

**UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

2011

Bc. Tomáš Čermák

**Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická**

Stanovení vyšších mastných kyselin v EDTA plazmě diabetiků

Bc. Tomáš Čermák

**Diplomová práce
2011**

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2010/2011

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Tomáš ČERMÁK**
Osobní číslo: **C09828**
Studijní program: **N3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Analýza biologických materiálů**
Název tématu: **Stanovení vyšších mastných kyselin v EDTA plazmě diabetiků**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Teoretická část:

1. Vypracujte literární rešerši se zaměřením na lipidový metabolismus diabetiků.
2. Popište metodiku stanovení významných lipidů a mastných kyselin pro diagnostiku diabetu.

Praktická část:

1. U diabetiků se středním a těžkým postižením 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 a stanovte jejich koncentrace.
2. Stanovte obsah nasycených a nenasycených mastných kyselin ve všech třídách lipidů pomocí plynové chromatografie.
3. Vypočtete koncentrace mastných kyselin ve všech třídách lipidů u diabetiků a kontrolní skupiny a vypracujte jejich závislost na krevních parametrech.
4. Proveďte statistické vyhodnocení výsledků a diskutujte jejich použitelnost pro diagnostické účely.

Rozsah grafických prací:
Rozsah pracovní zprávy:
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**
Seznam odborné literatury:

Podle pokynů vedoucího diplomové práce.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Alexander Čegan, CSc.**
Katedra biologických a biochemických věd
Konzultant diplomové práce: **MUDr. Vladimíra Mužáková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání diplomové práce: **1. října 2010**
Termín odevzdání diplomové práce: **6. května 2011**


prof. Ing. Petr Lošťák, DrSc.
děkan

L.S.


doc. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2011

Prohlášení autora

Prohlašuji:

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

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

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 3. 5. 2011

Tomáš Čermák

Tímto bych rád poděkoval panu doc. Ing. Alexandru Čeganovi, CSC. za poskytnutou literaturu, cenné odborné rady a za jeho čas, který mi věnoval při řešení této diplomové práce.

Děkuji paní MUDr. Vladimíře Mužákové, Ph.D. za její vstřícnost a také bych rád poděkoval své rodině za podporu během mého studia.

ABSTRAKT

Pro narůstající prevalenci je nezbytné hledat lepší biomarkery včasné diagnostiky diabetes mellitus 2. typu. Tato práce zkoumá závislosti složení mastných kyselin v jednotlivých lipidových frakcích plazmy a krevních markerů lipidového a sacharidového metabolismu.

Vzorky krevní plasmy byly zpracovány preparativní metodou tenkovrstvé chromatografie (TLC) a kapilární plynovou chromatografií. TLC slouží k rozdělení lipidů do jednotlivých frakcí. Hodnoty obsahu mastných kyselin byly zjištěny pomocí plynové chromatografie.

U studovaných léčených diabetiků nebyla prokázána zvýšená hladina mastných kyselin, pravděpodobně pro snížení jejich obsahu účinnou léčbou antidiabetiky. Byl prokázán inhibiční vliv na enzymy lipidového metabolismu. **K nejvyššímu snížení došlo u $\Delta 6$ -desaturasy. Snížení obsahu polynenasycených mastných kyselin je zcela zřetelné. Tyto výsledky budou dále studovány a diskutovány.**

Klíčová slova: diabetes mellitus, mastné kyseliny, lipidový metabolismus, glykovaný hemoglobin, plynová chromatografie, desaturasa

ABSTRACT

There is a need to improve biomarkers that can be used for early diagnosis of Type II Diabetes mellitus. This work investigates a relationship between composition of fatty acids in classes of plasma lipids and classical markers of lipids and carbohydrates metabolism.

Samples of blood plasma were analysed by thin-layer chromatography and gas chromatography. Preparative thin-layer chromatography is used to separate classes of plasma lipids. The capillary gas chromatography is used to ascertain the concentration of physiological fatty acids.

There was no evidence of increased level of fatty acids with the study Diabetics. It is said that medical treatment has a considerable influence on the values of fatty acids. However, there was evidence of an inhibitory effect on enzymes relating to lipid metabolism. **The highest decrease enzyme occurred with $\Delta 6$ -desaturase. Decreasing concentration of polyunsaturated fatty acids is very significant. These results will be studied and discussed hereafter.**

Key words: diabetes mellitus, fatty acids, lipid metabolism, glycosidic hemoglobin, gas chromatography, desaturase

Obsah

1. Úvod	8
2. Cíle práce	9
3. Teoretická část	10
3.1. Játra	10
3.1.1. Fyziologie jater	10
3.1.2. Funkce jater	11
3.2. Lipidy	12
3.2.1. Klasifikace fyziologicky významných lipidů	12
3.2.1.1. Fosfolipidy (PL)	12
3.2.1.2. Triacylglyceroly (TAG)	12
3.2.1.3. Mastné kyseliny (MK)	13
3.2.1.3.1 Biosyntéza MK	14
3.2.1.3.2 Degradace MK	14
3.2.1.4. Cholesterol	15
3.2.2. Lipoproteiny	15
3.2.2.1. Klasifikace lipoproteinů	15
3.2.2.2. Lipoproteinový metabolismus	16
3.3. Langerhansovy ostrůvky pankreatu a význam jejich hormonů	18
3.3.1. Inzulin	18
3.3.1.1. Vliv inzulínu na energetický metabolismus	19
3.3.1.1.1. Inzulin a glukóza	19
3.3.1.1.2. Inzulin a lipidy	19
3.3.2. Glukagon	20
3.4. Diabetes mellitus	20
3.4.1. Diabetes mellitus 1. typu	20
3.4.2. Diabetes mellitus 2. typu	21
3.4.2.1. Inzulinová rezistence	22
3.4.2.1.1. Spojení IR VMK	22
3.4.2.2. Poruchy lipidového metabolismu u diabetiků	23
3.4.2.2.1. Zvýšení TAG a změny metabolismu VLDL	24
3.4.2.2.2. Snížení HDL cholesterolu a změny složení HDL	24

3.4.2.2.3. Používané analyty v diagnostice diabetu	24
3.4.2.2.3.1. Stanovení glukózy – glykémie	24
3.4.2.2.3.2. Glykemický profil	25
3.4.2.2.3.3. Glykovaný hemoglobin	25
3.4.2.2.3.4. Další metody používané v diabetologii	25
3.5. Chromatografie	25
3.5.1. Rozdělení chromatografických metod	25
3.5.2. TLC	26
3.5.2.1. Obecný postup TLC	26
3.5.3. Plynová chromatografie	28
3.5.3.1. Detektory v plynové chromatografii	28
3.5.3.2. Metody plynové chromatografie	30
4. Experimentální část	31
4.1. Analyzované vzorky	31
4.2. Přístrojové vybavení pro TLC a GC	31
4.3. Chemikálie a další používaný materiál	32
4.4. Pracovní postupy TLC	34
4.4.1. Extrakce lipidů	34
4.4.2. Rozdělení lipidů na tenké vrstvě	34
4.4.2.1. Příprava mobilní fáze	34
4.4.2.2. Příprava chromatografické desky	34
4.4.2.3. Vlastní chromatografie	34
4.4.2.4. Příprava roztoku kyseliny fosfomolybdenové	35
4.4.2.5. Stanovení koncentrace jednotlivých složek lipidů	35
4.5. Pracovní postup GC	35
4.5.1. Postup derivatizace	36
4.5.2. Vlastní plynová chromatografie	36
5. Výsledky	37
5.1. Plynová chromatografie	37
5.1.1. Vícerozměrné průzkumové techniky	37
5.1.1.1. Fosfolipidová frakce	37
5.1.1.1.1. Interpretace grafického zobrazení dat	40
5.1.1.2. Diacylglyceroly	41
5.1.1.2.1. Interpretace grafického zobrazení dat	43

5.1.1.3. Volné mastné kyseliny	44
5.1.1.3.1. Interpretace grafického zobrazení dat	46
5.1.1.4. Triacylglyceroly	47
5.1.1.4.1. Interpretace grafického zobrazení dat	49
5.1.1.5. Frakce esterů cholesterolu	50
5.1.1.5.1. Interpretace grafického zobrazení dat	52
5.1.2. 2D grafy – obsah jednotlivých MK v závislosti na st. onemocnění	53
5.1.2.1. Fosfolipidy	53
5.1.2.2. Diacylglyceroly	54
5.1.2.1. Volné mastné kyseliny	55
5.1.2.1. Triacylglyceroly	56
5.1.2.1. Estery cholesterolu	57
5.1.3. 2D grafy – aktivity desaturas a elongasy	58
6. Diskuze	60
7. Závěr	63
8. Literatura	64
9. Přílohy	66
9.1. Tabulky získaných dat	66
9.2. Seznam obrázků a tabulek	87
9.2.1. Seznam obrázků	87
9.2.2. Seznam tabulek	88
9.2.3. Seznam zkratk	89

1. Úvod

Diabetes mellitus je závažné metabolické onemocnění, jehož prevalence se ve středoevropské populaci stále zvyšuje. Až třetina nemocných zůstává nediodnostikována a v době záchytu onemocnění má nejméně 20 % diabetiků prokazatelné mikro- a makrovaskulární komplikace. Naprostá většina diabetiků trpí onemocněním 2. typu. (Racek, 2006). Toto onemocnění je charakteristické nejen zvýšenou glykemií a glykovaným hemoglobinem, ale i rozvratem lipidového metabolismu a jeho veškerými následky. Dyslipidemie je charakteristická zvýšením obsahu cytotoxických nasycených mastných kyselin, které prohlubují inzulinovou rezistenci, způsobují zánik β -buněk pankreatu a mají také prozánětlivé účinky.

Je tedy zřejmé, že je nutné hledat markery včasné diagnostiky diabetes mellitus typu 2 a detailně studovat patogenetické mechanismy tohoto onemocnění, čímž se také zabývá tato studie.

2. Cíle práce

Cílem této práce je stanovit obsah nasycených a nenasycených mastných kyselin ve všech třídách lipidů pomocí plynové chromatografie. Dále je třeba stanovit koncentrace mastných kyselin ve všech třídách lipidů u diabetiků a kontrolní skupiny a vypracovat jejich závislost na krevních parametrech. Na závěr provést statistické vyhodnocení výsledků a diskutovat jejich použitelnost pro diagnostické účely.

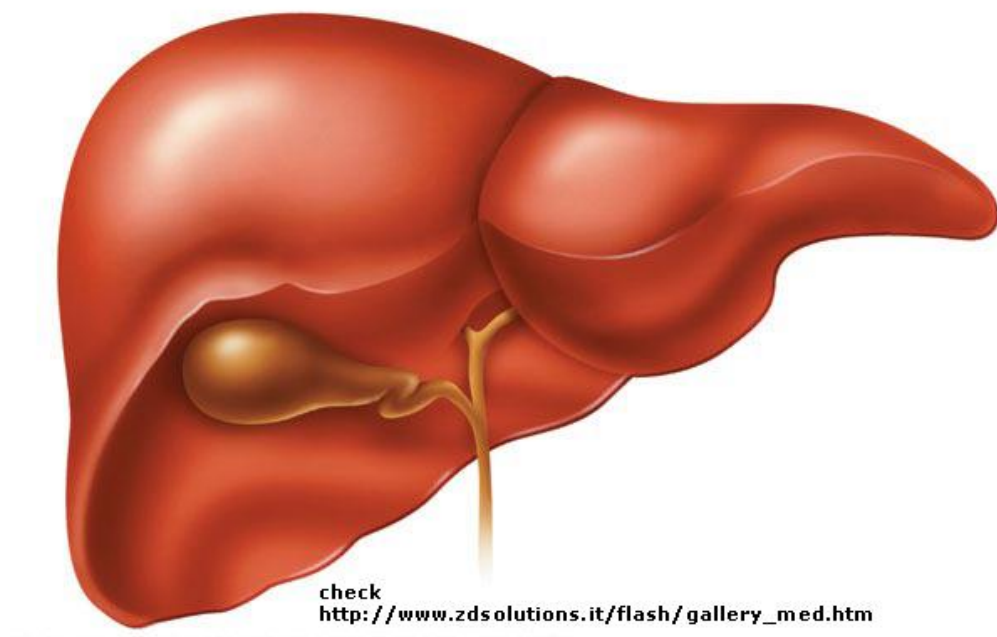
3. Teoretická část

3.1. Játra

Játra jsou orgánem, který zásadně ovlivňuje metabolické pochody v lidském organismu včetně metabolismu lipidů, lipoproteinů a metabolismu glukózy.

