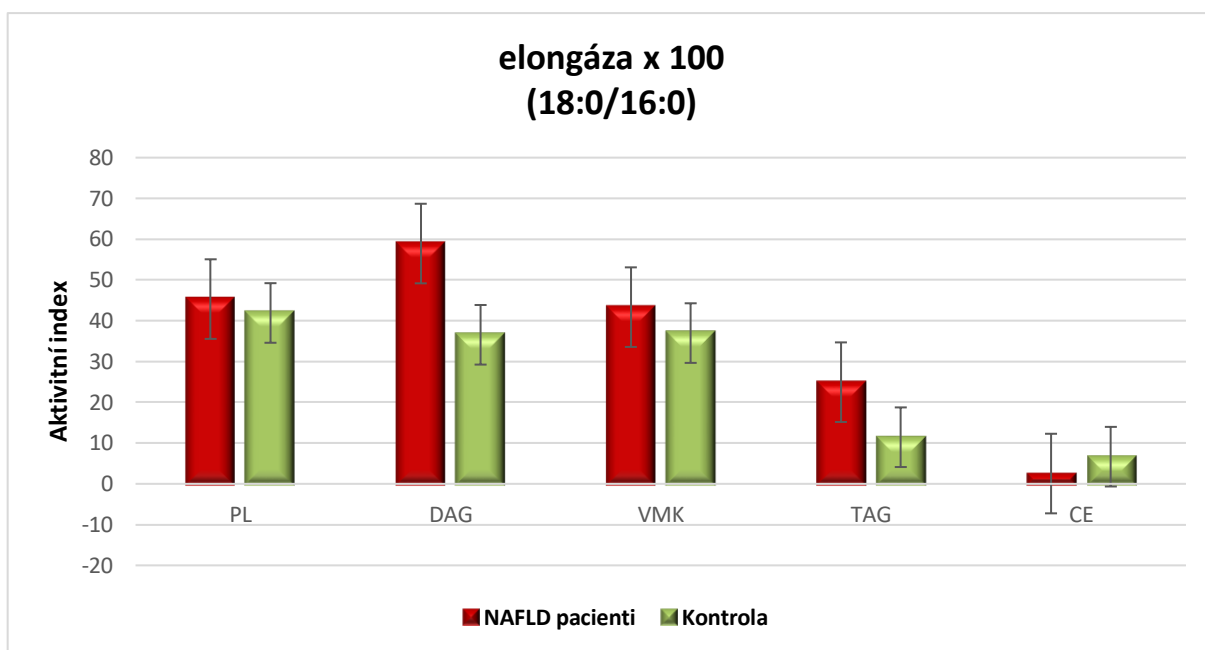
### 3.5 Aktivitní indexy enzymů



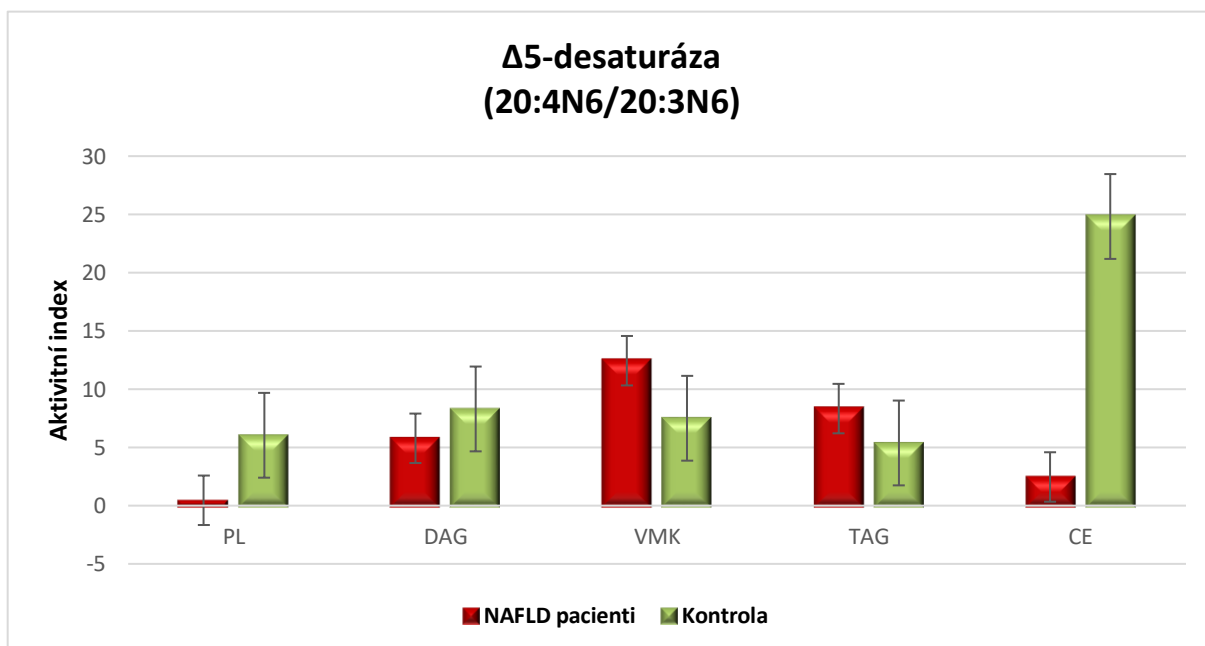
**Graf 15:** Průměrná aktivita  $\Delta 9$ -desaturázy v jednotlivých lipidových frakcích



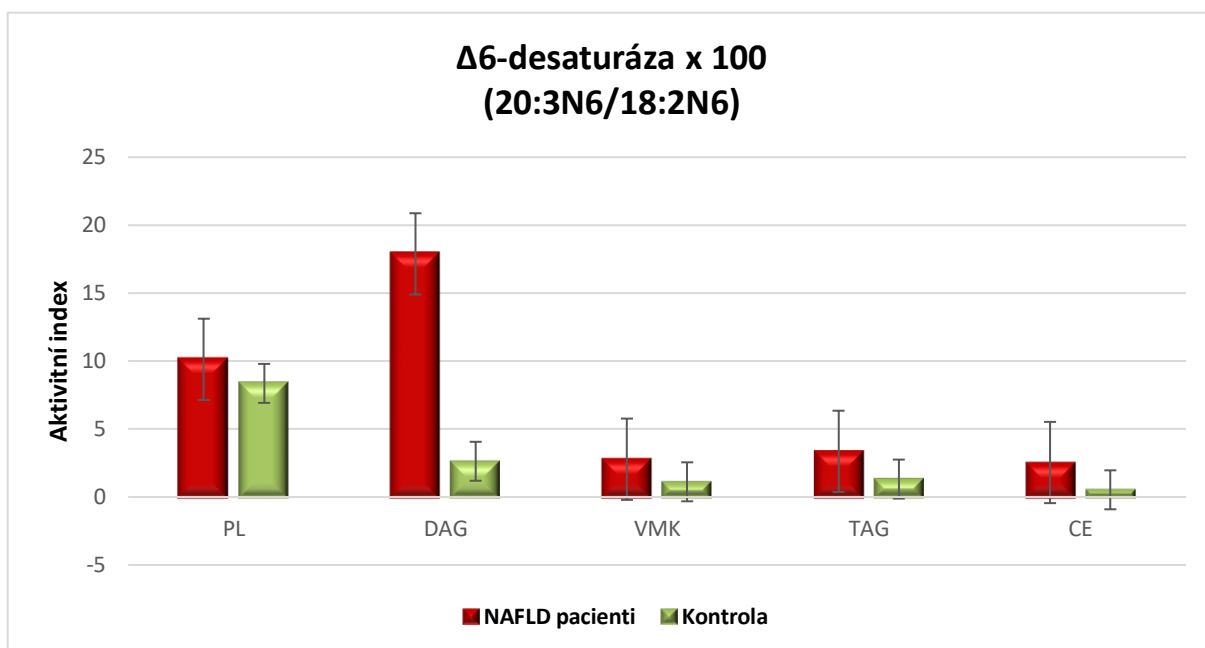
**Graf 16:** Průměrná aktivita  $\Delta 9$ -desaturázy v jednotlivých lipidových frakcích



**Graf 17:** Průměrná aktivita elongázy v jednotlivých lipidových frakcích



**Graf 18:** Průměrná aktivita  $\Delta$ 5-desaturázy v jednotlivých lipidových frakcích



**Graf 19:** Průměrná aktivita  $\Delta 6$ -desaturázy v jednotlivých lipidových frakcích

Z výše vyobrazeného grafu je patrné značné zvýšení aktivitního indexu  $\Delta 9$ -desaturázy (18:1/18:0) u pacientů s jaterní steatózou ve frakci CE. U ostatních frakcí je aktivitní index toho enzymu snížený. U  $\Delta 9$ -desaturázy x 100 (16:1N7/16:0) je aktivitní index u pacientů výrazně snížený ve frakci CE a DAG. U ostatních frakcí je snížený mírněji. Aktivita elongázy x 100 (18:0/16:0) je u pacientů v porovnání se zdravou kontrolou snížena pouze u frakce CE. V ostatních frakcích je aktivita elongázy u nemocných mírně zvýšena. U  $\Delta 5$ -desaturázy (20:4N6/20:3N6) je aktivitní index u skupiny pacientů výrazněji snížen ve frakci PL a CE a mírněji snížen také ve frakci DAG. V ostatních frakcích je naopak mírně zvýšen. Aktivita enzymu  $\Delta 6$ -desaturázy x 100 (20:3N6/18:2N6) je u pacientů v porovnání se zdravou kontrolou zvýšena ve všech lipidových frakcích. Nejvýraznější zvýšení je u frakce DAG a CE.

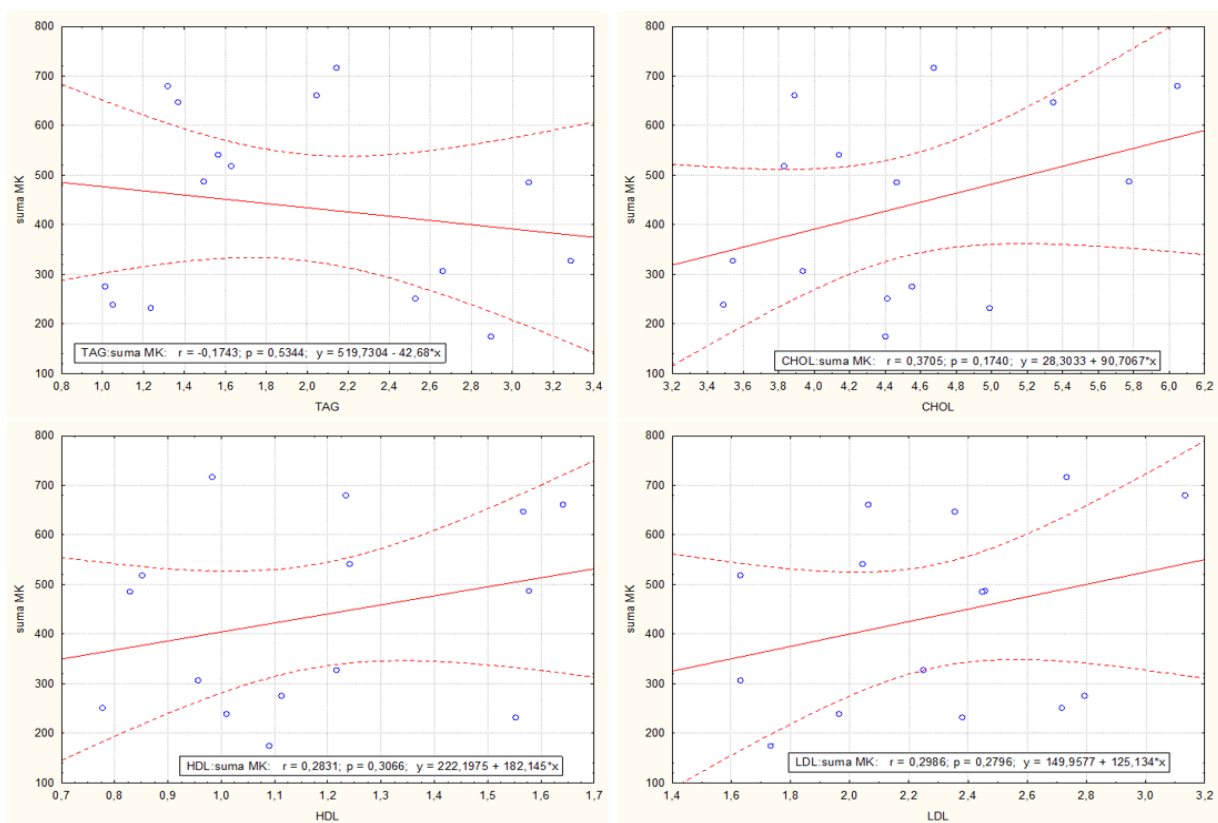
### 3.6 Závislost obsahu lipidových frakcí na koncentraci TAG a cholesterolů