3.1.1. Fyziologie jater

Játra o hmotnosti okolo 1,5 kg jsou největší žlázou lidského těla. Játra se řadí k trávicímu ústrojí. Na játrech se rozlišuje větší pravý a menší levý lalok. Na viscerální straně jsou patrné ještě další dva laloky, které odděluje *porta hepatis*, kterou do jater vstupují portální žíla, jaterní tepna a vystupuje žlučovod. Histologicky jsou játra složena z malých jaterních lalůčků, jejichž základem jsou jaterní buňky (hepatocyty). Mezi hepatocyty vznikají primární žlučovody, které se postupně spojují ve větší. K ostatním buňkám v játrech patří Kupferovy buňky, Itovy buňky (HSC), pit buňky. V prostorech mezi lalůčky je vazivo (Vokurka a kol., 2008).



Obr. 3.1 Játra

Zdroj: http://www.zdsolutions.it/flash/gallery_med.htm

3.1.2. Funkce jater

1. Produkce žluči v množství 600 ml za den. Žluč má zásadní význam pro vstřebávání tuků a vitaminů rozpustných v tucích.
2. Játra mají detoxikační funkci, tj. toxické látky jsou v játrech konjugovány např. s kyselinou sírovou nebo kyselinou glukuronovou. Sem patří rovněž schopnost jater inaktivovat některé hormony (např. inzulin). V játrech přítomné Kupferovy buňky vykazují fagocytární aktivitu.
3. Vysoká metabolická aktivita jaterní tkáně má za následek, že játra považujeme za důležitý orgán produkující teplo. Krev vytékající z jater má nejvyšší teplotu v lidském těle (39°C).
4. Játra slouží jako významný rezervoár pro řadu látek. Ve formě feritinu je v játrech skladováno železo. Jaterní glykogen slouží jako rychlá energetická rezerva.
5. V játrech se uskutečňuje tvorba močoviny ornitinovým cyklem.
6. V jaterní tkáni se za 24 hodin nasyntetizuje přibližně 50 g plasmatických bílkovin. Játra mají tedy zásadní význam pro udržení onkotického tlaku.
7. V játrech jsou syntetizovány faktory významné pro hemokoagulaci.
8. Játra produkují angiotenzinogen.
9. Játra mají významnou glukostatickou funkci a zasahují do sacharidového metabolismu (Trojan a kol., 2003). V případě nadbytku glukózy v krvi dochází v játrech k vyššímu vychytávání glukózy, zároveň je stimulována syntéza a uskladnění glykogenu, vyšší aktivitu vykazuje také glykolýza a lipogeneze. Naopak při poklesu glykemie játra udržují přiměřenou hladinu glukózy v krvi pomocí glykogenolýzy a glukoneogeneze. Metabolismus glukózy v játrech je regulován přítomností hormonů (inzulin, glukagon, katecholaminy, glukokortikoidy) a koncentrací substrátu, uplatňuje se také nervová regulace (Ehrmann a kol., 2010).
10. V jaterní tkáni jsou produkovány lipoproteiny typu VLDL a HDL, probíhá zde desaturace a elongace mastných kyselin a játra se podílejí zásadním způsobem na metabolismu cholesterolu (Trojan a kol., 2003).

3.2. Lipidy

Lipidy jsou strukturně heterogenní skupina biologicky velmi významných látek, jejichž základní vlastností je určitá míra rozpustnosti v nepolárních rozpouštědlech. Lipidy jsou součástí buněk rostlin i živočichů, jsou funkční součástí buněčných struktur, významným zdrojem i rezervoárem energie pro organismy. K lipidům patří jednoduché organické molekuly, ale i složité, velké molekuly skládající se také z nelipidových částí. Je proto poměrně obtížné lipidy jednoduše definovat. Velmi obecně lze říci, že lipidy jsou estery, nebo jiné deriváty mastných kyselin. Tato definice nezahrnuje všechny typy (třídy lipidů), (Matouš a kol., 2010). Ve vodném prostředí (v krevní plazmě) jsou lipidy transportovány ve formě lipoproteinových částic.

3.2.1. Klasifikace fyziologicky významných lipidů

3.2.1.1. Fosfolipidy (PL)

Deriváty glycerol-3-fosforečné kyseliny, jsou významnou skupinou lipidů obsahující glycerol. Esterifikací volných hydroxylových skupin na 1. a 2. uhlíku této kyseliny vzniká 1,2-diacylglycerol-3-fosforečná kyselina – kyselina fosfatidová.

Fosfolipidy lze rozdělit podle charakteru substituentu esterově vázaného na kyselinu fosforečnou (Matouš a kol., 2010). Fosfátová skupina vytváří polární (hydrofilní) část, která umožňuje vazbu s bílkovinami a rozpustnost fosfolipidů ve vodném prostředí. Hydrofobní část tvořená řetězcem mastných kyselin umožňuje vytvářet komplexy s apolárními sloučeninami. Díky této amfipatické struktuře mají fosfolipidy nezastupitelnou úlohu ve stavbě buněčných membrán a lipoproteinů. Mezi nejvýznamnější fosfolipidy se řadí fosfatidylcholin (lecitiny), fosfatidylinositoly, sfingomyeliny, plazmalogeny, fosfatidylserin a fosfatidyletanolamin (Holeček, 2006).

3.2.1.2. Triacylglyceroly (TAG)

Nejrozšířenější skupinou lipidů obsahujících glycerol jsou triacylglyceroly, patřící do skupiny neutrálních tuků. TAG jsou estery mastných kyselin a glycerolu. Jednotlivé TAG mohou mít všechny tři mastné kyseliny stejné, nebo rozdílné. Prakticky všechny TAG jsou nerozpustné ve vodě a dobře rozpustné v organických rozpouštědlech. Měrná hmotnost TAG je obecně nižší než měrná hmotnost vody.

Přítomnost nenasyčených mastných kyselin v molekule TAG působí snížení bodu tání. TAG nemají náboj a jsou neutrální.

Lidský tuk je při tělesné teplotě kapalný, obsahuje převážně kyselinu palmitovou, stearovou a olejovou a v menší míře i kyselinu linolovou, linolenovou a arachidonovou. U zdravého člověka tvoří triacylglyceroly přibližně 15% jeho celkové hmotnosti. TAG, resp. mastné kyseliny v nich obsažené jsou nejvýznamnějším zdrojem energie a v buňkách tukové tkáně významným rezervoárem energie (Matouš a kol., 2010).

3.2.1.3. Mastné kyseliny (MK)

Mastné kyseliny se vyskytují hlavně jako estery v přírodních tucích a olejích, ale mohou se vyskytovat i v neesterifikované podobě jako volné mastné kyseliny, které jsou transportní formou přítomnou v krevní plazmě. Mastné kyseliny v přírodních tucích mají zpravidla nevětvený řetězec obsahující sudý počet uhlíkových atomů, protože jsou syntetizovány z dvouuhlíkových jednotek. Řetězec může být buď nasycený (neobsahující žádné dvojné vazby) nebo nenasyčený (obsahující jednu či více dvojných vazeb).

Fyzikální a fyziologické vlastnosti mastných kyselin jsou ovlivněny délkou řetězce a stupněm nenasyčenosti. Body tání mastných kyselin se sudým počtem uhlíků se zvyšují s délkou řetězce a klesají s přibývajícím počtem dvojných vazeb. Přírodní TAG obsahují takovou směs MK, která vyhovuje jejich funkci v organismu (Murray, 2002).

V lidském organismu převládají mastné kyseliny s 16 až 18 atomy C, palmitová, olejová, linolová a stearová kyselina. Kyselina linolová a linolenová jsou pro lidský organismus esenciální. Kyselina linolová je prekurzorem pro kyselinu arachidonovou, která je substrátem pro syntézu prostaglandinů. Kyselina linolenová je prekurzorem pro vznik ostatních ω -3 mastných kyselin důležitých pro růst a vývoj (Champe a kol., 2005).

Mastné kyseliny s méně než 14 nebo více než s 20 uhlíkovými atomy nejsou běžné. Více než polovina mastných kyselin v lidském těle jsou nenasyčené a většinou jsou několikanásobně nenasyčené (Voet, Voetová, 1995).

3.2.1.3.1. Biosyntéza MK

Velký podíl mastných kyselin potřebných pro tělo je získán potravou. Cukry, proteiny a ostatní molekuly získávané potravou mohou být konvertovány na mastné kyseliny, které jsou ukládány ve formě TAG. U lidí dochází k syntéze mastných kyselin primárně v játrech a v menší míře v tukové tkáni.

Jak již bylo řečeno, mastné kyseliny vznikají inkorporací dvouuhlíkových jednotek do rostoucího řetězce mastné kyseliny. Tento proces využívá ATP a redukci NADPH a je řízen synthasou mastných kyselin.

Primárním konečným produktem synthasy mastných kyselin je šestnácti uhlíková plně satureovaná mastná kyselina palmitová. Tato kyselina může být dále elongována adicí dvouuhlíkových jednotek v endoplazmatickém retikulu a mitochondriích (Champe a kol., 2005). Tento pochod je katalyzován systémem enzymů nazývaným elongasa mastných kyselin.

Biosyntéza nenasycených mastných kyselin je u člověka limitována. Proces desaturace probíhá na membránách endoplazmatického retikula a je katalyzován čtyřmi specifickými **acyl-CoA-desaturasami**, což jsou nehemové enzymy obsahující železo. Tyto desaturasy vytvářejí dvojnou vazbu v poloze C4, C5, C6 a C9. Rozeznáváme tak Δ^4 , Δ^5 , Δ^6 a Δ^9 – desaturasy. Tento desaturasový systém u člověka může realizovat dvojnou vazbu pouze v poloze 7 a 9 a tvořit tak ω^7 a ω^9 mastné kyseliny a není schopen vytvářet kyselinu linolovou (ω^6) a linolenovou (ω^3), které musí být dodány potravou.

Syntéza monoenoových mastných kyselin probíhá nejvýznamněji v játrech, Δ^9 desaturázový enzymatický systém je lokalizován na endoplazmatickém retikulu a katalyzuje přeměnu palmitoyl-CoA nebo stearoyl-CoA na palmitoyl-CoA a oleoyl-CoA (Matouš a kol., 2010).

3.2.1.3.2. Degradace MK

Mastné kyseliny jsou z TAG odbourávány pomocí lipáz. MK jsou dále degradovány β -oxidací, kdy je získána energie.

Koncentraci mastných kyselin v krvi reguluje hormon senzitivní lipáza, která štěpí TAG v tukové tkáni. Aktivita hormon senzitivní lipasy je ovlivněna glukagonem, který ji nepřímo stimuluje a dále všemi hyperglykemizujícími hormony. Zvyšuje tedy uvolňování mastných kyselin do krve. Inzulin má opačnou funkci, inaktivuje hormon-

senzitivní lipasu (Hames, Hooper, 2005). Mechanismy působení těchto hormonů budou zmíněny v kapitole 3.3.

3.2.1.4. Cholesterol

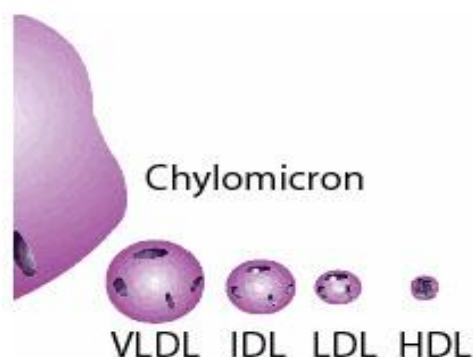
Cholesterol je jednou ze základních strukturálních komponent lipoproteinů a buněčných membrán a prekurzorem steroidních hormonů a žlučových kyselin. V potravě se vyskytuje pouze v potravinách živočišného původu, například ve vejcích, játrech a mléce. V organismu se vyskytuje jako volný, nebo ve formě esterů s mastnými kyselinami. Volný cholesterol je amfipatický – polární charakter má hydroxylová skupina. Esterifikovaný cholesterol je hydrofobní. Z tohoto důvodu se esterifikovaný cholesterol nachází uvnitř lipoproteinových částic, zatímco neesterifikovaný na jejich povrchu (Holeček, 2006).

3.2.2. Lipoproteiny

3.2.2.1. Klasifikace lipoproteinů

Lipidy jakožto látky ve vodě nerozpustné jsou v plazmě, tedy ve vodném prostředí, transportovány pomocí vazby na bílkoviny. Takto vzniklé částice se nazývají lipoproteiny (Racek a kol., 2006). Tyto částice jsou rozděleny podle hustoty:

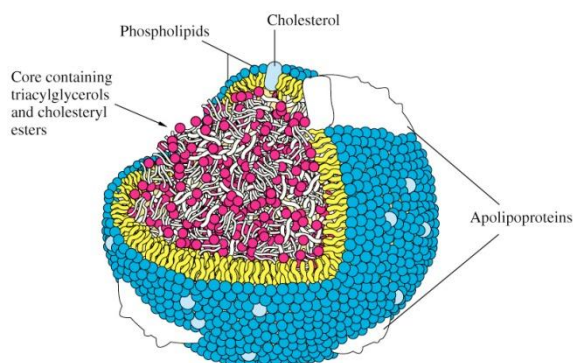
- chylomikrony, které mají nejnižší hustotu
- VLDL-very low density lipoproteins
- LDL – low density lipoproteins
- HDL – high density lipoproteins
- IDL intermediate density lipoproteins (vzniklé z VLDL)



Obr. 3.2 Rozdělení lipoproteinů podle hustoty

Zdroj: http://people.csail.mit.edu/seneff/alzheimers_statsins.html

3.2.2.2. Lipoproteinový metabolismus



Zdroj: <http://chienlab.wikispaces.com/Gracie%27s+Science+Page>

Chylomikrony jsou primárně tvořeny triacylglyceroly a z 95% jsou tvořeny lipidy. Slouží k transportu lipidů pro uskladnění v tukové tkáni (Walker a kol., 2008). Vznikají ve sliznici tenkého střeva, vstupují do lymfy a cestou *ductus thoracicus* se dostávají do krevního oběhu. Hlavním apoproteinem, nezbytným pro syntézu chylomikronů je apoB-48. Chylomikrony však obsahují i apoproteiny skupiny A a v plazmě přijímají apoE a C, které jsou nezbytné pro jejich katabolismus. V krevním oběhu přicházejí do styku s lipoproteinovou lipázou (LPL), která je součástí povrchové membrány endotelií kapilár a štěpí TAG chylomikronů. Následně se uvolňují mastné kyseliny, které slouží jako zdroj energie pro svaly a jiné tkáně nebo jsou ukládány v tukové tkáni ve formě zásobních TAG nebo jsou vychytávány játry a metabolizovány.

Po hydrolýze většiny TAG zbývají z chylomikronů malé částice zvané *remnants*, obsahující hlavně cholesterol. Tyto částice jsou rychle odstraněny játry.

Hlavní lipoproteiny tvořené v játrech jsou VLDL. Jejich základní bílkovinná komponenta, apoB-100, je tvořena v drsném endoplasmatickém retikulu hepatocytů. V hladkém endoplasmatickém retikulu přibírá endogenní TAG a malé množství esterů cholesterolu a prostřednictvím Golgiho aparátu jsou vezikuly s částicemi VLDL secernovány do krve (Racek a kol., 2006).

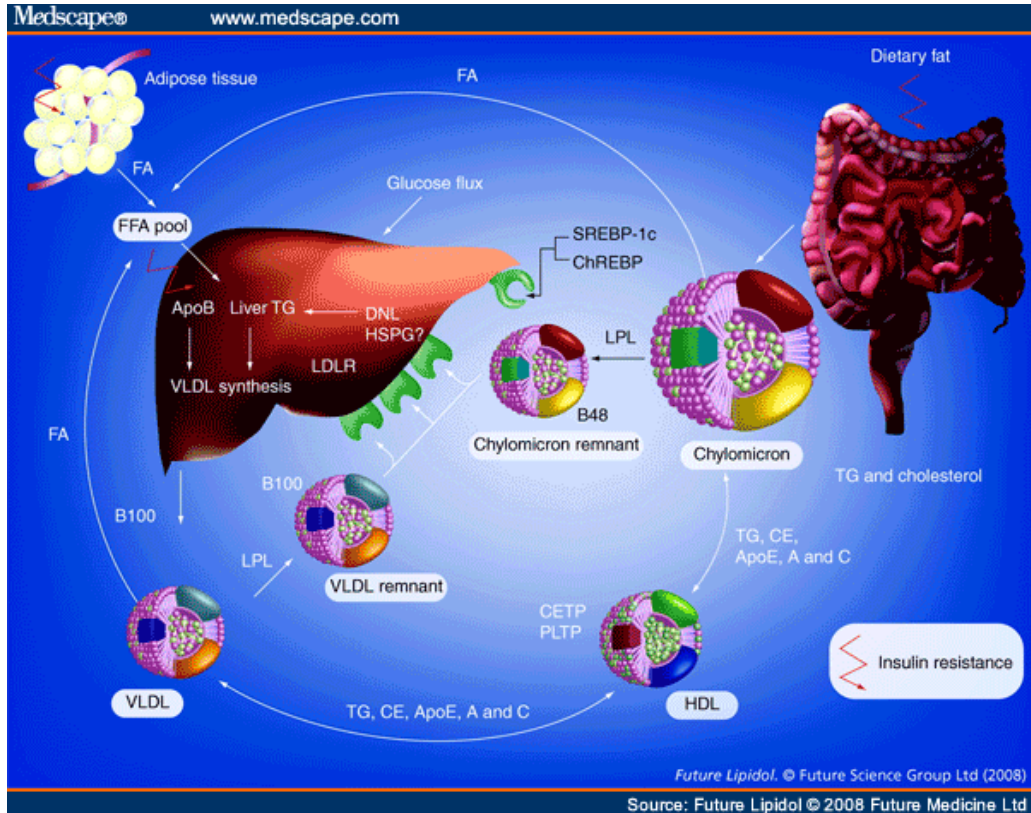
Schopnost tkání přejímat mastné kyseliny z TAG silně koreluje s aktivitou enzymu LPL, stejně jako u chylomikronů. Působením LPL vznikají z VLDL bohatých na TAG lipoproteiny o střední hustotě (IDL) a ty jsou prekurzorem LDL. Částice IDL obsahují značně větší podíl cholesterolu, který vzrostl relativně díky hydrolýze TAG i absolutně přenosem esterů cholesterolu z HDL.

IDL může potkat dvojí osud. Částice IDL mohou být zachyceny játry a metabolizovány nebo mohou být pomocí jaterní lipázy přeměněny na LDL (Murray,

1995). Přitom jsou odstraněny jaterní lipázou z IDL další TAG a ztrácí se z nich zbytek apoE a C.

Funkce LDL je přenos cholesterolu do periferie. LDL částice jsou vycytány z větší části játry, zbytek jinými tkáněmi (Garret a kol., 2010). LDL jsou vázány specifickými LDL receptory v membráně buněk. LDL se vážou na membránový receptor prostřednictvím apoB-100. Částice LDL se s receptorem dostává do lysozomu, kde jsou estery cholesterolu následně hydrolyzovány.

HDL částice vznikají jako nascentní HDL v játrech a tenkém střevě. Přijímají z buněčných membrán i z jiných typů lipoproteinů volný cholesterol, který je v částici esterifikován. Tento děj katalyzuje enzym lecithin-cholesterolacyltransferáza (LCAT). Nejmenší částice HDL se značí HDL3, obohacením o další cholesterol se mění na HDL2a. Z těchto částic výměnou cholesterolu za TAG z VLDL vznikají HDL2b, které se po hydrolyze TAG jaterní lipázou mění znovu na HDL3. Touto cestou se přebytečný cholesterol z buněčných membrán přes HDL dostává do VLDL a vrací se do jater vycytáváním IDL či LDL. Tento děj je znám jako reverzní transport cholesterolu. (Racek a kol., 2006).



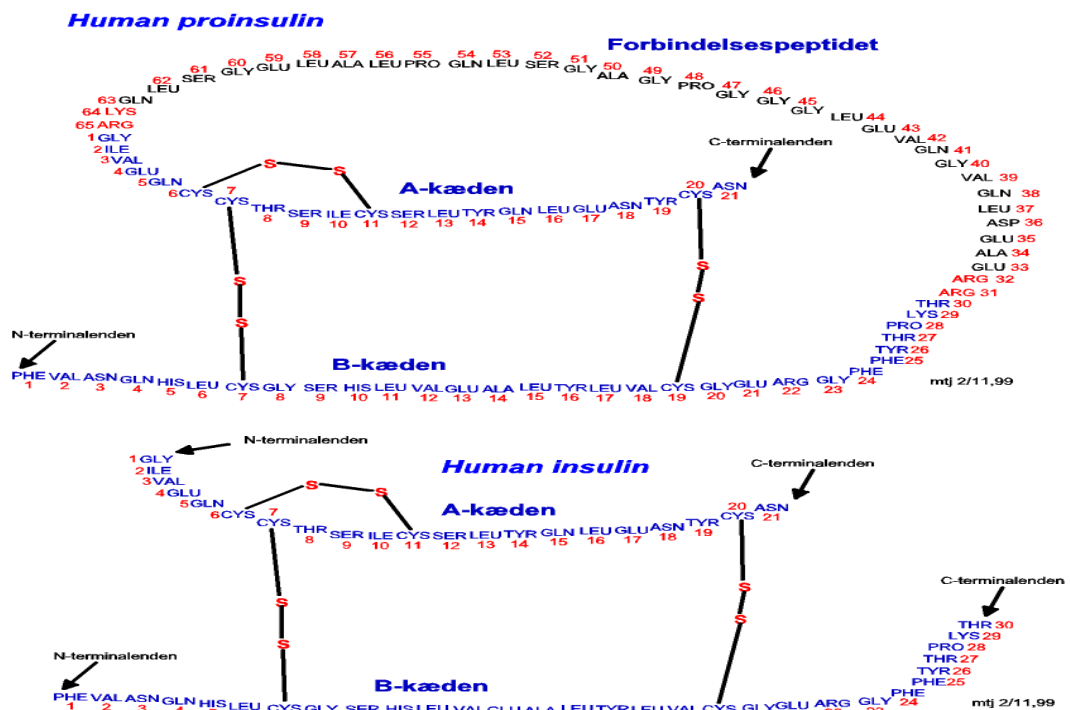
Obr. 3.3 Lipoproteinový metabolismus

3.3. Langerhansovy ostrůvky pankreatu a význam jejich hormonů

Langerhansovy ostrůvky pankreatu jsou endokrinní žlázou, která je roztroušena uvnitř pankreatu. Jsou tvořeny čtyřmi typy buněk. Buňky A (alfa) produkují glukagon, buňky B (beta) inzulín, buňky D (delta) somatostatin a buňky F produkují pankreatický polypeptid (Trojan a kol., 2003).