**Tabulka 2:** Význam závislosti obsahu MK na koncentraci TAG a cholesterolů u pacientů a kontrol

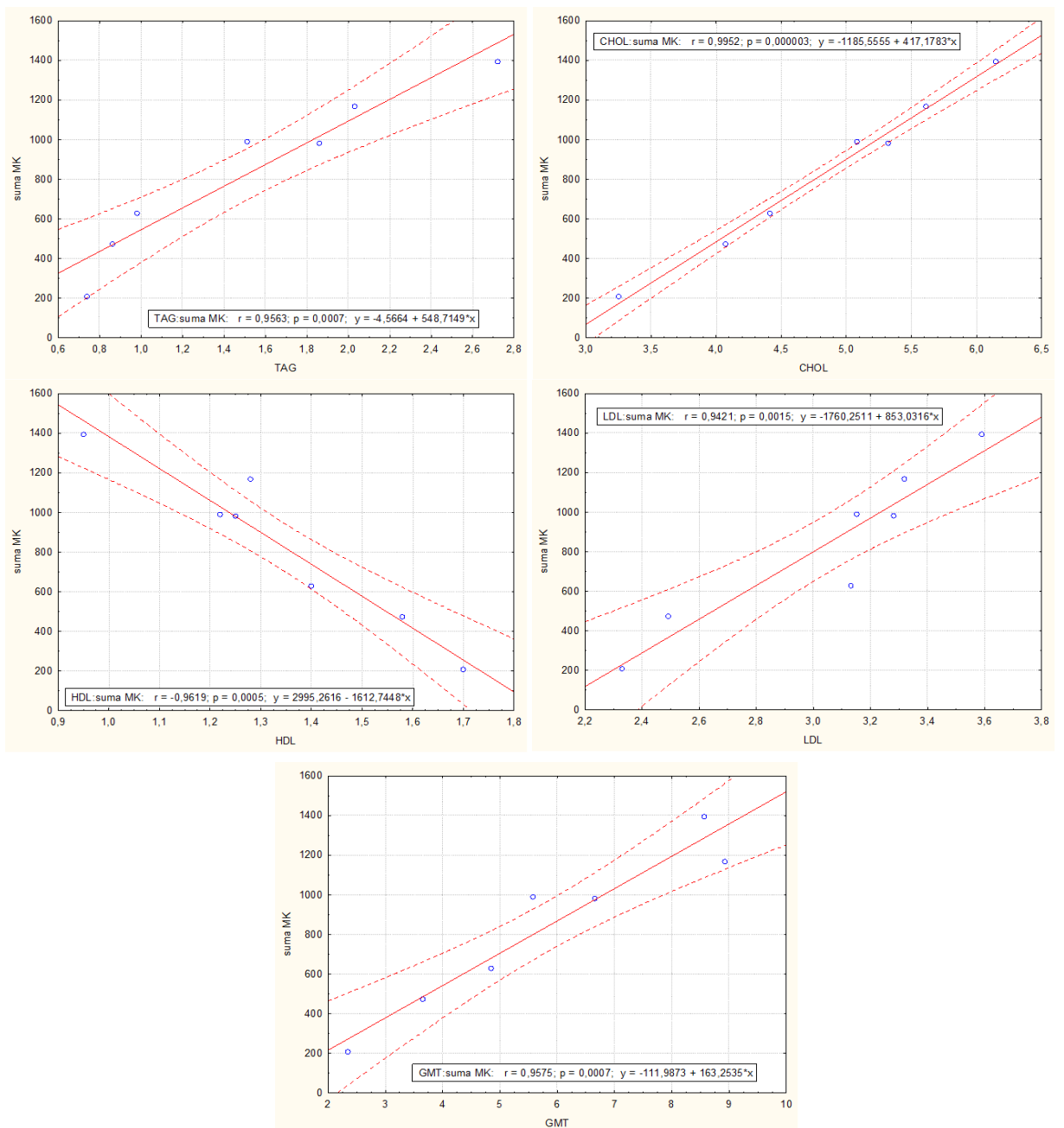
Frakce	Závislost	Kontrola	NAFLD pacienti
CE	MK/TAG	Nevýznamné	Významné
	MK/CHOL	Významné	Nevýznamné
	MK/HDL	Nevýznamné	Nevýznamné
	MK/LDL	Významné	Nevýznamné
	MK/GMT	-	Nevýznamné
DAG	MK/TAG	Nevýznamné	Nevýznamné
	MK/CHOL	Významné	Nevýznamné
	MK/HDL	Nevýznamné	Nevýznamné
	MK/LDL	Významné	Nevýznamné
	MK/GMT	-	Nevýznamné
VMK	MK/TAG	Nevýznamné	Významné
	MK/CHOL	Nevýznamné	Významné
	MK/HDL	Nevýznamné	Významné
	MK/LDL	Nevýznamné	Významné
	MK/GMT	-	Významné
PL	MK/TAG	Nevýznamné	Nevýznamné
	MK/CHOL	Významné	Nevýznamné
	MK/HDL	Nevýznamné	Nevýznamné
	MK/LDL	Nevýznamné	Nevýznamné
	MK/GMT	-	Nevýznamné
TAG	MK/TAG	Významné	Nevýznamné
	MK/CHOL	Nevýznamné	Nevýznamné
	MK/HDL	Nevýznamné	Nevýznamné
	MK/LDL	Nevýznamné	Nevýznamné
	MK/GMT	-	Nevýznamné

Výše umístěná Tabulka 2 shrnuje významnost závislosti obsahu sumy mastných kyselin na koncentraci triacylglycerolu a cholesterolů v pěti lipidových frakcích u NAFLD pacientů a kontrolní skupiny. Významnost byla zjištěna pomocí bodových grafů zhotovených v programu Statistica 12. Za významné jsou považovány závislosti, u kterých hodnota  $p$  vyšla pod 0,05. Z tabulky je patrná statistická významnost VMK frakce u NAFLD pacientů. Grafy z této frakce jsou umístěny na následující straně.





**Obrázek 11:** Závislost obsahu MK na koncentraci TAG a cholesterolů ve frakci VMK u zdravých jedinců



**Obrázek 12:** Závislost obsahu MK na koncentraci TAG a cholesterolů ve frakci VMK u NAFLD pacientů

## 4 DISKUZE

Nealkoholické jaterní steatóze není v běžné praxi přikládán velký význam, avšak toto onemocnění může mít i fatální následky. Je celosvětově nejrozšířenější nealkoholickou příčinou onemocnění jater, obvykle asymptomatické chronické elevace jaterních enzymů. První zmínky byly popsány již v roce 1980 panem Ludwigem. (Ludwig, 1980)

Pro diagnózu je nezbytně nutné vyloučit veškeré známé onemocnění jater, jako jsou vrozené a získané metabolické či autoimunitní choroby (Wilsonova choroba, hemochromatóza, autoimunitní onemocnění jater, galaktozemie, lipodystrofie, Weber-Christianova choroba, Wolmanova choroba, akutní jaterní steatóza v těhotenství), virové hepatitidy a mikrobiální vlivy (endotoxemie, toxin *Bacillus cereus*, zánětlivá střevní onemocnění, divertikulóza tenkého střeva s přemnožením bakterií), nutriční dispozice (proteinově-energetická malnutrice, hladovění, výhradně parenterální výživa, předávkování karbohydráty, velmi rychlá ztráta hmotnosti po náročnějších bariatrických výkonech, a v neposlední řadě též toxické postižení jater (glukokortikoidy, syntetické estrogy, aspirin, blokátory kalciového kanálu, amiodaron, tamoxifen, tetracyklin, methotrexat, kyselina valproová, kokain, některá antivirotika – zidovudin, didanosin, fosfor, petrochemikálie, organická rozpouštědla, toxiny hub). NAFLD vykazuje známky patologického stavu, který nese symptomy jaterních změn vyvolaných požíváním alkoholu. Nicméně v případě NAFLD se tyto změny objevují při absenci alkoholových abú. Vylučovacím kritériem je denní příjem alkoholu větší než 20 g čistého alkoholu denně. (Neuschwander-Tetri, 2003)

Rozvíjející se NAFLD odráží snahu organismu udržet nízké sérové hladiny volných mastných kyselin. Toto onemocnění nastává důsledkem porušené rovnováhy mezi množstvím tuku, které je k hepatocytům doručeno, ve formě volných mastných kyselin uvolněných lipolýzou z tukové tkáně nebo hydrolyzou z triglyceridů chylomikronů transportujících dietní tuky, a které se přímo v játrech tvoří, a množstvím tuku, jež je játry odbouráváno beta-oxidací volných mastných kyselin či játry vylučováno do oběhu ve formě triglyceridů vázaných ve VLDL částicích. Vysoká koncentrace volných mastných kyselin má toxické účinky spojené s produkcí prozánětlivých cytokinů. Dochází k rozvoji mitochondriální dysfunkce, oxidačního stresu a peroxidaci lipidů v hepatocytárních membránách. Patogeneze NAFLD ale dosud není dostatečně prozkoumána. Kromě hromadění tuku v hepatocytech se uplatňují i další faktory – především je to inzulinová rezistence, leptin. Volné mastné kyseliny inhibují inzulinem stimulovaný periferní odchyt glukózy, TNF- $\alpha$  způsobuje down-regulaci fosforylace IRS a snižuje expresi inzulin-dependentního glukozového transportéru Glut4. Rozvoj NAFLD

podporuje porucha beta-oxidace mastných kyselin a změna v regulaci PPAR $\alpha$ , deficit cholinu, defekt v postprandiální sekreci apolipoproteinu B, deficit vitamínu B5, porušená regenerace při depleci jaterního ATP, a také nízká koncentrace adiponektinu. (Jackuliaková, 2009; Utzschneider, 2006)

Cílem této diplomové práce bylo zjistit, jestli u nemocných jedinců s NAFLD dochází ke změnám ve složení mastných kyselin a zda mohou být tyto změny případně využity k přesnější diagnostice nealkoholické jaterní steatózy. Zkoumány byly koncentrace vybraných mastných kyselin u vzorků nemocných NAFLD i u zdravých jedinců. Dále byl hodnocen celkový obsah MUFA, SFA a PUFA (omega-3 a omega-6) v jednotlivých lipidových frakcích u skupiny pacientů i zdravých kontrol. Porovnávány byly i aktivitní indexy enzymů (elongázy a desaturáz) účastnících se regulace syntézy MUFA a PUFA – tedy nenasycených mastných kyselin.

Porovnáním obsahu volných mastných kyselin (VMK) v plazmě nemocných nealkoholickou jaterní steatózou a zdravé kontrolní skupiny bylo zjištěno, že u nemocných NAFLD je celková koncentrace VMK až dvojnásobně zvýšená a současně se objevuje závislost růstu jejich koncentrací na TAG, cholesterolu, LDL-Cholesterolu a HDL-Cholesterolu, obsahu jaterního tuku a na dalších rutinně sledovaných substrátech.

U jedinců s NAFLD byla jasně prokázána změna složení mastných kyselin v lipidových frakcích. Při podrobné analýze koncentrací jednotlivých mastných kyselin ve frakci VMK bylo zjištěno, že průměrná koncentrace kyseliny palmitové a stearové u nemocných proti zdravým kontrolám je dvojnásobná, a jejich obsah roste v závislosti na růstu koncentrací výše uvedených substrátů. Koncentrace kyseliny olejové, linolové a  $\gamma$ -linolenové naproti tomu zůstávají stejné. Ve frakci VMK je výrazně zvýšená také koncentrace kyseliny 13-methylmyristové, dokosapentaenové a dokosahexaenové. Podrobnou analýzou mastných kyselin ve frakci TAG bylo u nemocných NAFLD prokázáno zvýšení koncentrace kyseliny myristové, 13-methylmyristové, behenové, palmitové, stearové a nervonové. Naopak bylo prokázáno mírné snížení koncentrace kyseliny  $\gamma$ -linolenové a tetrakosahexaenové u nemocných jedinců v porovnání s koncentracemi u kontrolních vzorků. Frakce CE vykazuje zásadně zvýšený obsah kyseliny myristové, 13-methylmyristové, behenové, dokosapentaenové a dokosahexaenové. Výrazně snížené koncentrace jsou patrné u kyseliny arachidonové, mírně snížené u kyseliny  $\gamma$ -linolenové a stearové.

Dále byly zkoumány hladiny nasycených mastných kyselin (SFA). Ve všech lipidových frakcích byla pozorována zvýšené koncentrace celkového obsahu SFA – konkrétně byla

zvýšena zejména kyselina 13-methylmyristová a palmitová. Příčinou nárůstu by pravděpodobně mohla být zvýšená *de novo* lipogeneze a strava bohatá na SFA. Následně může vést ke stresu ER a hepatocelulární apoptóze. Prokázány byly také zvýšené hladiny MUFA ve frakcích VMK, TAG a CE. Tyto látky přispívají k rozvoji steatózy. Na druhou stranu se ale lépe začleňují do TAG hepatocytů, tudíž jsou méně lipotoxické než výše zmíněné SFA. Dle literatury byl v několika studiích běžným nálezem také pokles PUFA s dlouhým řetězcem – především se jednalo o pokles kyseliny eikosapentaenové a dokosahexaenové, který mohl být způsoben nedostatkem těchto kyselin ve stravě nebo zhoršenou syntézou danou snížením desaturáz a elongáz. U našich vzorků bylo naopak prokázáno zvýšení kyseliny dokosahexaenové i elongáz. U omega-3 PUFA, sloužící jako ochrana proti lipotoxicitě a inzulinové rezistenci, byly prokázány zvýšené koncentrace ve všech lipidových frakcích kromě frakce CE. Omega-6 PUFA vykazují mírně snížené hodnoty ve frakci PL a CE. V ostatních lipidových frakcích jsou jejich hodnoty nepatrně zvýšené oproti zdravé kontrole. (Chiappini, 2017; Kartsoli, 2020)

V játrech pacientů s NAFLD a NASH byly pozorovány zvýšené hladiny TAG, DAG a fosfatidylcholinu. U NASH pacientů bylo prokázáno vyšší množství TAG obsahující mastné kyseliny s krátkým řetězcem, SFA a MUFA, a naopak nižší množství TAG obsahující PUFA v porovnání se zdravými jedinci nebo pacienty trpící NAFLD. U pacientů s NASH byly také prokázány vyšší hladiny sfingolipidů a nižší hladiny kyseliny arachidonové. U NAFLD a NASH jedinců byla zaznamenána také zvýšená akumulace mitochondriálních lipidů (kardiolipinu a ubichinonu), což naznačuje zvýšenou mitochondriální oxidaci a dysfunkci mitochondrií. (Geng, 2021)

## 5 ZÁVĚR

Tato diplomová práce se zabývá nealkoholickou jaterní steatózou, jedním z nejčastějších onemocnění na celém světě. Patogeneze NAFLD je multifaktoriálním procesem. Roli při vzniku a progresi NAFLD hraje obezita, diabetes mellitus, faktory prostředí, genetické faktory a změna střevní mikroflóry. Tyto faktory vedou k narušení homeostázy lipidů a nadměrné akumulaci triglyceridů a jiných druhů lipidů v hepatocytech. Ústředním mechanismem je inzulinová rezistence vedoucí k lipotoxicitě, stresu v endoplazmatickém retikulu, a nakonec k poškození a smrti hepatocytů. Tím dochází ke spuštění zánětu jater, aktivaci jaterních hvězdných buněk a fibrogenézi, což vede k progresi onemocnění. V současné době existují pouze omezené možnosti léčby. Nynějším standardem péče o pacienty s NAFLD je kontrola rizikových faktorů a změna životního stylu.

Experimentální část je věnována diagnostice nealkoholické jaterní steatózy pomocí tenkovrstvé a plynové chromatografie. Zpracováno bylo celkem 22 vzorků plazmy – 7 vzorků pacientů s NAFLD a 15 vzorků od zdravých dárců, sloužící jako kontrolní skupina. Všechny vzorky byly zpracovány stejným způsobem – nejprve byly rozděleny pomocí tenkovrstvé chromatografie do pěti lipidových frakcí (fosfolipidy, diacylglyceroly, volné mastné kyseliny, triacylglyceroly a estery cholesterolu) a po převedení přítomných mastných kyselin derivatizací na methylestery byla pomocí plynové chromatografie zjištěna koncentrace jednotlivých mastných kyselin v lipidových frakcích. Naměřená data byla následně zpracována pomocí Microsoft Office Excel 2016 a Statistica 12. Cílem bylo nalezení změn koncentrací mastných kyselin u vzorků pacientů oproti zdravým kontrolám. Z detailnějšího prostudování hladin nasycených a nenasycených mastných kyselin byl zjištěn výraznější nárůst kyseliny 13-methylmyristové a palmitové ve všech lipidových frakcích. U lipogenních enzymů byla zjištěna snížená aktivita  $\Delta 9$ -desaturázy ve všech lipidových frakcích NAFLD pacientů. Naopak byla prokázána zvýšená aktivita  $\Delta 6$ -desaturázy ve všech lipidových frakcích, což značí progresi metabolického syndromu a také byla nalezena zvýšená aktivita elongázy.