3.3.1. Inzulín

Inzulín je syntetizován v β -buňkách pankreatu jako protein preinzulín. Jedná se o dimer spojený třemi disulfidickými vazbami. Proteolytickým štěpením dojde k odstranění C-peptidu a tím dojde ke vzniku aktivované formy inzulínu. Forma monomeru a dimeru inzulínu je rozpustná ve vodě. Biologicky aktivní forma hormonu je pouze monomer (Litwack, 2008).



Obr. 3.4 Struktura inzulínu

Zdroj: <http://www.biosite.dk/staabi/insulin.gif>

Prvním krokem k přenosu inzulínového signálu do buňky je vazba inzulínu na extracelulární α -podjednotku inzulínového receptoru. Vazba inzulínu na receptor vede

k tzv. tříkrokové fosforylační kaskádě zprostředkovávající vnitrobuněčný přenos inzulinového signálu (Hulín a kol., 1998).

3.3.1.1. Vliv inzulinu na energetický metabolismus

Inzulin stimuluje anabolické a blokuje katabolické pochody v metabolismu glukózy, tuků a bílkovin. Hlavními cílovými tkáněmi inzulinu jsou svaly, játra a tuková tkáň.

Postprandiálně stimuluje inzulin odsun glukózy do cílových tkání, kde podporuje tvorbu zásobního glykogenu, lipogenezi a proteosyntézu. Stejně důležitý je i v podmínkách na lačno, kdy brzdí nadměrnou produkci glukózy v játrech a ledvinách, tak aby vyhovovala potřebám organismu, a blokuje ketogenezi.

3.3.1.1.1. Inzulin a glukóza

Ve svalech inzulin aktivuje GLUT 4 a tím zvyšuje vychytávání glukózy a následně glykolýzu a její oxidaci. V játrech inzulin potlačuje produkci glukózy a zvyšuje její vychytávání z krve a fosforylaci (glukokinasa). Dále stimuluje tvorbu zásobního glykogenu (glykogensyntetasa). Urychlená glykolýza je zdrojem acetyl-CoA a malonyl-CoA. Ke zvýšení oxidace glukózy dochází pomocí aktivace pyruvátdehydrogenasy. Dalším účinkem inzulinu je potlačení glukoneogeneze.

3.3.1.1.2. Inzulin a lipidy

Inzulin stimuluje v játrech syntézu mastných kyselin, a to přímou aktivací acetyl-CoA-karboxylasy a výše uvedeným zvýšením koncentrace malonyl-CoA. Malonyl-CoA je inhibitor mitochondriální acyltransferázy na vnější mitochondriální membráně (Pelikánová, Bartoš, 2010).

Zvýšením koncentrace malonyl-CoA tedy dojde k inhibici transportu mastných kyselin do mitochondrie. Naopak dochází k růstu syntézy mastných kyselin (Litwack a kol., 2008). Tyto mastné kyseliny jsou pak k dispozici k syntéze TAG a lipogenezi.

V tukové tkáni inhibuje inzulin hormonsenzitivní lipázu, a brání tak lipolýze zásobních TAG. Zároveň zvyšuje lipogenezi dvojím mechanismem:

1) Stejně jako ve svalech a játrech stimuluje inzulin vychytávání glukózy a glykolýzu, při níž vzniká glycerol-3-fosfát. Ten je pak poskytnut pro syntézu TAG.

2) Inzulin aktivuje lipoproteinovou lipázu, která atakuje na TAG bohaté VLDL a chylomikrony a štěpí je na glycerol a volné mastné kyseliny. Mastné kyseliny vstupují do adipocytů, kde probíhá lipogeneze.

3.3.2. Glukagon

Glukagon je polypeptidický hormon syntetizovaný v α -buňkách pankreatu. Zvyšuje hladinu glukózy v krvi a snižuje syntézu mastných kyselin. Glukagon dostane signál k sekreci, pokud se sníží hladina glukózy.

Glukagon působí vazbou na specifické receptory lokalizované na membránách buněk cílových orgánů. Hlavním z nich jsou játra. Primární funkcí glukagonu je udržovat stupeň produkce glukózy dostatečný pro energetické požadavky v organismu v daném okamžiku. Systém inzulin - glukagon udržuje glykémii ve velmi úzkém rozmezí. Nedostatek glukagonu by způsobil rychlou a fatální hypoglykémii.

Efekt glukagonu v játrech spočívá v inhibici syntézy glykogenu, stimulaci glykogenolýzy a glukoneogeneze. Glukagon je silným stimulatorem sekrece inzulinu, čehož se v praxi používá ke zjišťování sekrece C-peptidu po i. v. podání 1 mg glukagonu (Pelikánová, Bartoš, 2010).

3.4. Diabetes mellitus

Diabetes mellitus je závažné metabolické onemocnění, jehož prevalence se ve středoevropské populaci pohybuje v rozmezí 6 – 7,5 %. Až třetina nemocných však zůstává nedignostikována a v době záchytu onemocnění má nejméně 20 % diabetiků mikro- a makrovaskulární komplikace. Diabetik je ohrožen předčasným rozvojem aterosklerózy se všemi jejími orgánovými projevy.

Diabetes mellitus lze podle etiologie rozdělit na diabetes mellitus 1. typu, diabetes mellitus 2. typu, gestační diabetes mellitus a ostatní specifické typy diabetu (Racek a kol., 2006).

3.4.1. Diabetes mellitus 1. typu

Diabetes mellitus 1. typu, tzv. závislý na inzulinu (inzulin dependentní – IDDM), vzniká častěji v mládí na autoimunitním podkladu, má značný sklon k těžkým akutním komplikacím vč. komatu s ketoacidózou a nezbytné je podávání inzulinu, jehož je při tomto typu v těle naprostý nedostatek. Jeho začátek v dospělosti je méně častý.

Vzniká v důsledku postupného zániku β -buněk způsobeného autoimunitními procesy navazujícími na dosud neznámé poškození β -buněk. Ostrůvky jsou infiltrovány lymfocyty (inzulitis). Lze prokázat protilátky proti ostrůvkům (např. GAD, ICA, ICSA). β -buňky jsou postupně ničeny (existuje zde vazba na určité HLA antigeny), čímž klesá sekrece inzulínu (Vokurka a kol., 2008).

3.4.2. Diabetes mellitus 2. typu

Do této skupiny patří 90 % diabetiků. Jedná se o rezistenci na inzulín nebo o relativní nedostatek inzulínu. Rezistence je způsobena buď snížením počtu receptorů nebo postrecepční bloádou.

Relativní nedostatek inzulínu nastává např. u obezity, dále u snížené odpovědi β -buněk pankreatu na hyperglykémii. Postižení bývají spíše starší lidé, často obézní. Při redukci tělesné hmotnosti dochází k výraznému zlepšení metabolismu glukózy, resp. snížení inzulínorezistence (Racek a kol. 2006). Mezi důležité exogenní faktory tedy patří nadměrný příjem kalorií, nevhodné složení stravy, nedostatečná fyzická aktivita, obezita, kouření a další civilizační návyky.

Velký vliv na vznik onemocnění mají také genetické předpoklady, to dokazuje už jen familiární výskyt NIDDM, podobná predispozice u jednovaječných dvojčat a také vysoká prevalence u určitých etnických skupin (např. Pima, Mexikoameričané).

Nemocní nejsou životně závislí na podávání exogenního inzulínu, ač ve zvláštních situacích k udržení uspokojivé kompenzace diabetu inzulín vyžadují. Avšak protože obraz NIDDM je dán postupným úbytkem sekrece inzulínu, dochází v průběhu onemocnění NIDDM u většiny nemocných k prohlubování stupně diabetické poruchy. Důsledkem progresu metabolické poruchy je, že nakonec i u těch nemocných, kteří byli zpočátku léčeni dietou a pak perorálními diabetiky (PAD), je nutno přistoupit k léčbě inzulínem (Rybka, 2007).

Mezi hlavní příznaky pro NIDDM patří únava, menší tělesná a případně i duševní výkonnost, někdy polyurie a polydipsie. Nezřídka se NIDDM diagnostikuje až při objevení se komplikací, zejména diabetické neuropatie a retinopatie, často při kožních a slizničních zánětech jako jsou pyodermie, kožní mykózy, balanitidy a vulvovaginitidy. Mnohdy je nalezena hyperglykemie či glykosurie při vyšetření provedeném z jiných důvodů u zcela asymptomatických nemocných. (Vlček a kol., 2010).

3.4.2.1. Inzulinová rezistence

Inzulinová rezistence (IR) znamená poruchu v účinku inzulínu a definujeme ji jako stav, při němž normální hladiny inzulínu v plazmě vyvolávají nižší biologickou odpověď organismu. Inzulinová rezistence se týká nejen metabolismu glukózy. Může se týkat dalších účinků inzulínu, například metabolismu tuků a bílkovin, efektu proliferačního a mitogenního nebo vlivu na sekreci vazoaktivních a trofických faktorů.

Lehké IR lze sledovat v pubertě, těhotenství a stárnutí, kdy se ovšem jedná o fyziologické stavy.

U patologických stavů se sleduje středně těžká IR, která je spojena s metabolickým syndromem (syndromem inzulinové rezistence), který je představován NIDDM, obezitou, esenciální hypertenzí a aterosklerózou).

Těžká IR může být vrozená nebo získaná. Vrozená IR je sledována u leprechaunismu, Rabson-Mendenhallova syndromu, lipodystrofie a IR typu A (genetický defekt inzulinových receptorů). Získaná IR je spojena s IR typu B (protilátky proti inzulinovým receptorům) a sekundární lipodystrofií).

Kvantitativně nejvýznamnější část osob s IR tvoří osoby s metabolickým syndromem (MS).

3.4.2.1.1. Spojení IR s FFA

Plazmatické volné mastné kyseliny (FFA) mají důležitou roli ve fyziologii kosterního svalstva, srdce, jater a pankreatu. Nicméně chronicky zvýšená koncentrace FFA má patofyziologické účinky (Boden, Shulman, 2002). Při chronickém nutričním přetížení dochází k nárůstu tukových zásob, kdy může docházet k hypertrofii adipocytů. Důsledkem toho je zvýšený stres endoplazmatického retikula, což může vést až k prozánětlivému stavu v tukové tkáni, kdy dochází k inzulinové rezistenci, aktivaci makrofágů, vzniku chronického zánětu až smrti adipocytů. Makrofágy uvolňují cytokiny, které aktivují další makrofágy, které infiltrují tukovou tkáň. Tímto se inzulinová rezistence rozšíří do veškeré tukové tkáně (Lionetti a kol., 2009).

Významnou roli v rozvoji IR zvýšeným množstvím FFA hraje TLR-4 (toll like receptor 4), což je prozánětlivý receptor pro LPS a má důležitou roli v primární imunitě. Stimulace tohoto receptoru aktivuje produkci prozánětlivých chemokinů a cytokinů. Je dokázáno, že většinou u obézních pacientů se zvýšenou hodnotou FFA dochází k zánětlivým reakcím způsobeným aktivací již zmíněného TLR-4 v adipocytech.

Důsledkem je vznik IR, lipolýzy a zánětu ve veškeré tukové tkáni. Navíc vysoké koncentrace cirkulujících FFA snižují cirkulující adiponektin a resistenci leptinu, což vede ke snížené oxidaci lipidů v ostatních tkáních, a to zapříčiňuje ektopickou akumulaci lipidů, lipotoxicitu a inzulinovou resistenci (Hang Shi, 2006).

Inzulin rezistentní adipocyty se vyznačují nízkou liposyntetickou aktivitou a naopak vysokou lipolytickou aktivitou, tím dochází ke zvýšenému uvolňování FFA, jejichž zvýšená koncentrace je spojena s periferní i jaterní inzulinovou resistencí (Lionetti a kol., 2009).

Důsledkem vysoké hladiny koncentrace FFA je snížený přenos glukózy, který je způsobený sníženou GLUT-4 translokací. Dochází ke snížení syntézy glykogenu ve svalech a ke snížení glykolýzy. Zvýšená hodnota FFA v játrech působí jako antagonistu inzulinu na endogenní produkci glukózy. FFA také ovlivňují sekreci inzulinu. Lze tedy říci, že hodnota FFA má zásadní vliv na inzulinovou resistenci a dysfunkci β -buněk (Boden, Shulman, 2002).

3.4.2.2. Poruchy lipidového metabolismu u diabetiků

Inzulinová rezistence je často doprovázena třemi hlavními abnormalitami v lipidovém složení. Souhrnně se tento náleznazývá aterogenní dyslipidemie (podle NCEP - National Cholesterol Education Program's). Hlavní znaky aterogenní dyslipidemie jsou:

- zvýšené cirkulující TAG
- snížená hladina koncentrace HDL
- vysoká hladina LDL částic

Jak již bylo řečeno, inzulin je velmi důležitým metabolickým hormonem. Kromě jiných funkcí inzulin snižuje aktivitu hormon senzitivní lipázy. Tím dochází ke snížení uvolňování FFA z tukové tkáně do oběhu. Inzulin také stimuluje lipoproteinovou a jaterní lipasu štěpící TAG cirkulujících lipoproteinů a tím umožňuje vstup jejich FFA do buněk. V játrech inzulin stimuluje štěpení Apo-B.

Stoupající jaterní sekrece VLDL částic bohatých na triglyceridy a snižující se odstraňování VLDL zdá se být hlavní závažností v patofyziologii dyslipidemií (Krauss, 2004).

3.4.2.2.1. Zvýšení TAG a změny metabolismu VLDL.

Zdá se, že vzestup TAG je primární abnormalitou a důsledkem IR, protože manipulace vedoucí ke snížení IR vedou zároveň k poklesu TAG, naproti tomu farmakologické zvýšení nebo snížení TAG nezmění míru IR.

Příčinou hypertriacylglyceridemie je nadprodukce VLDL v játrech vlivem poruchy účinku inzulínu, který normálně blokuje produkci VLDL v játrech, a vlivem zvýšené nabídky FFA. Na vyšší koncentraci VLDL se podílí i jejich snížené vychytávání z plazmy při nedostatečné aktivaci lipoproteinové lipázy inzulínem. Zvýšení VLDL vysvětluje i zvýšené apoB100 nalézané při IR.

TAG jsou vyměňovány za estery cholesterolu. LDL se obohacují o TAG a jsou atakovány hepatální lipázou, která odštěpuje TAG – výsledkem je vznik malých denzních LDL (Pelikánová, Bartoš, 2010). Malé denzní částice se špatně váží na LDL receptory a nejsou proto snadno odbourávány, navíc velmi snadno podléhají oxidaci (oxidované, modifikované LDL jsou velmi aterogenní). Tyto částice také velmi snadno pronikají endotelem, ve stěně cév jsou pak vychytávány makrofágy, které se mění v pěnové buňky a dávají základ aterosklerotickým lézím (Svačina a kol., 2006).

3.4.2.2.2. Snížení HDL cholesterolu a změny složení HDL

Při hypertriacylglyceridemii je urychlena také vzájemná směna TAG a ECH mezi HDL a ostatními lipoproteiny. Dochází ke snížení HDL cholesterolu, který se tak vrací do aterogenních částic VLDL a LDL. HDL, které jsou obohaceny o TAG, jsou rychleji degradovány (Pelikánová, Bartoš, 2010).

3.4.2.2.3. Používané analyty v diagnostice diabetu

3.4.2.2.3.1. Stanovení glukózy – glykémie.

Stanovení glykémie se provádí při každém vyšetření diabetika v ordinaci, a to buď nalačno, nebo postprandiálně. Glykémie je dynamickou veličinou, která se mění v čase. U diabetika 2. typu podává ranní glykémie nalačno informaci o jaterní glukoneogenezi a o úspěšnosti jejího farmakologického potlačení. Glykémie se obvykle stanovuje v kapce krve z prstu, popřípadě v žilní krvi. Standardně se využívá fotometrické detekce s glukooxidázou nebo hexokinázou. Kontrolně lze použít i kvalitní glukometr.

3.4.2.2.3.2. Glykemický profil

Glykemický profil se sleduje u diabetiků 1. i 2. typu (při léčbě inzulinem). Podle zjištěných hodnot glykémie během dne je možné vhodně zvolit a upravovat jednotlivé dávky inzulinu.

3.4.2.2.3.2. Glykovaný hemoglobin

K posouzení dlouhodobé kompenzace diabetu se používá stanovení glykovaného hemoglobinu (nejlépe frakce HbA1c), jehož hodnota poskytuje informaci o stavu kompenzace diabetu za posledních 6-8 týdnů před vyšetřením. Používá se metoda iontoměničová či afinitní chromatografie nebo HPLC. Normální hodnoty HbA1c jsou 2,8-4,0% (podle International Federation of Clinical Biochemistry - IFCC).

3.4.2.2.3.2. Fruktosamin

Hodnota fruktosaminu je parametr ukazující středně dlouhou kompenzaci diabetu v období posledních 14 - 16 dnů před vyšetřením. Stanovuje se v séru fotometricky, obvykle s nitrotetrazoliovou modří. Tato metoda je těžko standardizovatelná mezi laboratořemi. U diabetiků je tato metoda pouze doplňkovým vyšetřením (Zima, 2007).

3.4.2.2.3.2. Další metody používané v diabetologii

- Stanovení albuminurie
- Stanovení inzulinu
- Stanovení C-peptidu v séru
- Glukagonový test

(Zima, 2007).

3.5. Chromatografie

K rozdělení lipidů krevní plazmy na jednotlivé frakce se všeobecně využívá chromatografických metod. Ty jsou také využívány ke stanovení vyšších mastných kyselin obsažených v těchto lipidových frakcích. Následující část bude přehledem

chromatografických metod, kde budou zdůrazněny metody, které jsme využívali v naší práci.

3.5.1. Rozdělení chromatografických metod

Vzhledem ke značné různorodosti se chromatografické metody dělí podle několika hledisek. Podle skupenství mobilní fáze lze rozlišit kapalinovou (LC) a plynovou chromatografii (GC). Podle uspořádání stacionární fáze se metody dělí na kolonovou chromatografii, kdy je stacionární fáze umístěna v koloně, a plošné techniky (papírová chromatografie, tenkovrstvá chromatografie – TLC).

Podle povahy děje, který převládá při separaci, rozlišujeme:

- rozdělovací chromatografii – o separaci rozhoduje odlišná rozpustnost složek vzorku ve stacionární fázi (kapalina) a mobilní fázi (kapalina nebo plyn).
- adsorpční chromatografie – o separaci rozhoduje různá schopnost složek poutat se (adsorbovat se) na povrch stacionární fáze (tuhá látka).
- iontově výměnná chromatografie – o separaci rozhodují různě velké elektrostatické přitažlivé síly mezi funkčními skupinami stacionární fáze (iontoměnič) a ionty vzorku.
- gelová chromatografie – složky se separují podle velikosti na pórovité stacionární fázi (gelu); menší molekuly vzorku se v pórech gelu zdržují déle (molekulově síťový efekt).
- afinitní chromatografie – stacionární fáze je schopna vázat ze vzorku právě určité složky, ke kterým má úzce selektivní vztah (afinitu).

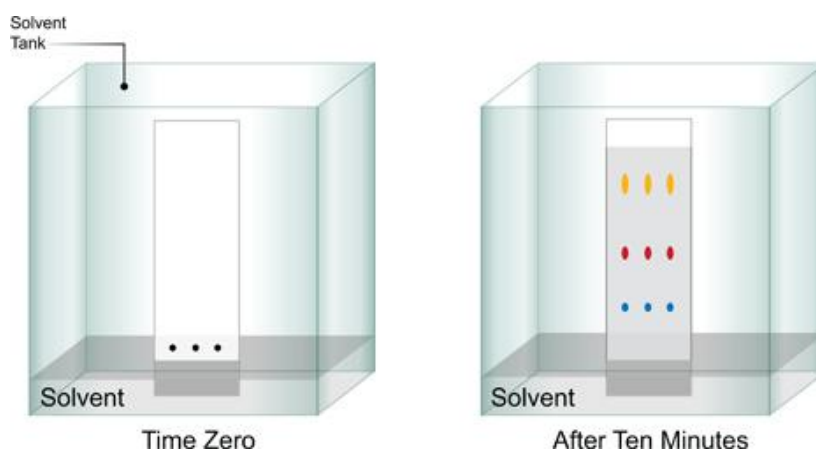
3.5.2. TLC

Stacionární fáze TLC je umístěna v ploše na rozdíl od kolonových technik. V TLC je tuhá fáze nanosená v tenké vrstvě na vhodné desce. Mobilní fáze se skládají většinou ze směsi rozpouštědel, někdy s přísadkami kyselin, zásad nebo tlumivých roztoků.

Vzorek se nanese na start blízko okraje tenké vrstvy ve formě skvrny nebo pásu. Pak se tento okraj desky ponoří do mobilní fáze, která se nechá vzlihat póry stacionární fáze v TLC. Tenká vrstva je umístěna v komoře sycené mobilní fází.

Mobilní fáze unáší analyty, které jsou zadržovány stacionární fází. Analýza se ukončí dříve, než čelo mobilní fáze dosáhne konce desky. Deska se vyjme z komory, vysuší se, označí se místo nanesení vzorků (start), polohy skvrn a čelo rozpouštědla.

K detekci skvrn se použije buď jejich přirozeného zbarvení, nebo se skvrny zviditelní reakcí s vhodným činidlem, ozářením UV zářením apod.



Obr. 3.5 Znárodnění tenkovrstvé chromatografie

Zdroj: <http://mortada8.maktoobblog.com/category/instrumental-analysis-studies/chromatography-studies/>

Vedle analytické TLC je tato metoda používána k preparativním účelům. Desky pro preparativní účely mají tlustší vrstvu stacionární fáze (0,5 až 2,0 mm, tloušťka analytických vrstev je jen 0,1 až 0,5 mm).

Stejně jako ostatní chromatografické metody je TLC založena na distribuci analytů mezi dvě fáze – stacionární a mobilní. Tyto dvě fáze jsou navíc v kontaktu se třetí fází, tvořenou parami mobilní fáze. Základní veličina, která charakterizuje polohu separovaných zón, se nazývá retardační faktor R_f definovaný jako poměr vzdáleností, které urazily složky vzorku, d_i , a čelo mobilní fáze, d_m :

$$R_f = d_i / d_m = u_i / u_m = 1/(1+k)$$

Kde u jsou retenční rychlosti a k je retenční faktor složky.