V rámci prevence NAFLD je nutno u pacientů celoživotně předejít vzniku obezity pravidelnou pohybovou aktivitou a racionálním přístupem ke stravovacím zvyklostem. Při vyšetřování pacientů je třeba se zaměřit na detekci faktorů souvisejících s metabolickým syndromem. U pacientů se sklony k diabetu a obezitě je třeba alespoň jednou ročně vyšetřit jaterní soubor. Při zvýšení parametrů jaterních testů je nutno vyloučit alkoholový abúzus a další možné příčiny včetně hepatitidy a doplnit sonografické vyšetření jater. Do budoucna by i volné mastné kyseliny mohly být odhalujícím parametrem tohoto onemocnění.

## 6 POUŽITÁ LITERATURA

ALVES-BEZERRA M. a D. E. COHEN. Triglyceride metabolism in the liver. *Comprehensive Physiology*. 2017, **8**(1), 1-8.

ANGULO P. Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *New England Journal of Medicine*. 2002, **346**(16), 1221-1231.

ANTUNES C., M. AZADFARD, G. J. HOILAT a M. GUPTA. *Fatty liver*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. 2021.

ARROYAVE-OSPINA J. C., Z. WU, Y. GENG a H. MOSHAGE. Role of Oxidative Stress in the Pathogenesis of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Implications for Prevention and Therapy. *Antioxidants*. 2021, **10**(2), 174.

BLONSKI W., D. S. KOTLYAR a K. A. FORDE. Non-viral causes of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2010, **16**(29), 3603-3615.

BRŮHA R. Nealkoholové postižení jater při steatóze. *Vnitřní lékařství*. 2019, **65**(9), 571-575.

CALDER P. C. Omega-3 Fatty Acids and Inflammatory Processes. *Nutrients*. 2010, **2**(3), 355-374.

CHIAPPINI F., A. COILLY, H. KADAR, et al. Metabolism dysregulation induces a specific lipid signature of nonalcoholic steatohepatitis in patients. *Scientific Reports*. 2017, **7**, 46658.

COBBINA E. a F. AKHLAGHI. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) – pathogenesis, classification, and effect on drug metabolizing enzymes and transporters. *Drug Metabolism Reviews*. 2017, **49**(2), 197-211.

DEPRINCE A., J. T. HAAS a B. STAELS. Dysregulated lipid metabolism links NAFLD to cardiovascular disease. *Molecular Metabolism*. 2020, **42**, 101092.

DONNELLY K. L., C. I. SMITH, S. J. SCHWARZENBERG, J. JESSURUN, M. D. BOLDT a E. J. PARKS. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of Clinical Investigation*. 2005, **115**(5), 1343-1351.

DVOŘÁK K. Nealkoholická steatohepatitida (NASH) – týká se nás všech. *Gastroenterologie a hepatologie*. 2012, **66**(5), 377-383.

EHRMANN J. Mimojaterní projevy NAFLD (non-alcoholic fatty liver disease, nealkoholové postižení jater při steatóze). Jde o příčinnou souvislost?. *Interní medicína pro praxi*. 2017, **19**(2), 72-77.

ESLER W. P. a K. K. BENCE. Metabolic Targets in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*. 2019, **8**(2), 247-267.

FEJFAR T a L. VÍTEK. Současné trendy v diagnostice a léčbě pacientů s NAFLD/NASH. *Medical Tribune*. 2019, **15**(12), C3.

FERRAMOSCA A. Modulation of hepatic steatosis by dietary fatty acids. *World Journal of Gastroenterology*. 2014, **20**(7), 1746-1755.

FRIEDMAN S. L., B. A. NEUSCHWANDER-TETRI a M. RINELLA. Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies. *Nature Medicine*. 2018, **24**(7), 908-922.

FUCHS B., R. SÜSS, K. TEUBER, M. EIBISCH a J. SCHILLER. Lipid analysis by thin-layer chromatography—A review of the current state. *Journal of Chromatography A*. 2011, **1218**(19), 2754-2774.

GEISLER C. E. a B. J. RENQUIST. Hepatic lipid accumulation: cause and consequence of dysregulated glucoregulatory hormones. *Journal of Endocrinology*. 2017, **234**(1), R1-R21.

GENG Y., K. N. FABER, V. E. DE MEIJER, H. BLOKZIJL a H. MOSHAGE. How does hepatic lipid accumulation lead to lipotoxicity in non-alcoholic fatty liver disease? *Hepatology International*. 2021, **15**(1), 21-35.

HAHN-DEINSTROP E. *Applied Thin-Layer Chromatography: Best Practice and Avoidance of Mistakes*. 2nd ed. Weinheim: John Wiley, 2007, ISBN 978-3-527-60985-7.

HOOPER A. J., L. A. ADAMS a J. R. BURNETT. Genetic determinants of hepatic steatosis in man. *Journal of Lipid Research*. 2011, **52**(4), 593-617.

HŮLEK P. a P. URBÁNEK. *Hepatologie*. 3. vydání. Praha: Grada Publishing, 2018, ISBN 978-80-271-0394-2.

CHRISTIE W. W. a X. HAN. *Lipid analysis: Isolation, separation, identification and lipid analysis*. 4. UK: The Oily Press, 2010, ISBN 978-0-9552512-4-5.

CHURÁČEK J. *Analytická separace látek: celostátní vysokoškolská učebnice pro vysoké školy chemickotechnologické*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1990, ISBN 80-03-00569-8.

IPSEN D. H., J. LYKKESFELDT a P. TVEDEN-NYBORG. Molecular mechanisms of hepatic lipid accumulation in non-alcoholic fatty liver disease. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2018, **75**(18), 3313-3327.



JACKULIAKOVÁ D., H. VEVERKOVÁ a V. ŠČUDLA. Nealkoholická steatóza jaterní: Má smysl se jí zabývat?. *Medicína pro praxi*. 2009, **6**(4), 187-190.

JENSEN T., M. F. ABDELMALEK, S. SULLIVAN, et al. Fructose and sugar: A major mediator of non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Hepatology*. 2018, **68**(5), 1063-1075.

JUMP D. B., Ch. M. DEPNER, S. TRIPATHY a K. A. LYTLE. Potential for Dietary  $\omega$ -3 Fatty Acids to Prevent Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Reduce the Risk of Primary Liver Cancer. *Advances in Nutrition*. 2015, **6**(6), 694-702.

KARTSOLI S., Ch. E. KOSTARA, V. TSIMIHODIMOS, E. T. BAIRAKTARI a D. K. CHRISTODOULOU. Lipidomics in non-alcoholic fatty liver disease. *World Journal of Hepatology*. 2020, **12**(8), 436-450.

KLOUDA P. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003, ISBN 80-86369-07-2.

KODÍČEK M., O. VALENTOVÁ a R. HYNEK. *Biochemie: chemický pohled na biologický svět*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2015, ISBN 978-80-7080-927-3.

KOOLMAN J. a K. RÖHM. *Barevný atlas biochemie*. Praha: Grada, 2012, ISBN 978-80-247-2977-0.

KUPČOVÁ V., M. FEDELEŠOVÁ, J. BULAS, P. KOZMONOVÁ a L. TURECKÝ. Overview of the Pathogenesis, Genetic, and Non-Invasive Clinical, Biochemical, and Scoring Methods in the Assessment of NAFLD. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2019, **16**(19), 3570.

LEBL J. *Klinická pediatrie*. Praha: Galén, 2012, ISBN 978-80-7262-772-1.

LI F., J. YE, C. SHAO a B. ZHONG. Compositional alterations of gut microbiota in nonalcoholic fatty liver disease patients: a systematic review and Meta-analysis. *Lipids in Health and Disease*. 2021, **20**(1), 22.

LIU Q., S. BENGMARK a S. QU. The role of hepatic fat accumulation in pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Lipids in Health and Disease*. 2010, **9**(42).

LUDWIG J., T. R. VIGGIANO, D. B. MCGILL, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clinic Proceedings*. 1980, **55**(7), 434-438.

MASHEK D. G. Hepatic Fatty Acid Trafficking: Multiple Forks in the Road. *Advances in Nutrition*. 2013, **4**(6), 697-710.

MATOUŠ B. *Základy lékařské chemie a biochemie*. Praha: Galén, 2010, ISBN 978-80-7262-702-8.

MOTA M., B. A. BANINI, S. C. CAZANAVE a A. J. SANYAL. Molecular mechanisms of lipotoxicity and glucotoxicity in nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*. 2016, **65**(8), 1049-1061.

MURAG S., A. AHMED a D. KIM. Recent Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gut and Liver*. 2021, **15**(2), 206-216.

MUSSO G., M. CASSADER, E. PASCHETTA a R. GAMBINO. Bioactive Lipid Species and Metabolic Pathways in Progression and Resolution of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2018, **155**(2), 282-302.e8.

NEUSCHWANDER-TETRI B. A. Hepatic lipotoxicity and the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis: The central role of nontriglyceride fatty acid metabolites. *Hepatology*. 2010, **52**(2), 774-788.

NEUSCHWANDER-TETRI B. A. a S. H. CALDWELL. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD single topic conference. *Hepatology*. 2003, **37**(5), 1202–1219.

OPEKAR F. *Základní analytická chemie pro studenty, pro něž analytická chemie není hlavním studijním oborem*. Praha: Karolinum. Učební texty Univerzity Karlovy v Praze, 2002, ISBN 80-246-0553-8.

OPLETAL L. a P. DRAŠAR. *Fytochemické metody*. Praha: Karolinum, 1994, ISBN 80-7066-912-8.

ÖSTLUND C., A. HERNANDEZ-ONO a J.-Y. SHIN. The Nuclear Envelope in Lipid Metabolism and Pathogenesis of NAFLD. *Biology*. 2020, **9**(10), 338.

PEI K., T. GUI, D. KAN, et al. An Overview of Lipid Metabolism and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *BioMed Research International*. **2020**, 1-12.

PELIKÁNOVÁ T. Inzulinová rezistence – příčiny a možnosti ovlivnění. *Vnitř lék*. 2014, **60**(9), 746-755.

PROCACCINI C., M. GALGANI, V. DE ROSA, et al. Leptin: the prototypic adipocytokine and its role in NAFLD. *Current Pharmaceutical Design*. 2010, **16**(17), 1902-1912.

PRZYBYSZEWSKI E. M., G. TARGHER, M. RODEN a K. E. COREY. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Cardiovascular Disease. *Clinical Liver Disease*. 2021, **17**(1), 19-22.

RINALDI L., P. C. PAFUNDI, R. GALIERO, et al. Mechanisms of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in the Metabolic Syndrome. A Narrative Review. *Antioxidants*. 2021, **10**(2), 270.

SAMUEL V. T. a G. I. SHULMAN. Nonalcoholic Fatty Liver Disease as a Nexus of Metabolic and Hepatic Diseases. *Cell Metabolism*. 2018, **27**(1), 22-41.

SKOOG D. A., D. M. WEST, F. J. HOLLER a S. R. CROUCH. *Analytická chemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2019, ISBN 978-80-7592-043-0.

SPARKMAN O. D., Z. E. PENTON a F. G. KITSON. *Gas chromatography and mass spectrometry: a practical guide*. Second edition. Oxford: Elsevier, 2011, ISBN 978-0-12373628-4.

SPELIOTES E. K., L. M. YERGES-ARMSTRONG, J. WU, et al. Genome-wide association analysis identifies variants associated with nonalcoholic fatty liver disease that have distinct effects on metabolic traits. *PLoS Genetics*. 2011, **7**(3), e1001324.

STEFAN N., H. HÄRING a K. CUSI. Non-alcoholic fatty liver disease: causes, diagnosis, cardiometabolic consequences, and treatment strategies. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2019, **7**(4), 313-324.

ŠTULÍK K. *Analytické separační metody*. Praha: Karolinum, 2004, ISBN 80-246-0852-9.

TEN HOVE M., L. PATER, G. STORM, S. WEISKIRCHEN, R. WEISKIRCHEN, T. LAMMERS a R. BANSAL. The hepatic lipidome: From basic science to clinical translation. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2020, **159**, 180-197.

TRÉPO E., S. ROMEO, J. ZUCMAN-ROSSI a P. NAHON. PNPLA3 gene in liver diseases. *Journal of Hepatology*. 2016, **65**(2), 399-412.

TRUNEČKA P. Nealkoholická steatohepatitida – lipotoxická jaterní choroba. *Remedia*. 2013, **23**(1), 32-38.

ULLAH R., N. RAUF, G. NABI, H. ULLAH, Y. SHEN, Y.-D. ZHOU a J. FU. Role of Nutrition in the Pathogenesis and Prevention of Non-alcoholic Fatty Liver Disease: Recent Updates. *International Journal of Biological Sciences*. 2019, **15**(2), 265-276.

UTZSCHNEIDER K. M. a S. E. KAHN. The role of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2006, **91**(12), 4753–4761.

WU Y., Y. ZHU, R. HUANG, X. PENG a X. LIN. Multiple MicroRNAs Ameliorate Hepatocyte Steatosis and Injury by Suppressing FABP1 Expression. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2018, **44**(6), 2243-2255.

YEH M. M. a E. M. BRUNT. Pathological Features of Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2014, **147**(4), 754-764.

YOUNOSSI Z., F. TACKE, M. ARRESE, et al. Global Perspectives on Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis. *Hepatology*. 2019, **69**(6), 2672-2682.

## 7 PŘÍLOHY

**Tabulka 3:** Biochemické parametry vzorků plazmy nemocných NAFLD

		1	2	3	4	5	6	7
Triacylglyceroly	mmol/l	1,86	2,03	0,74	2,72	0,86	0,98	1,51
Cholesterol	mmol/l	5,32	5,61	3,25	6,15	4,07	4,41	5,08
HDL-Cholesterol	mmol/l	1,25	1,28	1,7	0,95	1,58	1,4	1,22
LDL-Cholesterol	mmol/l	3,28	3,32	2,33	3,59	2,49	3,13	3,15
ALT	μkat/l	0,85	0,72	0,67	0,81	0,963	0,79	0,61
AST	μkat/l	0,58	0,36	0,41	0,72	0,49	0,44	0,25
GMT	μkat/l	6,65	8,93	2,35	8,57	3,65	4,84	5,58
ALP	μkat/l	1,78	1,8	0,9	1,28	0,72	1,65	0,91
Kyselina močová	μmol/l	351	382	241	381	153	393	175
Močovina	μmol/l	6,3	7,9	5,2	8,9	5,8	4,9	5,8
Kreatinin	μmol/l	96	91	92	100	79	72	87
Bilirubin	μmol/l	9	9	12	10	10	12	7
Bilirubin konj.	μmol/l	4	3	2	6	5	4	2
Jaterní tuk	% jaterní tkáň	21	36	43	57	65	27	50

**Tabulka 4:** Biochemické parametry vzorků plazmy zdravé kontrolní skupiny

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	12	13	15	16	17	20
Triacylglyceroly	mmol/l	1,5	1,32	2,89	1,01	1,24	1,05	2,14	3,28	1,57	1,63	1,37	2,66	2,05	3,08	2,53
Cholesterol	mmol/l	5,77	6,05	4,4	4,55	4,99	3,49	4,67	3,54	4,14	3,83	5,35	3,94	3,89	4,46	4,41
HDL-Cholesterol	mmol/l	1,58	1,23	1,09	1,11	1,55	1,01	0,98	1,22	1,24	0,85	1,57	0,96	1,64	0,83	0,78
LDL-Cholesterol	mmol/l	2,46	3,13	1,73	2,79	2,38	1,97	2,73	2,25	2,04	1,63	2,35	1,63	2,06	2,45	2,72
ALT	μkat/l	0,55	0,47	0,51	0,65	0,58	0,42	0,55	0,46	0,52	0,41	0,76	0,57	0,72	0,64	0,55
AST	μkat/l	0,49	0,32	0,37	0,55	0,43	0,39	0,31	0,59	0,48	0,52	0,63	0,38	0,55	0,36	0,29
GMT	μkat/l	3,28	4,31	3,45	3,69	3,87	2,15	3,48	3,28	4,39	2,85	5,28	4,23	4,54	4,26	3,67
ALP	μkat/l	1,85	1,93	1,24	1,03	1,18	1,05	0,85	1,21	1,05	0,84	1,46	0,95	0,76	0,85	0,97
Kyselina močová	μmol/l	375	452	361	264	367	205	243	197	257	268	364	192	237	316	279
Močovina	μmol/l	4,8	6,2	4,8	6,8	5,1	3,9	4,6	5,2	6,3	5	4,6	3,9	5,4	4,9	4,5
Kreatinin	μmol/l	68	84	59	88	62	61	65	75	83	57	63	55	49	63	78
Bilirubin	μmol/l	7	6	8	7	9	8	7	10	11	10	11	8	10	7	7
Bilirubin konj.	μmol/l	2	3	3	2	4	3	2	4	3	2	4	3	6	4	3

**Tabulka 5:** Koncentrace MK ve fosfolipidech – zdravá kontrola

Mastná kyselina	Zkratka	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
12-Methyltridekanová k.	12M-C13:0	0,53	0,39	0,36	0,30	0,43	0,22	0,39	0,27	0,59	0,50	0,40	0,66	0,52	0,50	0,39
Myristová k.	C14:0	4,61	2,41	2,50	1,26	2,85	1,17	2,20	2,82	2,65	1,66	2,48	2,69	2,38	2,27	1,68
13-Methylmyristová k.	13M-C14:0	2,19	1,26	1,48	1,25	1,65	0,95	2,46	1,23	2,30	1,25	1,85	1,98	2,07	2,07	0,89
12-Methyltetradekanová k.	12M-C14:0	0,56	0,41	0,35	0,39	0,37	0,62	0,90	1,19	0,87	0,75	0,62	1,09	1,03	1,12	0,65
Pentadekanová k.	C15:0	2,50	1,55	1,55	1,44	1,81	0,67	2,03	1,53	1,64	1,45	1,27	1,83	1,33	1,58	1,17
Palmitová k.	C16:0	407,97	377,57	342,22	290,07	344,34	178,47	400,96	316,18	293,73	259,02	310,36	308,19	279,97	317,42	220,71
Palmitolejová k. trans	9-C16:1-trans	0,54	0,30	0,20	0,24	0,24	0,21	0,40	0,40	0,72	0,63	0,75	1,14	0,78	0,69	0,61
Sapienová k.	C16:1-N10	13,36	9,11	8,11	4,51	10,57	7,08	14,08	12,67	7,99	8,55	12,34	9,25	6,73	10,62	6,52
Palmitoolejová k. cis	9-C16:1-cis	4,41	3,13	2,58	2,19	2,77	1,14	7,53	6,52	3,44	4,94	6,06	5,50	3,46	4,88	3,46
14-Methylhexandekanová k.	14M-C16:0	0,56	0,48	0,49	0,41	0,27	0,18	0,82	0,67	0,44	0,81	0,72	0,54	0,49	0,72	0,63
Heptadekanová k.	C17:0	4,11	2,93	2,21	1,74	1,05	2,06	5,13	4,45	2,02	2,74	3,33	2,71	2,34	2,68	2,16
16-Methylheptadekanová k.	16M-C17:0	3,35	1,64	1,60	1,00	2,45	1,99	3,22	2,62	1,17	2,46	2,06	2,18	1,81	2,54	1,92
Stearová k.	C18:0	156,97	164,64	148,16	109,09	139,11	70,14	178,42	162,92	136,57	118,78	103,85	126,27	114,54	140,57	83,58
Vacenová k. trans	C18:1-N7-trans	1,74	1,56	0,92	2,11	1,70	2,45	2,16	2,30	2,90	2,02	2,46	2,76	2,54	2,33	2,28
Olejová k.	C18:1-N9	132,77	113,41	92,81	71,50	96,21	43,01	131,48	114,83	61,21	69,20	106,66	99,65	59,32	84,52	71,74
Vacenová k. cis	C18:1-N7-cis	11,72	15,70	7,15	2,87	7,56	4,07	8,09	7,27	7,04	7,45	7,49	7,32	4,66	6,27	5,60
Nonadekanová k.	C19:0	0,81	1,17	0,81	0,93	0,78	0,64	1,14	1,12	1,56	1,12	1,23	1,11	0,70	1,03	0,85
Linolová k.	C18:2-N6	233,27	236,11	184,32	157,50	184,13	83,36	107,83	116,28	125,79	115,98	191,32	195,52	146,90	184,21	159,06
γ-Linolenová k.	C18:3-N6	1,83	2,18	1,54	0,68	0,64	0,39	1,76	1,59	2,38	1,19	1,82	1,09	1,15	1,22	0,91
Arachová k.	C20:0	5,86	5,16	4,04	4,32	4,76	2,90	6,25	5,00	5,76	4,08	4,67	5,76	3,93	4,14	3,94
α-Linolenová k.	C18:3-N3	2,12	1,47	1,01	1,09	1,35	0,85	1,69	1,38	1,89	1,12	1,26	1,06	1,13	1,14	0,85
Oktadekadienová k.	C18:2-9Z, 11E	9,71	9,16	7,20	6,62	11,00	7,76	7,33	7,49	13,37	4,61	6,50	8,33	9,36	9,88	7,95
Oktadekadienová k.	C18:2-10Z, 12Z	2,93	2,72	3,15	2,61	2,66	0,89	3,19	3,87	4,91	3,59	2,33	3,05	2,50	3,62	3,33
Stearidonová k.	C18:4-N3	2,43	2,29	1,58	1,50	1,18	1,14	1,46	1,77	2,37	2,06	1,88	1,66	1,23	1,69	1,27
cis-8,11,14-Eikosatrienová k.	C20:3-N6	15,51	15,33	10,05	13,41	10,59	12,99	16,01	16,87	14,74	8,24	10,90	14,15	9,97	9,23	6,38
Behenová k.	C22:0	14,64	13,61	12,77	13,07	13,05	7,11	8,74	11,09	17,97	11,89	8,89	15,58	12,91	15,02	11,01

**Tabulka 6:** Koncentrace MK ve fosfolipidech – zdravá kontrola (pokračování)

<b>Mastná kyselina</b>	<b>Zkratka</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>
		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Arachidonová k.	C20:4-N6	68,04	93,62	70,90	46,53	55,32	22,91	74,79	47,48	140,21	101,51	67,28	86,39	106,50	38,96	39,06
Eikosatetraenová k.	C20:4-N3	3,25	3,29	1,96	2,26	2,54	1,80	3,64	4,59	2,48	2,19	2,84	2,73	2,38	2,17	1,87
Eikosapentaenová k.	C20:5-N3	9,82	5,28	2,45	2,68	3,44	2,70	6,34	10,27	11,20	10,57	5,13	6,96	4,73	7,31	4,83
Lignocerová k.	C24:0	0,23	0,24	0,20	0,37	0,26	0,24	0,33	0,32	0,53	0,56	0,38	0,49	0,38	0,24	0,23
Dokosatetraenová k.	C22:4-N6	7,21	5,47	3,04	5,68	7,18	4,11	9,15	7,90	9,57	7,01	6,41	7,48	5,66	5,38	5,86
Nervonová k.	C24:1-N9	178,41	96,62	86,97	70,63	111,83	103,46	155,44	156,07	149,80	111,92	85,79	101,93	78,43	101,94	69,71
Dokosapentaenová k.	C22:5-N6	12,55	8,74	5,29	7,92	13,57	4,73	19,14	13,02	11,93	9,22	11,94	15,14	12,96	17,17	10,72
Dokosapentaenová k.	C22:5-N3	0,46	0,27	0,28	0,11	0,35	0,10	0,58	0,52	0,58	0,38	0,36	0,50	0,36	0,33	0,42
Dokosahexaenová k.	C22:6-N3	0,61	0,59	0,37	0,47	0,30	0,02	0,73	0,45	0,62	0,47	0,82	0,69	0,82	0,72	0,53
Cerotová k.	C26:0	0,15	0,10	0,05	0,05	0,07	0,03	0,12	0,16	0,12	0,13	0,12	0,15	0,18	0,22	0,25
Tetrakosatetraenová k.	C24:4-N6	0,57	1,03	0,49	0,27	0,30	0,50	0,66	0,62	0,89	0,65	0,45	0,75	0,59	0,67	0,37
Tetrakosapentaenová k.	C24:5-N6	0,85	0,83	0,46	0,53	0,46	0,30	0,96	0,68	1,01	0,52	1,19	0,97	0,57	0,57	0,58
Tetrakosapentaenová k.	C24:5-N3	0,40	0,27	0,19	0,13	0,17	0,08	0,39	0,39	0,47	0,19	0,23	0,39	0,36	0,36	0,23
Tetrakosahexaenová k.	C24:6-N3	0,37	0,35	0,22	0,42	0,31	0,26	0,46	0,42	0,58	0,43	0,51	0,61	0,43	0,54	0,84
<b>Enzym</b>		<b>Aktivita</b>														
9-desaturáza	18:1/18:0	0,85	0,69	0,63	0,66	0,69	0,61	0,74	0,71	0,45	0,58	1,03	0,79	0,52	0,60	0,86
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	1,08	0,83	0,75	0,76	0,81	0,64	1,88	2,06	1,17	1,91	1,95	1,79	1,24	1,54	1,57
elongáza x 100	18:0/16:0	38,48	43,60	43,29	37,61	40,40	39,30	44,50	51,53	46,50	45,86	33,46	40,97	40,91	44,28	37,87
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	4,39	6,11	7,06	3,47	5,22	1,76	4,67	2,81	9,51	12,32	6,17	6,10	10,69	4,22	6,12
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	6,65	6,49	5,45	8,51	5,75	15,59	14,84	14,51	11,72	7,10	5,70	7,24	6,78	5,01	4,01



**Tabulka 7:** Koncentrace MK ve fosfolipidech – steatóza

Mastná kyselina	Zkratka	1	2	3	4	5	6	7
		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
12-Methyltridekanová k.	12M-C13:0	0,56	0,51	0,55	0,22	0,24	0,32	0,54
Myristová k.	C14:0	3,32	4,79	4,77	4,23	2,14	8,44	7,00
13-Methylmyristová k.	13M-C14:0	1,99	1,98	4,00	1,11	1,94	2,96	2,26
12-Methyltetradekanová k.	12M-C14:0	0,53	0,22	0,45	0,25	0,14	0,48	1,00
Pentadekanová k.	C15:0	1,19	1,92	2,78	1,81	0,99	5,15	3,52
Palmitová k.	C16:0	173,71	257,84	330,25	408,01	271,28	573,29	436,64
Palmitolejová k. trans	9-C16:1-trans	0,58	1,00	0,85	0,43	0,31	1,42	0,49
Sapienová k.	C16:1-N10	1,91	2,49	3,89	2,93	1,67	6,21	3,51
Palmitoolejová k. cis	9-C16:1-cis	0,97	1,18	2,26	2,52	1,19	3,47	2,71
14-Methylhexandekanová k.	14M-C16:0	0,46	0,67	1,69	0,81	0,73	0,67	1,62
Heptadekanová k.	C17:0	1,37	2,99	3,64	3,52	1,99	6,10	3,68
16-Methylheptadekanová k.	16M-C17:0	0,65	0,47	1,07	1,30	6,60	10,66	1,73
Stearová k.	C18:0	78,33	137,14	162,47	203,96	114,56	256,52	143,05
Vacenová k. trans	C18:1-N7-trans	0,48	0,59	1,90	2,88	14,59	24,26	3,85
Olejová k.	C18:1-N9	22,72	36,41	80,42	80,02	49,49	106,26	75,65
Vacenová k. cis	C18:1-N7-cis	1,91	2,84	6,07	8,04	3,43	9,44	7,18
Nonadekanová k.	C19:0	1,05	1,44	1,57	0,78	1,29	2,48	1,17
Linolová k.	C18:2-N6	13,48	63,03	129,44	167,20	61,94	312,59	170,77
γ-Linolenová k.	C18:3-N6	0,27	0,35	0,58	0,96	0,89	0,44	2,07
Arachová k.	C20:0	0,81	0,88	1,17	0,19	0,32	0,80	0,50
α-Linolenová k.	C18:3-N3	0,38	0,49	0,84	3,18	0,77	1,63	1,07
Oktadekadienová k.	C18:2-9Z, 11E	1,56	3,63	7,06	4,89	3,72	7,98	7,18
Oktadekadienová k.	C18:2-10Z, 12Z	2,15	3,71	3,25	6,27	13,97	22,09	6,98
Stearidonová k.	C18:4-N3	0,94	1,33	2,78	2,32	0,83	1,41	1,08
cis-8,11,14-Eikosatrienová k.	C20:3-N6	1,09	8,08	9,82	18,46	6,92	16,32	25,65
Behenová k.	C22:0	2,60	9,17	14,02	11,55	10,17	19,31	16,12