Hodnota R_f se pohybuje v rozmezích $<0,1>$. Pokud je $R_f = 0$, látka nemigruje, pokud je roven 1, pak látka není zadržována stacionární fází a migruje s čelem rozpouštědla. Vzhledem k nízké reprodukovatelnosti R_f je nutné používat pro identifikaci užívat standardy.

3.5.2.1. Obecný postup TLC

Příprava vzorku je jednodušší než v ostatních metodách vzhledem k jednoúčelovému použití papíru či desek.

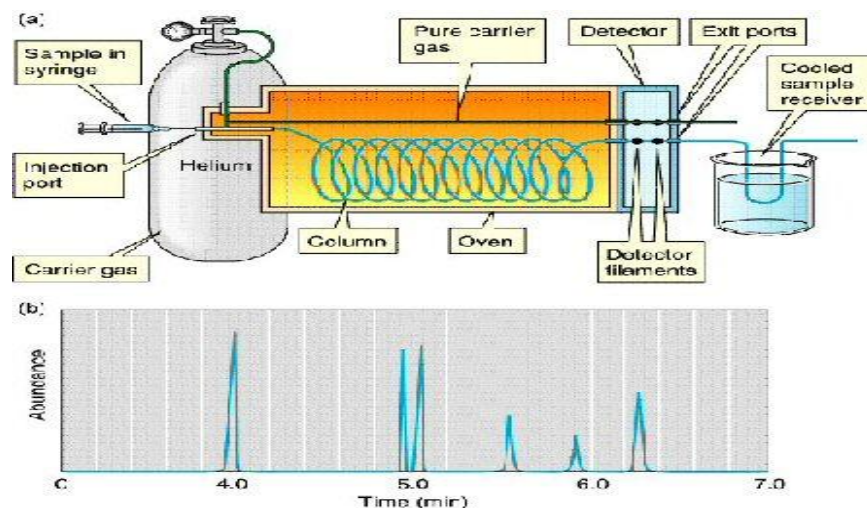
Vzorky by měly být dávkovány ve formě úzkých zón, aby se omezilo jejich rozmývání během analýzy. Obvykle se vzorky nanášejí na tenkou vrstvu pomocí mikrokapilár. Po aplikaci vzorku je nutné nechat odpařit rozpouštědlo.

Nejběžnější je vyvíjení vzestupné. Pro reprodukovatelné měření je nutné sytit komoru parami rozpouštědel. Obvykle se provádí jednoduché vyvíjení, pokud však nedojde k separaci, je možné použít vícenásobné vyvíjení.

Vyhodnocování chromatogramu. Látky v TLC se vyhodnocují na základě hodnot R_f a jejich schody se standardy. Kvantitativní vyhodnocení je buď přímé, nebo nepřímé. Při nepřímé semikvantitativní metodě se skvrna z tenké vrstvy vyškrábe a extrahuje vhodným rozpouštědlem. Koncentrace látky se pak určí např. spektrofotometricky nebo jinou metodou. Mezi přímé metody patří měření plochy skvrny (logaritmus plochy skvrny je úměrný koncentraci), radiochemické metody (jde-li o radioaktivně značené látky) a denzitometrie. Použití skenovacích fotodenzitometrů je nejrozšířenější a poskytuje nejpřesnější výsledky.

3.5.3. Plynová chromatografie

Vzorek se dávkuje do proudu plynu, který jej dále unáší kolonou. Proto se mobilní fáze nazývá nosný plyn. Aby vzorek mohl být transportován, musí se ihned přeměnit na plyn. V koloně se složky separují na základě různé schopnosti poutat se na stacionární fázi. Složky opouštějící kolonu indikuje detektor. Signál z detektoru se vyhodnocuje a z časového průběhu intenzity signálu se určí druh a kvantitativní zastoupení složek (Klouda a kol., 2003).



Obr. 3.6 Obecné schéma GC

Zdroj: <http://chemistry.umeche.maine.edu/CHY251/Chroma.html>

Zdrojem nosného plynu je tlaková láhev obsahující vodík, dusík, helium nebo argon. Volba nosného plynu je často určena druhem kolony a detektoru.

Čisticí zařízení zachycuje vlhkost a nečistoty v nosném plynu.

Regulační systém zajišťuje stálý nebo programově se měnící průtok nosného plynu.

Dávkovač slouží k zavedení vzorku do proudu nosného plynu. Technika dávkování musí zajistit odpaření vzorku v co nejkratším čase. Roztoky dávkujeme injekčními stříkačkami (0,1 - 10 μ) přes pryžové septum.

Kolona je část chromatografu, ve které je umístěna stacionární fáze. V koloně nastává separace složek.

Detektor slouží k detekci látek v nosném plynu.

Vyhodnocovací zařízení zpracovává signál z detektoru, zakresluje chromatografickou křivku (chromatogram) a provádí její vyhodnocení.

Termostat zajišťuje dostatečně vysokou teplotu dávkovače, kolony a detektoru, aby byl vzorek udržen v plynném stavu. Dávkovač a detektor mají zpravidla vlastní řízené zahřívání. Teplota kolony se může programově měnit podle spektra složek (Klouda a kol. 2003).

3.5.3.1. Detektory v plynové chromatografii

Jeden z nejstarších detektorů je tepelně vodivostní detektor (TID). Jedná se o univerzální detektor, který se skládá z termobloku obsahující referenční celu, kterou prochází čistý nosný plyn o konstantním průtoku, a měrnou celu, kterou prochází plyn z kolony. Cely obsahují identická platinová vlákna, jejichž vodivostní odpor závisí na tepelné vodivosti okolí. Elektrické odpory se porovnají ve Wheatsonově můstku.

Plamenový ionizační detektor (Flame Ionization Detector – FID). Jedná se o velmi důležitý typ detektorů. Signál je závislý na ionizaci eluovaných látek. Nosný plyn vycházející z kolony se míchá s kyslíkem a vodíkem. Následně se spaluje na kovové trysce. Napětí 150-200V je aplikováno mezi trysku a kolektor elektrody umístěné za mikroplamenem. Eluované látky jsou spalovány na ionty, které způsobí růst elektrické vodivosti. FID je často používaný a velmi citlivý univerzální detektor vhodný pro kvantitativní analýzu (Kealey a kol, 2002).

Příklady dalších typů detektorů:

- Plamenový ionizační detektor s alkalickým kovem (AFID)
- Bezplamenový detektor s alkalickým kovem (bezplamenový TID)
- Detektor elektronového záchyty (Electron Capture Detector - ECD)
- Fotoionizační detektor
- Hmotnostní spektrometr

3.5.3.2. Metody plynové chromatografie

Eluční metoda je založena na vymývání jednorázově dávkovaného vzorku nosným plynem. Vzorek se dávkuje najednou do proudu nosného plynu před vstupem do kolony. Čas, za který složka vyjde z kolony, je za daných experimentálních podmínek pro ni charakteristický. Proto se tento časový údaj využívá k její identifikaci. Vzniklý chromatogram je tvořen sérií elučních křivek neboli píků. Zaznamenává se signál z detektoru v závislosti na čase nebo proteklém objemu nosného plynu. Kvantitativní zastoupení složky určuje plocha uzavřená jejím píkem.

Dále je možné využít frontální metodu založenou na kontinuálním přivádění vzorku do kolony, a vytěšňovací metodu.

4. Experimentální část

4.1. Analyzované vzorky

Ve studii bylo zpracováno 23 anonymních vzorků plazmy náhodně vybraných pacientů s diagnózou Diabetes mellitus 2. typu. Tyto vzorky biologického materiálu byly též použity pro verifikaci analytických parametrů metod na Oddělení klinické biochemie Krajské nemocnice Pardubice a.s. Dále byly použity vzorky plazmy 5 zdravých dárců krve. Z plné krve odebrané do zkumavek s EDTA byla centrifugací získána plazma, která byla uchována při -20 °C až do zpracování na Katedře biologických a biochemických věd Fakulty chemicko-technologické Univerzity Pardubice. Vzorky byly zpracovány metodou tenkovrstvé chromatografie a plynovou chromatografií.

Ke vzorkům byly k dispozici hodnoty některých krevních parametrů. Zásadním sledovaným parametrem byl glykovaný hemoglobin, podle kterého byli jedinci rozděleni do tří skupin – zdraví, středně nemocní a těžce nemocní.

4.2. Přístrojové vybavení pro TLC a GC

- Centrifuga typ MPW-340
Výrobce: Mechanika Precyza, Polsko
Distributor: Servis Unimed, Vestec 41, 252 42 Vestec u Prahy, ČR
- Termoblok PIERCE REACTI-THERM HEATING/STIRRING MODULE, www.biotech.cz
- Odpařovací zařízení PIERCE model 18780, REACTIVE-VAP EVAPORATING UNIT
- Pipety – 100, 250, 500 a 1000 μ l, skleněné pipety 1, 5 a 10ml
- Pyrexové zkumavky
Výrobce: Barloworld Scientific Group Limited, Stone, Staffs, Spojené království, Značka 1636/26MP, 761152 Culture Tube 16x100 SVL SCRE s teflonovým těsněním
- Sušárna HS 62 A

Výrobce: Chirana, CHIRANA GROUP, a.s. Velká 2984/23, 702 00 Ostrava – Moravská Ostrava, ČR

- Třepačka Vortex typ: REAX top

Výrobce: Heidolph instruments GmbH & Co. KG, Walpersdorfer Str. 12, 911 26 Schwabach, Německo

- Plynový chromatograf Agilent Technologies 7890A GC Systém

Výrobce Agilent Technologies

- Kolona HP-88, 100m x 0,250mm x 0,20µm, teplotní limit od 50°C do 250°C, pro dělení methylesterů mastných kyselin

Výrobce Agilent Technologies

4.3. Chemikálie a další používaný materiál

1. Detekční činidlo: kyselina fosfomolybdenová (20% roztok) v ethanolu

- Ethanol pro UV spektroskopii, balení 1000ml, hustota 810kg/m³

Výrobce: LACHEMA Brno, Karásek 1, 621 33 Brno, ČR

- Kyselina fosfomolybdenová, balení 500ml

Výrobce: SIGMA-ALDRICH Chemie GmbH, Reidstrasse 2, 895 55 Steinheim, Germany

2. Mobilní fáze (hexan:diethylether:kyselina octová)

- n-hexan, p.a., balení 1000ml, obsah 99%, Mr = 86,18, hustota 659kg/m³, číslo šarže: 1504060410

Výrobce: PENTA, Ing. Petr Švec, Wuchterlova 16, 160 41 Praha 6, ČR

- Diethylether, p.a., nestabilizovaný, balení 1000ml, obsah 99,7%, Mr = 74,12, hustota 714 kg/m³, číslo šarže: 1108240810

Výrobce: PENTA, Ing. Petr Švec, Wuchterlova 16, 160 41 Praha 6, ČR

- Kyselina octová, čistá, balení 1000ml, obsah 99%, Mr = 60,05, hustota 1050kg/m³, číslo šarže: 1507190710