**Tabulka 8:** Koncentrace MK ve fosfolipidech – steatóza (pokračování)

<b>Mastná kyselina</b>	<b>Zkratka</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>
		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Arachidonová k.	C20:4-N6	2,27	2,21	2,74	1,58	1,64	2,90	1,55
Eikosatetraenová k.	C20:4-N3	1,08	0,40	0,89	2,00	11,69	16,43	1,65
Eikosapentaenová k.	C20:5-N3	14,33	45,89	70,94	62,76	38,84	119,22	109,63
Lignocerová k.	C24:0	3,11	9,00	15,64	12,19	9,50	18,35	15,09
Dokosatetraenová k.	C22:4-N6	0,21	0,13	1,65	0,59	1,69	1,70	1,80
Nervonová k.	C24:1-N9	14,86	22,61	80,84	70,21	47,99	132,71	108,68
Dokosapentaenová k.	C22:5-N6	1,35	0,41	0,97	1,23	7,05	9,05	1,04
Dokosapentaenová k.	C22:5-N3	0,23	0,13	0,30	0,38	0,25	0,93	0,58
Dokosahexaenová k.	C22:6-N3	1,87	6,61	10,65	19,50	5,33	26,75	14,56
Cerotová k.	C26:0	7,16	5,11	9,52	5,70	10,34	5,61	2,92
Tetrakosatetraenová k.	C24:4-N6	2,12	6,29	12,17	8,06	7,60	9,87	4,27
Tetrakosapentaenová k.	C24:5-N6	0,87	0,64	3,95	0,91	0,79	1,34	0,55
Tetrakosapentaenová k.	C24:5-N3	1,64	1,94	4,97	1,01	1,24	2,13	0,75
Tetrakosahexaenová k.	C24:6-N3	46,32	59,84	59,77	50,13	55,71	62,11	29,15
<b>Enzym</b>		<b>Aktivita</b>						
9-desaturáza	18:1/18:0	0,29	0,27	0,50	0,39	0,43	0,41	0,53
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	0,56	0,46	0,69	0,62	0,44	0,61	0,62
elongáza x 100	18:0/16:0	45,09	53,19	49,20	49,99	42,23	44,75	32,76
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	2,09	0,27	0,28	0,09	0,24	0,18	0,06
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	8,06	12,81	7,59	11,04	11,17	5,22	15,02

**Tabulka 9:** Koncentrace MK v diacylglycerolech – zdravá kontrola

Mastná kyselina	Zkratka	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
12-Methyltridekanová k.	12M-C13:0	0,18	0,15	0,14	0,15	0,09	0,09	0,15	0,07	0,09	0,10	0,18	0,12	0,09	0,21	0,13
Myristová k.	C14:0	4,05	3,51	2,60	3,57	3,40	1,88	3,86	2,58	2,89	2,06	3,74	2,28	2,04	3,05	2,56
13-Methylmyristová k.	13M-C14:0	0,77	0,65	0,38	0,28	0,26	0,25	0,47	0,45	0,50	0,40	0,70	0,42	0,41	0,35	0,33
12-Methyltetradekanová k.	12M-C14:0	0,45	0,32	0,20	0,35	0,25	0,20	0,45	0,24	0,25	0,24	0,39	0,31	0,25	0,37	0,19
Pentadekanová k.	C15:0	1,20	1,19	0,78	0,92	0,63	0,58	1,24	0,78	0,66	0,77	1,11	0,85	0,82	1,10	1,04
Palmitová k.	C16:0	43,15	56,86	32,22	35,11	38,46	26,89	43,91	26,07	28,76	24,86	48,04	35,11	29,15	38,80	32,63
Palmitolejová k. trans	9-C16:1-trans	0,53	0,59	0,38	0,48	0,29	0,24	0,72	0,20	0,43	0,46	0,40	0,58	0,55	0,52	0,34
Sapienová k.	C16:1-N10	1,45	1,60	0,82	0,95	1,41	1,03	2,57	1,47	1,21	0,87	1,19	0,94	0,92	0,84	0,64
Palmitoolejová k. cis	9-C16:1-cis	2,30	3,77	1,71	1,92	2,49	1,58	2,59	1,49	1,16	1,60	3,37	1,83	1,72	2,00	1,88
14-Methylhexandekanová k.	14M-C16:0	0,49	0,70	0,29	0,30	0,70	0,38	0,55	0,31	0,23	0,38	0,45	0,48	0,56	0,52	0,20
Heptadekanová k.	C17:0	0,56	0,57	0,29	0,38	0,30	0,35	0,51	0,23	0,25	0,38	0,64	0,60	0,52	0,52	0,40
16-Methylheptadekanová k.	16M-C17:0	0,10	0,12	0,06	0,10	0,09	0,04	0,14	0,14	0,14	0,09	0,13	0,18	0,16	0,13	0,03
Stearová k.	C18:0	17,45	20,12	12,76	12,31	13,23	9,76	17,17	9,48	11,16	9,56	14,65	10,98	11,31	13,64	12,59
Vacenová k. trans	C18:1-N7-trans	2,54	2,86	1,75	2,48	2,13	1,31	1,90	1,15	1,00	1,26	1,74	1,48	1,65	2,98	1,46
Olejová k.	C18:1-N9	37,77	46,85	26,66	35,28	37,50	25,22	39,93	25,08	28,48	22,97	40,15	27,40	26,12	30,75	26,02
Vacenová k. cis	C18:1-N7-cis	2,57	2,36	1,25	1,83	2,09	1,66	2,37	1,40	1,49	1,25	2,26	1,65	1,35	2,10	1,08
Nonadekanová k.	C19:0	0,09	0,11	0,05	0,07	0,12	0,07	0,14	0,09	0,12	0,15	0,21	0,25	0,18	0,20	0,15
Linolová k.	C18:2-N6	14,03	15,64	9,29	9,97	10,95	8,96	11,93	7,58	10,72	10,61	11,71	11,92	10,75	12,57	9,36
γ-Linolenová k.	C18:3-N6	0,30	0,33	0,13	0,36	0,35	0,25	0,33	0,27	0,21	0,20	0,21	0,39	0,32	0,50	0,19
Arachová k.	C20:0	0,96	1,12	0,63	0,75	0,52	0,42	0,66	0,37	0,73	0,91	0,96	0,95	0,99	0,91	0,57
α-Linolenová k.	C18:3-N3	0,25	0,21	0,12	0,21	0,23	0,11	0,18	0,20	0,19	0,19	0,26	0,21	0,15	0,22	0,09
Oktadekadienová k.	C18:2-9Z, 11E	0,40	0,44	0,30	0,16	0,35	0,25	0,51	0,29	0,37	0,48	0,53	0,75	0,73	1,42	0,23
Oktadekadienová k.	C18:2-10Z, 12Z	0,23	0,11	0,10	0,19	0,26	0,22	0,17	0,16	0,22	0,35	0,37	1,02	0,56	0,31	0,08
Stearidonová k.	C18:4-N3	0,33	0,38	0,22	0,23	0,22	0,23	0,36	0,27	0,28	0,33	0,43	0,46	0,51	0,24	0,20
cis-8,11,14-Eikosatrienová k.	C20:3-N6	0,32	0,36	0,20	0,32	0,28	0,21	0,26	0,17	0,25	0,32	0,42	0,38	0,38	0,24	0,24
Behenová k.	C22:0	0,85	1,04	0,52	0,77	0,65	0,46	1,08	0,46	0,38	0,58	0,94	0,63	0,59	0,48	0,49

**Tabulka 10:** Koncentrace MK v diacylglycerolech – zdravá kontrola (pokračování)

<b>Mastná kyselina</b>	<b>Zkratka</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>
		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Arachidonová k.	C20:4-N6	2,87	3,40	2,02	3,02	2,30	1,72	2,48	1,42	1,45	2,49	3,77	2,83	1,95	2,33	1,88
Eikosatetraenová k.	C20:4-N3	0,04	0,10	0,05	0,33	0,21	0,14	0,21	0,14	0,17	0,24	0,22	0,27	0,36	0,40	0,67
Eikosapentaenová k.	C20:5-N3	3,34	5,19	2,06	2,65	4,31	1,66	2,66	2,04	2,56	2,76	5,75	3,53	3,70	3,40	1,65
Lignocerová k.	C24:0	1,37	1,27	0,78	0,97	1,05	0,76	1,18	0,84	0,75	0,96	1,12	0,97	1,04	0,88	0,69
Dokosatetraenová k.	C22:4-N6	0,01	0,02	0,02	0,02	0,06	0,02	0,04	0,02	0,04	0,05	0,02	0,14	0,04	0,11	0,03
Nervonová k.	C24:1-N9	4,90	5,37	3,24	3,16	4,87	5,02	5,68	3,50	4,06	4,09	4,36	4,11	4,94	3,45	2,67
Dokosapentaenová k.	C22:5-N6	0,14	0,12	0,05	0,12	0,07	0,04	0,13	0,08	0,06	0,11	0,15	0,15	0,16	0,18	0,05
Dokosapentaenová k.	C22:5-N3	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02	0,02	0,02	0,04	0,01	0,01
Dokosahexaenová k.	C22:6-N3	0,18	0,13	0,11	0,12	0,16	0,14	0,17	0,13	0,10	0,11	0,13	0,16	0,14	0,10	0,09
Cerotová k.	C26:0	0,33	0,33	0,21	0,19	0,28	0,21	0,32	0,18	0,25	0,29	0,28	0,42	0,33	0,16	0,20
Tetrakosatetraenová k.	C24:4-N6	0,01	0,02	0,00	0,02	0,03	0,01	0,02	0,17	0,02	0,04	0,05	0,08	0,06	0,05	0,01
Tetrakosapentaenová k.	C24:5-N6	0,04	0,07	0,01	0,05	0,03	0,01	0,03	0,02	0,01	0,06	0,09	0,10	0,09	0,10	0,02
Tetrakosapentaenová k.	C24:5-N3	0,11	0,14	0,10	0,16	0,16	0,14	0,10	0,12	0,14	0,12	0,12	0,19	0,17	0,19	0,17
Tetrakosahexaenová k.	C24:6-N3	0,40	0,31	0,27	0,28	0,29	0,30	0,31	0,36	0,32	0,35	0,38	0,41	0,40	0,40	0,52
<b>Enzym</b>		<b>Aktivita</b>														
9-desaturáza	18:1/18:0	2,17	2,33	2,09	2,87	2,83	2,59	2,33	2,65	2,55	2,40	2,74	2,50	2,31	2,25	2,07
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	5,32	6,64	5,30	5,46	6,47	5,89	5,89	5,73	4,05	6,43	7,02	5,22	5,89	5,15	5,76
elongáza x 100	18:0/16:0	40,43	35,39	39,59	35,06	34,41	36,29	39,09	36,35	38,81	38,44	30,50	31,28	38,81	35,16	38,60
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	8,89	9,35	10,03	9,49	8,13	8,03	9,36	8,49	5,71	7,83	9,03	7,43	5,18	9,61	7,92
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	2,30	2,33	2,17	3,19	2,58	2,39	2,22	2,21	2,37	2,99	3,57	3,20	3,50	1,93	2,54

**Tabulka 11:** Koncentrace MK v diacylglycerolech – steatóza

Mastná kyselina	Zkratka	1	2	3	4	5	6	7
		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
12-Methyltridekanová k.	12M-C13:0	1,69	0,97	0,36	0,52	0,33	0,25	0,70
Myristová k.	C14:0	5,51	3,67	2,73	2,91	0,85	1,86	2,46
13-Methylmyristová k.	13M-C14:0	14,93	6,68	7,72	1,36	2,15	3,34	2,68
12-Methyltetradekanová k.	12M-C14:0	0,38	0,23	0,19	0,17	0,21	0,20	1,13
Pentadekanová k.	C15:0	1,74	1,25	1,17	0,58	0,30	0,63	0,88
Palmitová k.	C16:0	76,79	45,74	58,25	68,97	28,86	60,57	56,31
Palmitolejová k. trans	9-C16:1-trans	0,35	0,15	0,12	0,22	0,07	0,10	0,13
Sapienová k.	C16:1-N10	1,71	1,01	1,10	0,15	0,25	0,13	0,40
Palmitoolejová k. cis	9-C16:1-cis	0,80	0,46	1,14	1,52	0,23	0,81	0,57
14-Methylhexandekanová k.	14M-C16:0	1,27	0,46	0,69	0,80	0,25	0,54	0,65
Heptadekanová k.	C17:0	1,38	0,81	0,79	0,49	0,27	0,57	0,69
16-Methylheptadekanová k.	16M-C17:0	3,41	1,97	3,01	0,63	1,72	9,50	2,46
Stearová k.	C18:0	65,45	35,40	32,76	29,36	17,11	27,98	25,69
Vacenová k. trans	C18:1-N7-trans	1,08	0,68	6,67	0,30	0,07	0,22	0,13
Olejová k.	C18:1-N9	4,29	2,77	25,67	28,00	3,93	17,89	9,65
Vacenová k. cis	C18:1-N7-cis	7,04	5,21	1,69	1,57	1,73	8,49	1,98
Nonadekanová k.	C19:0	2,80	2,07	1,20	0,65	0,41	0,52	0,71
Linolová k.	C18:2-N6	3,52	3,49	36,48	11,61	2,17	18,92	9,29
γ-Linolenová k.	C18:3-N6	0,72	0,35	0,30	0,20	0,38	0,17	0,30
Arachová k.	C20:0	1,93	1,22	1,18	0,58	0,79	0,46	1,88
α-Linolenová k.	C18:3-N3	1,12	0,59	0,52	0,29	0,22	0,41	0,29
Oktadekadienová k.	C18:2-9Z, 11E	3,00	3,25	3,09	1,95	1,56	4,91	2,42
Oktadekadienová k.	C18:2-10Z, 12Z	4,79	2,62	4,44	1,89	5,14	16,20	1,38
Stearidonová k.	C18:4-N3	2,72	1,69	1,01	1,15	0,71	0,40	1,32
cis-8,11,14-Eikosatrienová k.	C20:3-N6	1,65	0,86	0,52	0,54	0,56	0,98	1,56
Behenová k.	C22:0	1,42	0,72	1,40	0,66	0,45	0,73	3,19