Výrobce: PENTA, Ing. Petr Švec, Wuchterlova 16, 160 41 Praha 6, ČR

3. Deproteinační roztok (2-propanol:n-heptan:kyselina fosforečná)

- Isopropylalkohol, p.a., balení 1000ml, obsah 99,8%, Mr = 60,1, hustota 785kg/m³, číslo šarže: 1409250909
Výrobce: PENTA, Ing. Petr Švec, Wuchterlova 16, 160 41 Praha 6, ČR
- n-heptan, pro UV spektroskopii, balení 900ml, hustota 680kg/m³, číslo šarže: 302070397
Výrobce: LACHEMA Brno, Karásek 1, 621 33 Brno, ČR
- Kyselina fosforečná, p.a., balení 1000ml, obsah 85%, Mr = 98, hustota 1710kg/m³, číslo šarže: 400450391
Výrobce: CHEMAPOL Praha

4. Ostatní chemikálie

- Acetylchlorid, Reagent Plus > 99%, balení 50g
Výrobce: SIGMA-ALDRICH Chemie GmbH, Reidstrasse 2, 895 55 Steinheim, Germany
- Methylalkohol, p.a., balení 1000ml, obsah 99,8%, Mr = 32,04, hustota 791kg/m³, číslo šarže: 302070397
Výrobce: PENTA, Ing. Petr Švec, Wuchterlova 16, 160 41 Praha 6, ČR
- Standard REPROCHOL – lidské nebo koňské sérum se zvýšenou hodnotou cholesterolu, balení 8 x 5ml, číslo šarže: 201181195
Výrobce: IMUNA, n.p., Šarišské Michalany
- Toluén, p.a., balení 1000ml, obsah 99%, Mr = 92,14, hustota 867kg/m³, číslo šarže: 1508050810
Výrobce: PENTA, Ing. Petr Švec, Wuchterlova 16, 160 41 Praha 6, ČR
- Uhličitan draselný, bezvodý, balení 500g, Mr = 138,21, No. P-6037
Výrobce: SIGMA CHEMICAL COMPANY, p. o. box 14508, St. Louis MO 63178, USA

5. Tlakové láhve

- Dusík: N₂ 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
- Kyslík: O₂ 20% (zbytek dusík) UN 1956
Výrobce: Linde Gas a.s., U Technoplynu 1324, 198 00 Praha 9, ČR

- Vodík: H₂ 5.0 ≥99,999
Výrobce: Linde Gas a.s., U Technoplynu 1324, 198 00 Praha 9, ČR

6. Chromatografické desky

- TLC Silica gel 60, 25 Glass plates 20x20cm, balení 25 kusů, číslo produktu 1057210001
Výrobce: MERCK, 642 71 Darmstadt, Germany

4.4. Pracovní postup TLC

4.4.1. Extrakce lipidů

Do pyrexových zkumavek bylo napipetováno po 0,5 ml jednotlivých vzorků. Dále bylo do zkumavek přidáno 2,5 ml deproteinačního činidla. Směs byla 10 minut promíchána na Vortexu. Následně byl k roztoku přidán 1 ml směsi methanol-toluen v poměru 1:3 a 1,5 ml vody. Směs byla centrifugována 5 minut při 3 tisících otáček za minutu. Následně byla horní organická vrstva odpipetována do jiné zkumavky a odpařena pod dusíkem na 30 μl extraktu.

4.4.2. Rozdělení lipidů na tenké vrstvě

4.4.2.1. Příprava mobilní fáze

Mobilní fáze byla připravena smícháním 160 ml hexanu, 40 ml diethyletheru a 6 ml kyseliny octové (98 %). Chromatografická vana s řádně promíchanou směsí mobilní fáze se nechala sytit 45 minut.

4.4.2.2. Příprava chromatografické desky

Tužkou byl na chromatografickou desku označen rámeček 2,5 cm od dolního okraje a 1 cm od horního okraje a stran. Tento rámeček byl rozdělen na 6 polí po 3 cm. Při rýsování bylo nutné dávat pozor, aby se na desku nevyškrábaly rýhy.

4.4.2.3. Vlastní chromatografie

Směs extrahovaných lipidů byla nanesena postupně pasteuovou pipetou na start chromatografické desky. Do šesté polohy byl vždy nanášen standard, který obsahoval

směs lipidů. Po každém nanesení bylo nutné nechat odpařit rozpouštědlo. Deska se následně nechala vyvíjet asi jednu hodinu v uzavřené chromatografické vaně, dokud čelo mobilní fáze nedosáhlo 1 cm od horního okraje desky. Po této době byla deska vytažena a usušena v digestoři.

4.4.2.4. Příprava roztoku kyseliny fosfomolybdenové (detekční činidlo)

Z 20% zásobního roztoku kyseliny fosfomolybdenové byl ředěním 1:1 s ethanolem získán 10% roztok. Tento roztok byl rozprašovačem rovnoměrně nastříkán na chromatografickou desku, která byla následně vložena na deset minut do sušárny vyhřáté na 65 °C.

4.4.2.5. Stanovení koncentrace jednotlivých složek lipidů

Lipidy byly rozděleny do pěti složek: fosfolipidy, diacylglyceroly, volné mastné kyseliny, triacylglyceroly a estery cholesterolu. Chromatografická deska byla naskenována a denzitometricky vyhodnocena.

4.5. Pracovní postup GC

Do pyrexových zkumavek bylo napipetováno po 0,5 ml jednotlivých vzorků. Dále bylo do zkumavek přidáno 2,5 ml deproteinačního činidla. Směs byla 10 minut promíchána na Vortexu. Následně byl k roztoku přidán 1ml směsi methanol-toluen v poměru 1:4 a 1,5 ml vody. Směs byla centrifugována 5 minut při 3 tisících otáček za minutu. Následně byla horní organická vrstva odpipetována do jiné zkumavky a odpařena pod dusíkem na 60 µl extraktu. Tato směs byla nanesena na chromatografickou desku (TLC Silica gel 60, 25 Glass plates 20x20cm).

Pomocí tenkovrstvé chromatografie byly lipidy rozděleny do pěti frakcí: fosfolipidy, diacylglyceroly, volné mastné kyseliny, triacylglyceroly a estery cholesterolu.

Byla použita mobilní fáze připravená smícháním 160 ml hexanu, 40 ml diethyletheru a 6 ml kyseliny octové (98 %).

Jednotlivé frakce byly identifikovány pomocí standardu, který byl postříkán kyselinou fosfomolybdenovou. Frakce byly označeny tužkou a následně vyškrábány se silikagelovou vrstvou do pyrexových zkumavek. V této fázi byly vzorky připraveny pro derivatizaci.

4.5.1. Postup derivatizace

Do pyrexových zkumavek obsahujících silikagel s danou frakcí bylo přidáno magnetické míchadlo, 1 ml roztoku interního standardu (cis-13, 16, -19-docosatrienová kyselina) o koncentraci 10 µg/ml a 1 ml směsi methanol-toluen (1:4). Do zkumavky bylo dále přidáno 200 µl acetylchloridu jako katalyzátoru esterifikace. Zkumavka byla uzavřena šroubovacím teflonovým uzávěrem a zahřívána 1 hod při 100 °C za stálého míchání magnetickým míchadlem. Po uplynutí reakční doby byl obsah zkumavky ochlazen (stáním v digestoři) a neutralizován 5 ml 6 % K₂CO₃. Vzniklá směs byla 2 minuty míchána a pak 10 minut centrifugována při 4000 otáček za minutu. Horní fáze byla odpipetována a odpařena pod dusíkovou atmosférou při pokojové teplotě na 100 µl. Tento roztok byl převeden do vialek a analyzován pomocí plynové chromatografie.

4.5.2. Vlastní plynová chromatografie

Vzorky umístěné v dobře uzavřených vialkách byly naskládány do karuselu. Po naprogramování dané sady vzorků byl plynový chromatograf Agilent Technologies 7890A uveden do chodu.

Teplota nástřiku byla 230 °C, teplota FID detektoru byla 250 °C. Samotný teplotní program na koloně byl následující: počáteční teplota 130 °C po dobu 1 min, dále vzrůstající teplotní gradient 2 °C/min až do finální teploty 250 °C, která byla udržována na konstantní hodnotě 25 minut. Celá analýza tedy trvala 86 minut.

Pro identifikaci jednotlivých píků mastných kyselin byly použity eluční časy získané pomocí měření standardního roztoku fyziologických mastných kyselin v poolové EDTA plazmě. Veškeré analýzy byly prováděny s použitím interního standardu.