**Tabulka 12:** Koncentrace MK v diacylglycerolech – steatóza (pokračování)

<b>Mastná kyselina</b>	<b>Zkratka</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>
		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Arachidonová k.	C20:4-N6	15,92	7,56	6,14	1,81	1,32	2,69	2,81
Eikosatetraenová k.	C20:4-N3	4,71	1,83	3,40	1,10	1,86	11,64	1,47
Eikosapentaenová k.	C20:5-N3	22,79	9,27	10,26	1,63	2,92	5,12	8,60
Lignocerová k.	C24:0	2,62	1,33	2,26	0,61	0,77	0,42	0,98
Dokosatetraenová k.	C22:4-N6	0,66	0,38	0,11	0,21	0,31	0,52	0,37
Nervonová k.	C24:1-N9	4,80	3,04	2,59	2,60	2,90	1,48	2,86
Dokosapentaenová k.	C22:5-N6	1,59	0,90	1,39	0,57	0,25	0,39	0,45
Dokosapentaenová k.	C22:5-N3	0,53	0,30	0,23	0,07	0,08	0,18	0,40
Dokosahexaenová k.	C22:6-N3	2,91	2,38	2,93	6,56	1,84	3,39	0,87
Cerotová k.	C26:0	3,51	1,46	3,36	1,25	0,63	1,29	1,14
Tetrakosatetraenová k.	C24:4-N6	4,02	2,66	7,01	16,04	5,21	2,51	1,24
Tetrakosapentaenová k.	C24:5-N6	1,54	0,79	0,60	0,69	0,95	1,08	1,15
Tetrakosapentaenová k.	C24:5-N3	27,97	34,11	49,09	25,25	5,17	0,21	1,09
Tetrakosahexaenová k.	C24:6-N3	17,19	7,79	15,48	4,77	2,53	6,25	4,67
<b>Enzym</b>		<b>Aktivita</b>						
9-desaturáza	18:1/18:0	0,07	0,08	0,78	0,95	0,23	0,64	0,38
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	1,04	1,00	1,96	2,20	0,78	1,34	1,01
elongáza x 100	18:0/16:0	85,23	77,39	56,24	42,57	59,28	46,20	45,62
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	9,67	8,80	11,73	3,34	2,37	2,75	1,81
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	46,83	24,60	1,44	4,66	25,76	5,17	16,76

**Tabulka 13:** Koncentrace MK ve volných mastných kyselinách – zdravá kontrola

Mastná kyselina	Zkratka	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
12-Methyltridekanová k.	12M-C13:0	0,81	0,48	0,12	0,22	0,17	0,50	0,74	0,31	0,71	0,99	0,80	0,67	0,80	0,77	0,34
Myristová k.	C14:0	10,58	13,77	3,81	3,86	4,24	3,79	16,38	5,86	9,26	9,34	8,03	7,44	13,08	4,79	3,26
13-Methylmyristová k.	13M-C14:0	0,11	0,21	0,11	0,11	0,13	0,10	0,22	0,14	0,44	0,28	0,43	0,35	0,42	0,38	0,26
12-Methyltetradekanová k.	12M-C14:0	0,78	1,01	0,63	0,64	0,63	0,57	1,28	0,62	1,08	0,88	0,77	0,59	0,96	0,84	0,35
Pentadekanová k.	C15:0	1,64	1,79	1,11	1,21	1,26	1,22	2,41	1,43	1,85	2,10	1,29	1,54	2,32	1,68	0,60
Palmitová k.	C16:0	114,92	178,47	51,80	74,32	63,40	78,80	204,87	94,21	135,13	135,23	168,99	88,80	170,33	103,29	66,31
Palmitolejová k. trans	9-C16:1-trans	2,48	2,47	1,15	1,23	0,81	0,72	2,90	1,75	1,99	2,55	2,75	1,50	3,01	1,85	0,92
Sapienová k.	C16:1-N10	4,10	4,19	2,11	2,33	3,02	3,66	5,01	3,92	4,61	4,12	3,60	2,42	3,75	2,66	2,21
Palmitoolejová k. cis	9-C16:1-cis	9,37	17,02	1,93	2,32	2,85	2,04	13,95	4,15	7,84	13,20	6,42	3,32	10,00	3,13	3,14
14-Methylhexandekanová k.	14M-C16:0	0,41	0,67	0,07	0,24	0,15	0,14	0,28	0,52	1,06	0,77	0,66	0,49	0,82	0,52	0,34
Heptadekanová k.	C17:0	0,91	1,48	0,46	0,61	0,64	0,48	1,21	0,81	0,87	1,11	0,92	0,47	0,64	0,75	0,38
16-Methylheptadekanová k.	16M-C17:0	0,39	0,80	0,24	0,43	0,32	0,39	0,74	0,63	0,60	0,66	0,52	0,44	0,63	0,38	0,50
Stearová k.	C18:0	36,29	51,14	23,54	29,93	26,77	32,83	58,87	39,23	43,20	42,29	58,85	35,43	68,77	38,93	25,41
Vacenová k. trans	C18:1-N7-trans	1,05	1,41	0,33	0,39	0,37	0,38	2,37	0,65	1,15	0,73	0,98	1,08	1,20	0,88	0,50
Olejová k.	C18:1-N9	171,78	241,37	35,55	85,50	59,83	49,43	211,15	59,75	153,71	107,74	239,59	79,38	192,50	145,41	75,29
Vacenová k. cis	C18:1-N7-cis	6,51	13,73	1,58	3,06	2,30	2,27	10,13	2,47	4,84	5,71	6,97	2,37	5,18	1,38	2,74
Nonadekanová k.	C19:0	0,72	0,68	0,21	0,22	0,23	0,21	0,77	0,56	1,04	0,67	0,45	0,29	0,41	0,35	0,50
Linolová k.	C18:2-N6	65,34	72,12	19,31	34,67	27,91	18,93	99,59	54,53	81,45	111,37	91,91	39,24	110,64	104,74	31,32
γ-Linolenová k.	C18:3-N6	3,93	7,62	0,46	0,35	4,68	3,10	1,10	1,75	1,63	2,92	1,31	3,79	11,66	2,92	0,86
Arachová k.	C20:0	0,94	2,32	0,85	0,91	1,03	1,21	1,69	1,23	1,23	2,67	0,98	0,99	1,20	3,24	0,69
α-Linolenová k.	C18:3-N3	4,32	4,45	1,45	2,23	1,66	3,54	6,27	2,03	3,90	4,60	3,01	3,89	4,22	2,77	2,18
Oktadekadienová k.	C18:2-9Z, 11E	10,32	16,07	8,03	6,09	5,84	6,57	29,49	6,34	28,38	15,59	8,27	4,89	8,88	13,04	9,62
Oktadekadienová k.	C18:2-10Z, 12Z	3,72	3,85	2,04	2,01	1,39	1,67	3,98	2,65	3,35	5,94	2,61	3,51	8,31	13,18	4,39
Stearidonová k.	C18:4-N3	1,19	1,99	0,98	1,04	1,03	1,26	2,49	1,68	2,80	1,60	1,18	0,82	1,14	1,60	0,67
cis-8,11,14-Eikosatrienová k.	C20:3-N6	0,57	0,44	0,23	0,37	0,42	0,57	0,84	0,54	0,75	1,15	0,81	0,29	0,76	1,13	0,45
Behenová k.	C22:0	1,45	1,47	1,68	1,66	1,73	2,49	1,13	2,01	1,75	1,75	1,81	1,45	1,45	3,13	1,53

**Tabulka 14:** Koncentrace MK ve volných mastných kyselinách – zdravá kontrola (pokračování)

<b>Mastná kyselina</b>	<b>Zkratka</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>
		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Arachidonová k.	C20:4-N6	2,27	3,05	1,84	2,52	2,99	2,31	3,95	4,46	6,56	6,53	5,80	4,72	12,19	5,01	1,95
Eikosatetraenová k.	C20:4-N3	1,22	1,51	0,73	1,03	0,67	0,83	1,89	1,72	2,16	1,68	1,05	0,90	1,58	1,37	1,11
Eikosapentaenová k.	C20:5-N3	19,26	22,41	7,56	9,72	11,04	12,37	19,97	21,99	25,83	20,51	17,07	10,17	12,49	11,98	8,02
Lignocerová k.	C24:0	0,09	0,05	0,06	0,08	0,06	0,07	0,13	0,11	0,57	0,88	0,32	0,24	0,48	0,26	0,31
Dokosatetraenová k.	C22:4-N6	0,52	0,81	0,35	0,40	0,45	0,57	0,60	0,74	1,21	0,79	0,45	0,59	1,04	1,25	0,67
Nervonová k.	C24:1-N9	4,99	6,42	2,02	3,76	1,48	3,27	4,76	3,79	5,40	3,92	2,51	1,74	3,06	1,92	1,36
Dokosapentaenová k.	C22:5-N6	0,11	0,83	0,20	0,25	0,12	0,13	0,55	0,43	0,11	1,83	1,25	1,22	1,42	1,68	0,26
Dokosapentaenová k.	C22:5-N3	0,20	0,29	0,13	0,31	0,02	0,03	0,11	0,25	0,21	0,21	0,22	0,10	0,22	0,26	0,11
Dokosahexaenová k.	C22:6-N3	0,41	0,27	0,10	0,31	0,20	0,19	0,15	0,42	0,60	0,91	0,25	0,53	1,01	2,40	0,50
Cerotová k.	C26:0	0,13	0,13	0,07	0,12	0,13	0,19	0,07	0,10	0,16	0,24	0,16	0,14	0,20	0,56	0,20
Tetrakosatetraenová k.	C24:4-N6	0,52	0,66	0,09	0,21	0,32	0,31	0,60	0,71	0,72	0,81	0,68	0,22	0,44	1,09	0,17
Tetrakosapentaenová k.	C24:5-N6	0,72	1,28	0,26	0,12	0,12	0,09	0,69	0,60	0,83	1,20	1,06	0,69	0,88	1,22	0,35
Tetrakosapentaenová k.	C24:5-N3	0,32	0,48	0,42	0,40	0,39	0,13	0,47	0,73	0,91	0,80	0,55	0,28	0,91	0,94	0,49
Tetrakosahexaenová k.	C24:6-N3	1,49	1,78	0,84	1,22	1,35	0,87	2,45	2,27	1,87	1,91	1,28	0,74	1,49	2,17	0,90
<b>Enzym</b>		<b>Aktivita</b>														
9-desaturáza	18:1/18:0	4,73	4,72	1,51	2,86	2,24	1,51	3,59	1,52	3,56	2,55	4,07	2,24	2,80	3,74	2,96
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	8,15	9,54	3,72	3,12	4,50	2,59	6,81	4,41	5,81	9,76	3,80	3,74	5,87	3,03	4,74
elongáza x 100	18:0/16:0	31,58	28,66	45,44	40,27	42,23	41,66	28,73	41,64	31,97	31,28	34,82	39,90	40,38	37,69	38,33
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	3,96	6,90	8,11	6,86	7,09	4,07	4,73	8,30	8,78	5,70	7,13	16,06	16,02	4,45	4,34
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	0,88	0,61	1,18	1,06	1,51	3,00	0,84	0,99	0,92	1,03	0,89	0,75	0,69	1,08	1,44



**Tabulka 15:** Koncentrace MK ve volných mastných kyselinách – steatóza

Mastná kyselina	Zkratka	1	2	3	4	5	6	7
		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
12-Methyltridekanová k.	12M-C13:0	0,98	2,10	0,46	6,04	0,14	0,86	0,25
Myristová k.	C14:0	13,08	23,24	3,53	19,52	4,93	11,37	19,31
13-Methylmyristová k.	13M-C14:0	51,75	71,57	13,88	229,26	29,16	51,75	42,98
12-Methyltetradekanová k.	12M-C14:0	0,29	3,84	0,76	5,00	0,23	0,69	0,49
Pentadekanová k.	C15:0	3,69	0,35	1,41	5,11	0,99	2,55	3,19
Palmitová k.	C16:0	278,41	310,04	65,50	438,96	138,11	195,95	348,39
Palmitolejová k. trans	9-C16:1-trans	2,12	2,86	0,57	2,47	0,12	1,10	0,17
Sapienová k.	C16:1-N10	6,37	7,90	2,25	11,94	4,11	3,35	4,98
Palmitoolejová k. cis	9-C16:1-cis	12,70	10,98	0,95	6,05	4,08	6,64	10,66
14-Methylhexandekanová k.	14M-C16:0	1,77	2,83	0,29	3,42	0,81	3,84	1,30
Heptadekanová k.	C17:0	3,10	4,99	1,14	5,31	1,42	1,86	3,05
16-Methylheptadekanová k.	16M-C17:0	0,85	0,56	0,20	1,55	0,21	0,28	0,71
Stearová k.	C18:0	135,93	122,72	31,30	209,99	67,80	75,63	110,10
Vacenová k. trans	C18:1-N7-trans	1,81	2,19	2,63	3,00	0,77	0,69	0,98
Olejová k.	C18:1-N9	250,71	234,91	35,85	134,42	98,00	106,15	238,03
Vacenová k. cis	C18:1-N7-cis	13,97	10,39	1,78	7,41	4,81	2,70	8,26
Nonadekanová k.	C19:0	12,03	8,42	1,56	8,08	1,49	4,08	2,28
Linolová k.	C18:2-N6	56,80	94,97	13,65	60,92	34,63	73,63	100,99
γ-Linolenová k.	C18:3-N6	1,23	4,89	0,28	10,91	1,80	3,06	2,15
Arachová k.	C20:0	5,12	13,05	0,87	3,26	0,50	0,75	0,43
α-Linolenová k.	C18:3-N3	7,22	12,85	1,15	2,20	0,85	0,75	0,89
Oktadekadienová k.	C18:2-9Z, 11E	22,55	39,49	4,50	20,85	13,69	9,16	31,62
Oktadekadienová k.	C18:2-10Z, 12Z	7,48	42,67	4,23	6,20	8,23	2,38	4,90
Stearidonová k.	C18:4-N3	3,91	15,53	0,91	5,03	0,63	1,83	1,70
cis-8,11,14-Eikosatrienová k.	C20:3-N6	1,54	6,64	0,18	2,68	0,97	0,68	0,33
Behenová k.	C22:0	3,02	7,50	0,39	9,42	0,99	1,40	0,38

**Tabulka 16:** Koncentrace MK ve volných mastných kyselinách – steatóza (pokračování)

<b>Mastná kyselina</b>	<b>Zkratka</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>
		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Arachidonová k.	C20:4-N6	16,63	20,27	4,26	40,14	3,78	9,12	5,72
Eikosatetraenová k.	C20:4-N3	5,76	5,90	0,92	3,00	0,32	0,69	0,39
Eikosapentaenová k.	C20:5-N3	6,94	16,02	0,82	21,68	8,70	10,66	5,00
Lignocerová k.	C24:0	2,54	7,51	1,13	4,50	2,22	3,34	1,23
Dokosatetraenová k.	C22:4-N6	4,14	12,32	0,94	2,13	0,66	0,81	0,56
Nervonová k.	C24:1-N9	17,49	8,31	2,27	27,06	6,35	8,75	3,26
Dokosapentaenová k.	C22:5-N6	10,00	9,92	1,39	1,77	0,44	0,43	0,34
Dokosapentaenová k.	C22:5-N3	3,00	3,65	0,56	0,82	0,42	0,34	0,12
Dokosahexaenová k.	C22:6-N3	1,27	3,25	0,25	4,63	2,87	1,59	3,42
Cerotová k.	C26:0	4,43	3,76	0,59	4,99	1,16	2,24	1,18
Tetrakosatetraenová k.	C24:4-N6	0,80	3,76	0,38	8,66	1,55	1,32	0,90
Tetrakosapentaenová k.	C24:5-N6	2,57	12,77	1,82	10,03	2,68	2,74	0,77
Tetrakosapentaenová k.	C24:5-N3	5,31	2,60	0,50	22,58	3,11	2,48	0,66
Tetrakosahexaenová k.	C24:6-N3	0,40	1,10	0,13	22,36	19,12	20,69	28,20
<b>Enzym</b>		<b>Aktivita</b>						
9-desaturáza	18:1/18:0	1,84	1,91	1,15	0,64	1,45	1,40	2,16
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	4,56	3,54	1,45	1,38	2,96	3,39	3,06
elongáza x 100	18:0/16:0	48,82	39,58	47,79	47,84	49,09	38,60	31,60
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	10,78	3,05	23,60	15,00	3,91	13,43	17,29
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	2,72	6,99	1,32	4,39	2,79	0,92	0,33

**Tabulka 17:** Koncentrace MK v triacylglycerolech – zdravá kontrola

Mastná kyselina	Zkratka	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
12-Methyltridekanová k.	12M-C13:0	0,31	0,19	0,34	0,14	0,69	0,14	0,70	0,95	0,27	0,59	0,47	0,63	0,95	0,98	1,11
Myristová k.	C14:0	13,20	8,15	21,26	3,92	9,65	5,99	8,91	33,69	12,37	7,40	6,04	15,93	12,88	26,63	15,53
13-Methylmyristová k.	13M-C14:0	1,63	1,93	1,74	2,18	1,79	0,53	1,97	7,62	1,81	1,58	1,35	1,78	2,56	2,87	2,04
12-Methyltetradekanová k.	12M-C14:0	3,53	3,94	2,28	7,51	3,57	1,42	5,96	6,52	4,35	3,35	3,30	4,02	8,26	7,94	4,02
Pentadekanová k.	C15:0	1,94	1,49	2,84	1,33	1,31	0,90	2,27	6,55	1,83	1,57	1,19	2,70	5,63	5,08	3,35
Palmitová k.	C16:0	171,41	167,73	327,08	147,41	136,18	130,31	257,18	418,64	149,34	216,85	186,24	276,47	205,48	335,11	282,83
Palmitolejová k. trans	9-C16:1-trans	2,35	2,61	1,76	1,50	2,04	1,78	1,79	2,48	1,34	2,17	1,61	3,16	2,82	5,78	3,03
Sapienová k.	C16:1-N10	9,66	13,17	8,65	6,14	12,10	3,43	7,59	9,88	5,98	7,63	6,31	8,47	7,06	19,99	5,60
Palmitolejová k. cis	9-C16:1-cis	12,63	13,22	13,33	3,41	5,01	3,71	8,93	18,27	7,56	13,35	8,15	12,15	9,04	16,83	12,07
14-Methylhexadekanová k.	14M-C16:0	0,56	0,60	0,49	0,33	0,38	0,41	0,91	1,77	0,55	0,35	0,29	0,74	0,90	1,23	0,88
Heptadekanová k.	C17:0	2,20	2,82	2,83	2,50	1,93	1,67	4,32	5,20	3,15	3,65	3,54	3,52	4,28	5,74	4,07
16-Methylheptadekanová k.	16M-C17:0	1,39	2,47	2,34	1,61	1,84	1,49	2,34	4,78	2,00	2,42	2,16	2,99	3,32	5,19	2,51
Stearová k.	C18:0	23,58	17,96	39,66	19,05	20,69	16,27	22,38	45,40	16,98	18,53	18,88	35,35	23,00	38,03	26,22
Vacenová k. trans	C18:1-N7-trans	0,29	0,15	0,37	0,09	0,13	0,17	0,36	0,49	0,30	0,36	0,47	1,02	0,64	1,24	0,88
Olejová k.	C18:1-N9	289,84	245,00	446,25	201,39	239,09	201,64	270,07	492,03	194,48	223,62	247,98	371,01	248,09	489,78	305,12
Vacenová k. cis	C18:1-N7-cis	9,34	13,17	11,55	5,80	6,32	5,34	9,15	18,26	5,57	9,32	9,77	9,26	13,22	16,02	10,73
Nonadekanová k.	C19:0	0,78	0,94	0,93	0,75	0,75	0,60	1,18	1,57	0,84	0,76	0,71	1,03	1,15	1,00	0,83
Linolová k.	C18:2-N6	124,39	98,81	226,37	117,18	106,66	123,71	144,90	300,08	106,51	142,47	111,78	175,13	174,51	238,46	165,90
γ-Linolenová k.	C18:3-N6	5,99	2,73	18,03	3,52	4,26	9,37	5,94	16,14	11,96	5,47	10,46	7,00	20,94	21,84	12,36
Arachová k.	C20:0	0,69	0,71	1,17	0,51	0,55	1,07	1,43	1,13	0,78	0,98	0,97	3,07	3,10	5,25	29,67
α-Linolenová k.	C18:3-N3	3,74	3,21	8,87	6,08	4,00	8,33	4,93	7,27	2,90	4,62	4,29	8,37	9,58	8,26	8,24
Oktadekadienová k.	C18:2-9Z, 11E	11,72	16,15	14,24	9,36	9,41	8,81	13,59	19,62	10,40	10,97	12,51	18,26	17,21	25,07	20,67
Oktadekadienová k.	C18:2-10Z, 12Z	0,47	0,32	0,41	0,30	0,51	0,47	1,08	2,75	1,07	2,19	2,63	5,44	4,58	8,29	4,44
Stearidonová k.	C18:4-N3	1,32	0,98	1,19	0,78	0,96	0,95	1,41	3,10	1,07	2,06	1,31	2,89	4,44	5,26	3,00
cis-8,11,14-Eikosatrienová k.	C20:3-N6	1,38	1,53	2,01	1,19	1,60	1,26	1,95	3,56	1,28	1,91	1,69	1,87	3,64	3,85	2,20
Behenová k.	C22:0	0,38	0,42	0,57	0,55	0,63	0,38	0,23	0,62	0,18	0,25	0,46	0,99	0,65	0,76	0,59

**Tabulka 18:** Koncentrace MK v triacylglycerolech – zdravá kontrola (pokračování)

<b>Mastná kyselina</b>	<b>Zkratka</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>
		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Arachidonová k.	C20:4-N6	6,78	6,48	18,51	6,84	6,70	7,40	8,38	16,25	9,30	13,00	11,05	7,99	18,85	14,87	8,44
Eikosatetraenová k.	C20:4-N3	0,81	0,65	0,85	0,57	0,48	0,48	0,95	1,88	0,66	1,24	2,12	1,60	2,88	2,29	1,45
Eikosapentaenová k.	C20:5-N3	20,85	19,17	26,72	23,98	22,47	15,68	27,29	44,34	17,28	30,97	17,26	46,15	40,50	51,04	24,63
Lignocerová k.	C24:0	0,10	0,10	0,21	0,21	0,23	0,21	0,37	0,31	0,16	0,48	0,33	0,39	0,43	0,40	0,34
Dokosatetraenová k.	C22:4-N6	2,43	2,48	6,85	2,54	1,89	2,02	2,57	3,98	2,26	4,48	2,60	4,97	7,82	10,82	6,57
Nervonová k.	C24:1-N9	1,18	1,06	0,96	0,72	0,59	0,41	1,11	1,77	1,15	1,45	1,50	1,99	2,02	4,88	3,01
Dokosapentaenová k.	C22:5-N6	1,44	1,25	2,23	0,46	1,28	0,89	0,83	1,08	1,09	1,44	1,05	2,45	3,11	3,16	2,31
Dokosapentaenová k.	C22:5-N3	1,04	0,90	1,30	0,83	0,92	1,07	1,87	1,11	0,78	1,08	1,37	1,52	1,68	2,09	1,26
Dokosahexaenová k.	C22:6-N3	3,09	3,61	5,90	4,23	6,09	5,25	4,40	4,82	2,61	4,24	3,22	3,71	4,72	6,87	4,07
Cerotová k.	C26:0	0,10	0,25	0,61	0,37	0,53	0,22	0,65	0,47	0,17	0,40	0,36	0,85	0,72	1,05	0,75
Tetrakosatetraenová k.	C24:4-N6	0,16	0,13	0,12	0,08	0,07	0,09	0,17	0,40	0,16	0,19	0,30	0,45	0,38	0,68	0,54
Tetrakosapentaenová k.	C24:5-N6	0,40	0,39	0,49	0,26	0,33	0,63	0,43	0,31	0,17	0,42	0,39	0,62	0,93	1,09	0,62
Tetrakosapentaenová k.	C24:5-N3	0,23	0,31	0,49	0,15	0,37	0,38	0,72	0,72	0,84	0,80	0,69	0,66	1,28	1,35	0,70
Tetrakosahexaenová k.	C24:6-N3	0,70	0,53	0,67	0,41	0,67	0,54	0,70	1,41	0,68	0,67	0,74	1,20	1,20	1,97	1,26
<b>Enzym</b>		<b>Aktivita</b>														
9-desaturáza	18:1/18:0	12,29	13,64	11,25	10,57	11,55	12,40	12,07	10,84	11,45	12,07	13,13	10,50	10,79	12,88	11,64
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	7,37	7,88	4,08	2,31	3,68	2,85	3,47	4,36	5,06	6,16	4,38	4,40	4,40	5,02	4,27
elongáza x 100	18:0/16:0	13,75	10,71	12,13	12,92	15,20	12,48	8,70	10,84	11,37	8,55	10,14	12,79	11,19	11,35	9,27
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	4,90	4,24	9,20	5,77	4,18	5,86	4,30	4,57	7,25	6,81	6,53	4,28	5,19	3,86	3,83
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	1,11	1,55	0,89	1,01	1,50	1,02	1,35	1,19	1,20	1,34	1,51	1,07	2,08	1,61	1,33

**Tabulka 19:** Koncentrace MK v triacylglycerolech – steatóza

Mastná kyselina	Zkratka	1	2	3	4	5	6	7
		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
12-Methyltridekanová k.	12M-C13:0	2,90	1,56	2,46	16,67	0,51	0,60	1,28
Myristová k.	C14:0	12,35	15,54	17,87	25,51	68,73	15,39	31,41
13-Methylmyristová k.	13M-C14:0	8,96	8,02	7,42	258,43	15,36	16,62	18,06
12-Methyltetradekanová k.	12M-C14:0	1,41	1,62	1,75	7,17	4,23	1,12	2,22
Pentadekanová k.	C15:0	2,75	2,77	3,82	9,14	6,56	3,85	6,09
Palmitová k.	C16:0	368,93	285,61	517,04	650,33	1060,59	207,64	431,44
Palmitolejová k. trans	9-C16:1-trans	2,39	0,75	1,62	5,20	2,02	0,70	0,98
Sapienová k.	C16:1-N10	10,98	8,75	18,53	103,19	25,60	5,60	10,32
Palmitoolejová k. cis	9-C16:1-cis	24,27	11,68	18,68	6,94	57,67	9,43	18,70
14-Methylhexandekanová k.	14M-C16:0	1,00	1,89	2,77	4,90	1,98	0,45	1,80
Heptadekanová k.	C17:0	2,92	2,32	4,70	13,26	8,56	1,90	4,21
16-Methylheptadekanová k.	16M-C17:0	1,38	1,74	2,99	10,22	6,72	1,64	2,34
Stearová k.	C18:0	48,93	37,11	76,15	584,86	141,51	36,14	55,36
Vacenová k. trans	C18:1-N7-trans	0,81	3,90	2,08	2,90	1,80	2,46	1,03
Olejová k.	C18:1-N9	423,86	266,45	750,88	13,68	1105,89	181,20	359,66
Vacenová k. cis	C18:1-N7-cis	22,51	11,28	33,09	98,92	60,40	9,59	19,58
Nonadekanová k.	C19:0	7,18	1,82	3,44	17,22	3,89	1,58	2,59
Linolová k.	C18:2-N6	115,63	114,03	284,69	16,83	417,37	98,21	144,30
γ-Linolenová k.	C18:3-N6	1,83	2,10	4,97	9,56	9,84	1,60	3,72
Arachová k.	C20:0	1,15	2,47	2,46	18,45	2,92	0,94	1,08
α-Linolenová k.	C18:3-N3	10,59	6,86	25,12	12,03	26,49	3,10	9,58
Oktadekadienová k.	C18:2-9Z, 11E	11,10	11,73	32,25	5,68	47,21	7,39	18,88
Oktadekadienová k.	C18:2-10Z, 12Z	4,69	4,81	4,71	32,36	4,64	3,75	3,42
Stearidonová k.	C18:4-N3	0,91	1,99	1,88	6,88	2,85	0,64	0,99
cis-8,11,14-Eikosatrienová k.	C20:3-N6	1,21	2,45	3,46	2,46	5,94	0,97	2,98
Behenová k.	C22:0	17,56	3,46	5,53	43,95	9,04	1,68	2,86

**Tabulka 20:** Koncentrace MK v triacylglycerolech – steatóza (pokračování)

<b>Mastná kyselina</b>	<b>Zkratka</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>
		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Arachidonová k.	C20:4-N6	8,02	5,80	7,96	93,04	6,92	4,71	9,51
Eikosatetraenová k.	C20:4-N3	11,26	10,40	11,80	78,98	3,71	2,86	3,69
Eikosapentaenová k.	C20:5-N3	15,19	20,34	23,26	116,42	49,62	8,54	7,80
Lignocerová k.	C24:0	0,85	0,75	2,69	3,33	3,46	0,37	0,46
Dokosatetraenová k.	C22:4-N6	3,14	1,44	3,36	10,26	4,19	1,04	2,37
Nervonová k.	C24:1-N9	15,62	8,79	11,59	128,06	4,32	3,25	3,52
Dokosapentaenová k.	C22:5-N6	2,38	1,61	1,36	11,47	1,57	0,76	0,83
Dokosapentaenová k.	C22:5-N3	0,50	0,59	0,49	3,06	0,85	0,41	0,56
Dokosahexaenová k.	C22:6-N3	3,85	3,43	7,07	7,30	6,35	1,39	2,10
Cerotová k.	C26:0	0,49	0,56	1,01	4,46	0,75	0,58	0,44
Tetrakosatetraenová k.	C24:4-N6	2,23	1,18	2,52	6,83	10,92	2,34	3,33
Tetrakosapentaenová k.	C24:5-N6	1,19	0,97	1,83	20,04	25,14	1,14	6,04
Tetrakosapentaenová k.	C24:5-N3	0,74	0,85	1,17	8,51	1,43	0,76	0,36
Tetrakosahexaenová k.	C24:6-N3	0,15	0,14	0,18	1,72	0,47	0,49	0,37
<b>Enzym</b>		<b>Aktivita</b>						
9-desaturáza	18:1/18:0	8,66	7,18	9,86	0,02	7,82	5,01	6,50
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	6,58	4,09	3,61	1,07	5,44	4,54	4,34
elongáza x 100	18:0/16:0	13,26	12,99	14,73	89,93	13,34	17,41	12,83
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	6,63	2,36	2,30	37,86	1,17	4,84	3,19
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	1,05	2,15	1,22	14,60	1,42	0,99	2,07

**Tabulka 21:** Koncentrace MK v esterech cholesterolu – zdravá kontrola

Mastná kyselina	Zkratka	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
12-Methyltridekanová k.	12M-C13:0	0,77	0,76	0,52	0,61	0,95	0,47	0,63	0,50	0,48	0,56	0,61	0,73	0,47	0,55	0,47
Myristová k.	C14:0	7,56	6,51	6,22	3,35	5,69	2,94	5,49	6,66	5,02	4,03	6,55	6,50	4,46	4,88	3,17
13-Methylmyristová k.	13M-C14:0	3,10	2,34	2,90	2,45	2,98	1,93	2,04	3,23	2,30	2,10	3,00	2,13	1,84	1,82	2,20
12-Methyltetradekanová k.	12M-C14:0	1,18	0,72	0,92	0,92	1,03	0,81	0,81	1,35	0,79	0,67	0,88	0,67	0,49	0,47	0,47
Pentadekanová k.	C15:0	2,20	1,78	2,19	1,28	1,63	1,78	1,73	1,42	1,19	1,78	1,37	1,70	1,06	1,15	0,95
Palmitová k.	C16:0	158,86	181,66	126,50	121,71	142,34	81,80	155,72	119,12	116,21	113,33	150,20	116,96	108,62	120,91	82,77
Palmitolejová k. trans	9-C16:1-trans	4,15	4,30	2,33	2,14	3,34	5,12	3,22	5,13	3,48	3,02	3,57	1,41	2,04	2,12	2,61
Sapienová k.	C16:1-N10	3,87	3,63	3,55	3,79	6,02	5,59	2,41	5,79	4,26	4,03	4,83	3,87	3,13	3,04	2,52
Palmitoolejová k. cis	9-C16:1-cis	13,38	14,05	10,53	5,02	8,63	5,13	9,94	14,47	8,34	11,18	11,53	6,26	5,07	6,37	5,52
14-Methylhexandekanová k.	14M-C16:0	0,84	0,80	0,75	0,75	0,67	0,59	0,68	0,76	0,56	0,64	0,62	0,78	0,48	0,67	0,42
Heptadekanová k.	C17:0	0,65	1,04	0,80	0,94	0,70	0,45	0,57	0,74	0,57	0,36	0,40	0,60	0,47	0,40	0,51
16-Methylheptadekanová k.	16M-C17:0	1,40	1,50	1,19	1,02	1,79	1,25	0,88	1,12	0,84	1,16	1,21	1,33	0,91	1,18	0,69
Stearová k.	C18:0	9,88	15,24	9,81	8,74	9,91	5,23	11,64	8,18	7,31	6,69	8,44	6,80	6,43	8,12	5,33
Vacenová k. trans	C18:1-N7-trans	0,68	0,42	0,30	0,36	0,25	0,28	0,29	0,33	0,21	0,25	0,27	0,35	0,30	0,23	0,31
Olejová k.	C18:1-N9	230,43	227,01	171,23	147,41	182,08	93,56	260,50	108,76	103,02	130,65	217,22	153,63	97,70	161,78	129,40
Vacenová k. cis	C18:1-N7-cis	8,63	14,17	6,06	6,06	5,80	3,87	7,25	4,80	5,88	5,69	5,79	5,58	3,65	6,02	4,11
Nonadekanová k.	C19:0	0,81	0,86	0,73	0,70	0,87	0,52	0,47	0,85	0,64	0,60	0,72	0,53	0,43	0,61	0,45
Linolová k.	C18:2-N6	611,79	586,23	412,25	516,21	522,27	239,98	533,51	442,09	384,87	263,18	577,84	443,72	388,90	441,53	360,06
γ-Linolenová k.	C18:3-N6	11,34	5,46	15,43	6,54	9,04	4,86	5,49	11,89	6,35	16,55	9,71	11,09	10,36	9,26	6,35
Arachová k.	C20:0	0,51	1,11	0,58	0,81	0,60	0,69	0,89	0,75	0,57	0,52	0,64	0,83	0,50	0,37	0,26
α-Linolenová k.	C18:3-N3	3,13	3,31	3,14	4,32	2,67	2,55	3,04	4,84	3,64	2,69	3,78	2,71	2,02	1,79	1,48
Oktadekadienová k.	C18:2-9Z, 11E	1,41	1,73	1,60	1,46	1,77	1,80	1,24	2,26	1,37	2,40	2,92	2,18	1,22	1,06	1,46
Oktadekadienová k.	C18:2-10Z, 12Z	0,67	0,84	0,66	0,59	0,60	0,96	1,04	1,78	1,25	1,21	1,29	0,81	0,81	0,86	0,74
Stearidonová k.	C18:4-N3	1,39	1,36	1,46	0,81	1,11	1,40	1,30	2,02	0,95	1,18	1,72	1,87	0,95	0,86	0,70
cis-8,11,14-Eikosatrienová k.	C20:3-N6	3,16	2,17	2,70	2,14	3,02	2,81	2,03	3,62	2,38	2,05	2,27	1,51	1,29	1,22	0,99
Behenová k.	C22:0	0,88	0,95	0,83	0,87	0,83	0,74	0,95	0,72	1,04	0,96	1,67	0,97	0,39	0,42	0,56

**Tabulka 22:** Koncentrace MK v esterech cholesterolu – zdravá kontrola

<b>Mastná kyselina</b>	<b>Zkratka</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>
		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Arachidonová k.	C20:4-N6	40,94	58,41	55,29	48,99	48,19	17,87	49,55	38,79	54,64	66,54	44,74	51,05	74,68	54,13	20,04
Eikosatetraenová k.	C20:4-N3	1,59	1,84	1,41	1,21	1,14	0,92	1,83	2,35	1,33	1,89	2,19	1,55	1,37	0,93	0,77
Eikosapentaenová k.	C20:5-N3	72,58	75,07	61,89	66,46	69,24	59,18	57,51	81,39	57,63	56,14	55,33	42,93	40,10	41,47	39,75
Lignocerová k.	C24:0	0,21	0,30	0,31	0,24	0,27	0,17	0,25	0,33	0,30	0,21	0,31	0,38	0,17	0,20	0,16
Dokosatetraenová k.	C22:4-N6	0,40	0,63	0,58	0,54	1,17	0,35	0,56	0,73	0,58	0,75	1,01	1,08	0,39	0,44	0,60
Nervonová k.	C24:1-N9	3,52	4,65	3,53	3,59	3,70	2,27	2,81	4,84	3,38	2,64	3,78	4,00	3,36	3,22	1,98
Dokosapentaenová k.	C22:5-N6	0,64	0,46	0,73	0,74	0,82	0,51	0,55	0,80	0,63	0,56	0,80	0,62	0,44	0,47	0,52
Dokosapentaenová k.	C22:5-N3	0,32	0,31	0,24	0,31	0,39	0,18	0,22	0,28	0,26	0,30	0,32	0,32	0,26	0,30	0,23
Dokosahexaenová k.	C22:6-N3	0,23	0,25	0,26	0,20	0,27	0,16	0,18	0,37	0,28	0,25	0,33	0,48	0,31	0,31	0,24
Cerotová k.	C26:0	0,22	0,26	0,31	0,31	0,54	0,12	0,41	0,48	0,44	0,28	0,31	0,54	0,26	0,24	0,33
Tetrakosatetraenová k.	C24:4-N6	0,29	0,38	0,40	0,39	0,33	0,23	0,28	0,66	0,44	0,44	0,49	0,46	0,30	0,32	0,28
Tetrakosapentaenová k.	C24:5-N6	0,21	0,23	0,51	0,34	0,38	0,15	0,32	0,77	0,51	0,38	0,53	0,55	0,32	0,30	0,24
Tetrakosapentaenová k.	C24:5-N3	0,72	0,95	0,83	0,74	0,86	0,50	0,68	0,84	0,58	0,68	0,93	0,55	0,34	0,26	0,49
Tetrakosahexaenová k.	C24:6-N3	0,96	0,84	0,78	0,80	1,10	0,64	0,71	0,75	0,62	0,77	0,86	0,59	0,48	0,40	0,57
<b>Enzym</b>		<b>Aktivita</b>														
9-desaturáza	18:1/18:0	23,33	14,89	17,45	16,87	18,37	17,88	22,39	13,30	14,09	19,54	25,73	22,59	15,19	19,92	24,30
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	8,42	7,74	8,32	4,12	6,06	6,27	6,38	12,15	7,18	9,87	7,68	5,35	4,66	5,27	6,67
elongáza x 100	18:0/16:0	6,22	8,39	7,76	7,18	6,96	6,40	7,47	6,87	6,29	5,90	5,62	5,82	5,92	6,72	6,43
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	12,94	26,90	20,45	22,87	15,94	6,36	24,36	10,71	22,92	32,50	19,72	33,75	58,11	44,39	20,32
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	0,52	0,37	0,66	0,42	0,58	1,17	0,38	0,82	0,62	0,78	0,39	0,34	0,33	0,28	0,27



**Tabulka 23:** Koncentrace MK v esterech cholesterolu – steatóza

Mastná kyselina	Zkratka	1	2	3	4	5	6	7
		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
12-Methyltridekanová k.	12M-C13:0	2,35	1,41	1,27	0,57	0,48	0,38	0,48
Myristová k.	C14:0	4,82	8,63	8,29	5,34	15,11	14,70	13,64
13-Methylmyristová k.	13M-C14:0	22,17	19,38	15,74	20,45	9,81	6,32	9,36
12-Methyltetradekanová k.	12M-C14:0	1,88	0,97	0,81	2,19	1,41	0,65	0,67
Pentadekanová k.	C15:0	2,00	0,83	0,78	0,59	3,04	4,57	0,27
Palmitová k.	C16:0	76,23	143,41	160,62	65,90	271,06	260,36	214,41
Palmitolejová k. trans	9-C16:1-trans	2,83	3,62	2,95	0,75	5,26	4,26	3,60
Sapienová k.	C16:1-N10	35,39	42,84	36,78	33,35	82,57	51,76	54,96
Palmitoolejová k. cis	9-C16:1-cis	0,45	0,55	0,52	0,58	0,94	0,67	0,42
14-Methylhexandekanová k.	14M-C16:0	12,15	9,39	7,16	10,81	7,99	4,45	5,52
Heptadekanová k.	C17:0	15,95	10,95	9,38	13,43	9,60	5,07	6,08
16-Methylheptadekanová k.	16M-C17:0	13,17	9,50	4,63	12,11	7,47	3,77	6,34
Stearová k.	C18:0	4,61	2,08	1,74	4,94	2,16	0,83	0,95
Vacenová k. trans	C18:1-N7-trans	0,34	0,23	0,75	0,93	1,14	0,42	1,11
Olejová k.	C18:1-N9	74,42	162,38	199,63	10,78	320,93	256,54	186,28
Vacenová k. cis	C18:1-N7-cis	4,48	5,27	9,26	2,28	16,78	13,87	10,71
Nonadekanová k.	C19:0	8,10	3,61	3,67	6,55	2,79	0,99	1,20
Linolová k.	C18:2-N6	83,81	438,32	446,24	5,78	756,15	870,16	565,57
γ-Linolenová k.	C18:3-N6	1,41	0,83	1,18	2,07	15,73	11,34	9,32
Arachová k.	C20:0	0,79	0,66	0,67	0,68	1,33	1,08	0,78
α-Linolenová k.	C18:3-N3	1,67	5,55	4,57	3,07	8,13	4,38	4,75
Oktadekadienová k.	C18:2-9Z, 11E	8,68	10,91	11,47	4,32	4,89	2,95	3,42
Oktadekadienová k.	C18:2-10Z, 12Z	2,03	2,15	2,65	5,36	5,03	1,74	1,19
Stearidonová k.	C18:4-N3	1,64	1,37	1,85	3,06	1,44	0,50	0,65
cis-8,11,14-Eikosatrienová k.	C20:3-N6	1,24	5,22	4,69	0,80	0,25	0,78	0,21
Behenová k.	C22:0	3,76	3,50	3,24	7,79	2,47	1,97	2,06

**Tabulka 24:** Koncentrace MK v esterech cholesterolu – steatóza (pokračování)

<b>Mastná kyselina</b>	<b>Zkratka</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>
		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Arachidonová k.	C20:4-N6	1,56	0,88	1,69	2,80	1,27	0,86	1,17
Eikosatetraenová k.	C20:4-N3	1,61	0,87	0,98	2,28	1,03	0,73	0,50
Eikosapentaenová k.	C20:5-N3	13,95	6,30	13,96	16,83	5,60	2,03	3,76
Lignocerová k.	C24:0	2,84	0,70	0,41	13,81	2,05	0,52	0,67
Dokosatetraenová k.	C22:4-N6	2,66	2,00	1,61	1,48	1,66	1,00	1,21
Nervonová k.	C24:1-N9	5,40	4,49	3,55	7,12	4,11	2,68	3,64
Dokosapentaenová k.	C22:5-N6	1,30	1,12	3,57	6,40	1,42	1,23	1,15
Dokosapentaenová k.	C22:5-N3	0,57	0,34	0,36	0,55	0,18	0,30	0,15
Dokosahexaenová k.	C22:6-N3	3,56	6,96	13,43	1,25	24,39	0,48	0,42
Cerotová k.	C26:0	0,49	0,36	0,44	0,38	2,93	0,65	0,60
Tetrakosatetraenová k.	C24:4-N6	1,87	4,62	11,16	0,73	0,78	0,40	0,25
Tetrakosapentaenová k.	C24:5-N6	1,10	1,20	2,02	2,82	0,94	1,38	0,68
Tetrakosapentaenová k.	C24:5-N3	0,70	0,48	0,83	1,46	0,51	0,55	0,41
Tetrakosahexaenová k.	C24:6-N3	2,00	1,73	3,75	2,17	0,65	1,26	0,58
<b>Enzym</b>		<b>Aktivita</b>						
9-desaturáza	18:1/18:0	16,16	78,11	114,74	2,18	148,66	310,53	196,73
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	0,59	0,39	0,33	0,88	0,35	0,26	0,19
elongáza x 100	18:0/16:0	6,04	1,45	1,08	7,50	0,80	0,32	0,44
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	1,25	0,17	0,36	3,48	5,19	1,11	5,69
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	1,49	1,19	1,05	13,92	0,03	0,09	0,04