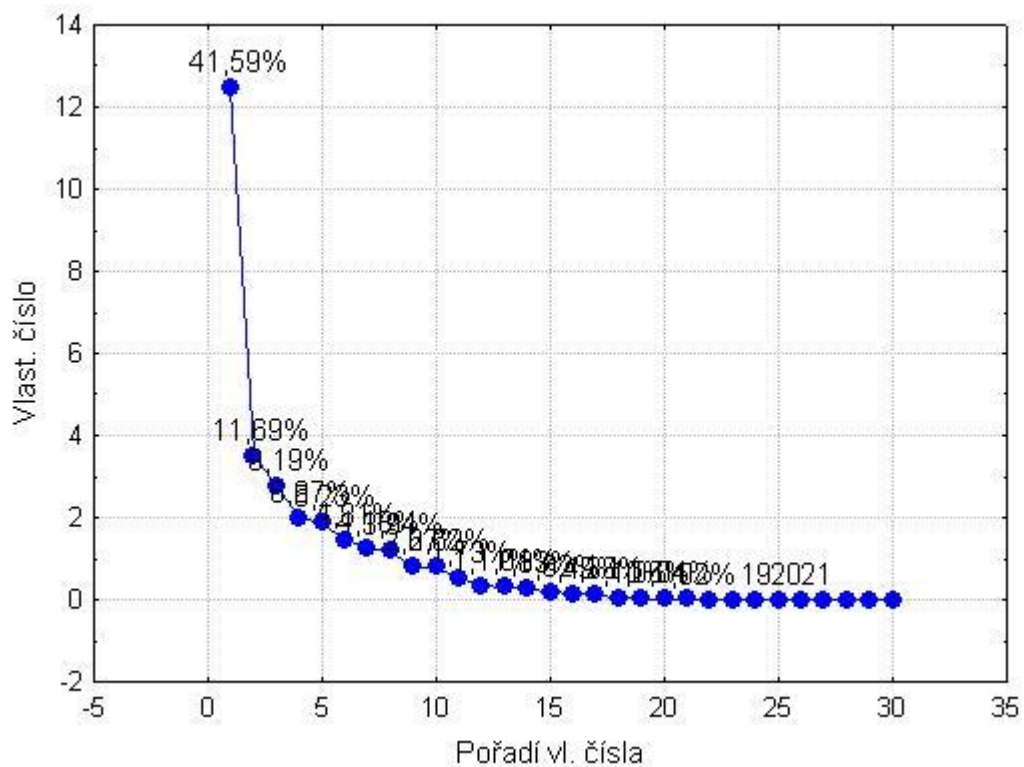
5. Výsledky

5.1. Plynová chromatografie

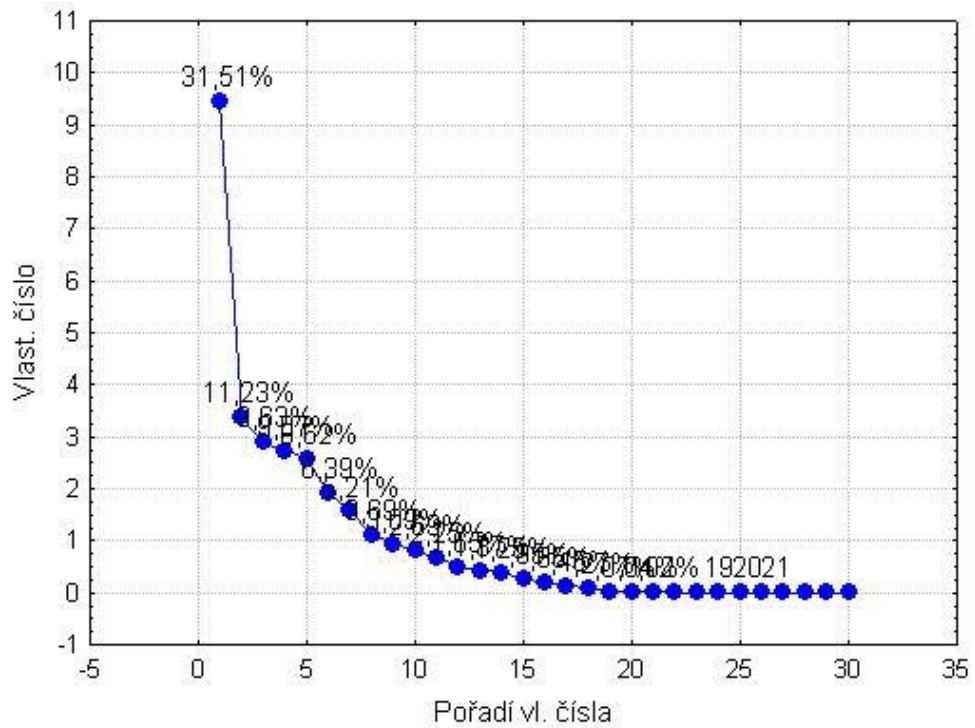
Pomocí plynové chromatografie jsme analyzovali 28 vzorků plazmy. Získali jsme hodnoty koncentrací mastných kyselin (MK) obsažených v jednotlivých lipidových frakcích plazmy. Tyto hodnoty společně s hodnotami aktivit lipidních enzymů základními biochemickými parametry (glykovaný hemoglobin, koncentrace TAG, celkový cholesterol a AST) jsme statisticky zpracovali vícerozměrnými průzkumovými technikami - metodou hlavních komponent a klasifikační analýzou v programu Statistica verze 9.0. Analýzu jsme provedli pro každou lipidovou frakci zvlášť. Cílem těchto technik bylo objevit významné korelace v datech a tím nalézt nové markery onemocnění *diabetes mellitus* 2. typu. Vícerozměrné průzkumové techniky jsme doplnili 2D grafy vytvořenými v Microsoft Office Excel.

5.1.1. Vícerozměrné průzkumové techniky

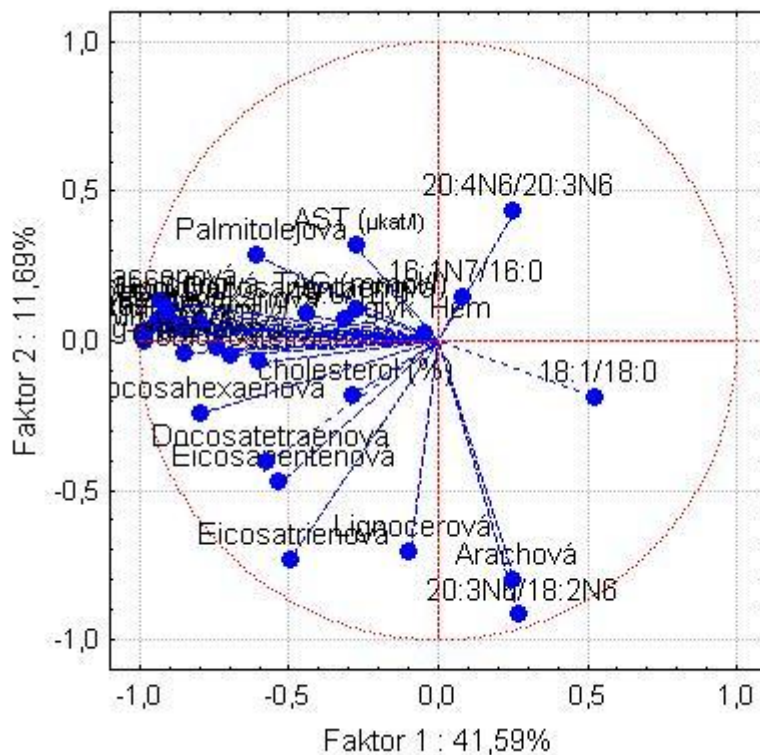
5.1.1.1. Fosfolipidová frakce



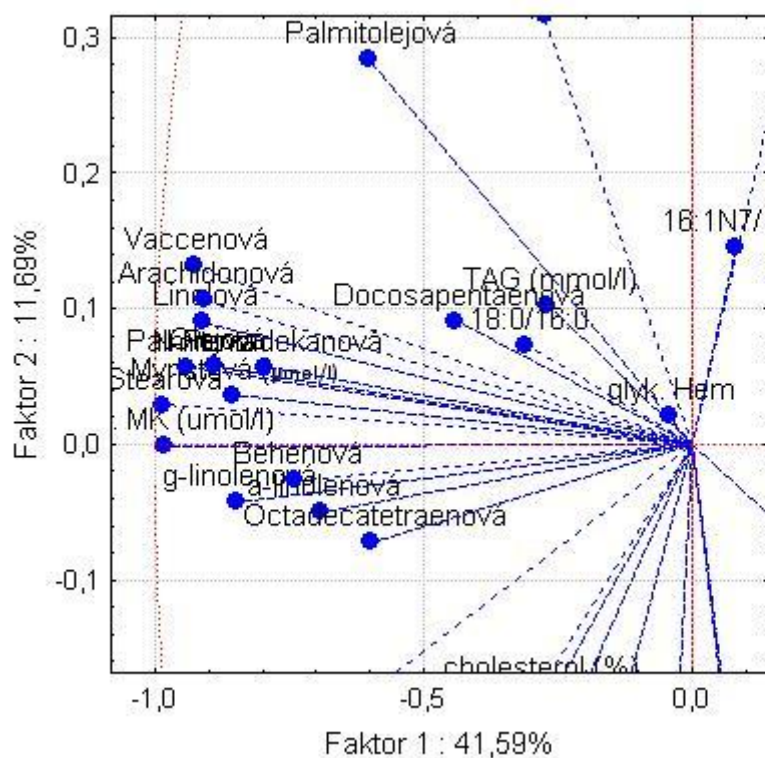
Obr. 5.1 Cattelův indexový graf úpatí vlastních čísel (určuje významnost komponent pro výchozí dosazení obsahu MK v $\mu\text{mol/l}$ ve PL frakci)



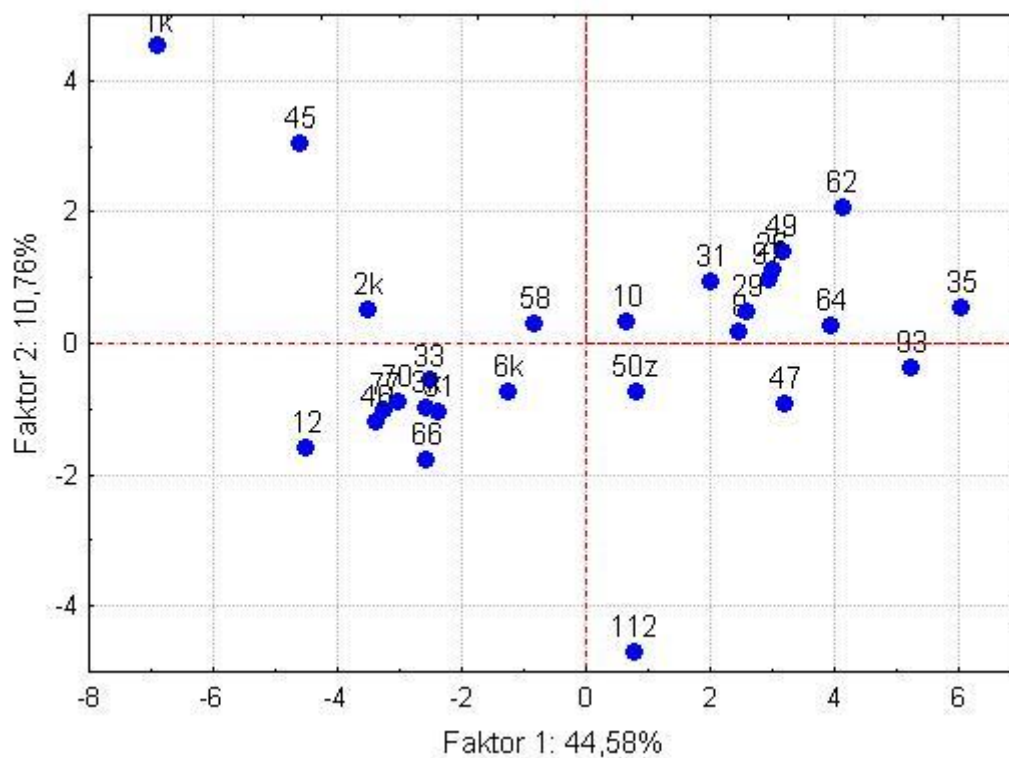
Obr. 5.2 Cattelův indexový graf úpatí vlastních čísel (určuje významnost hlavních komponent pro výchozí dosazení obsahu MK v % ve PL frakci)



Obr. 5.3 Graf komponentních vah – grafické zobrazení korelační matice pro PL frakci



Obr. 5.4 Výřez grafu komponentních vah pro PL frakci



Obr. 5.5 Graf komponentního skóre pro PL frakci

5.1.1.1. Interpretace grafického zobrazení dat

Cattelův indexový graf vlastních čísel slouží k oddělení zdrojových dat od šumových a také k určení počtu významných hlavních komponent. Pro statistické vyhodnocení dat bylo možné použít procentuální zastoupení MK nebo jejich koncentrace v $\mu\text{mol/l}$. Podle Cattelova indexového grafu je statisticky významnější vycházet z koncentrací v $\mu\text{mol/l}$, kde hlavní tři komponenty pokryjí 62,5 % informací, obr. 5.1. Při použití procentuálního zastoupení MK je pokryto pouze 52,4 % informací, obr. 5.2. Podobné výsledky byly získány ve všech lipidových frakcích. Vycházeli jsme proto pouze z koncentrací MK v $\mu\text{mol/l}$.

Z **grafu komponentních vah** lze pomocí vzdáleností průvodičů určit korelaci mezi proměnnými. Pokud jsou proměnné blízko sebe s malým úhlem mezi průvodiči, mají tyto proměnné vysokou kladnou korelaci. Naopak, pokud jsou daleko od sebe s velkým úhlem mezi průvodiči, je tato korelace negativní. Z grafu lze identifikovat shluky podobných proměnných, které spolu korelují.

Celkové MK v $\mu\text{mol/l}$ pozitivně korelují s AST ($r = 0,26$), TAG ($r = 0,27$) a celkovým cholesterolem ($r = 0,3$). Vysoké pozitivní korelace celkových MK se nacházejí s většinou jednotlivých MK. Tyto korelace nejsou signifikantní. Negativní korelace se vyskytuje pouze u kyseliny arachové ($r = -0,27$). Celkové MK svírají ostrý úhel s glykovaným hemoglobinem. Vzhledem k jeho krátkému průvodiči není tato korelace významná ($r = 0,02$). Významná je negativní korelace s Δ^9 desaturasou ($r = -0,43$), Δ^6 desaturasou ($r = -0,23$) a Δ^5 desaturasou ($r = -0,24$). S elongasou celkové MK vykazují pozitivní korelaci ($r = 0,2$).

Kyseliny palmitová, palmitolejová, stearová, olejová, linolová, α -linolenová a γ -linolenová se stejně jako většina MK nacházejí blízko sebe a mají mezi sebou malé úhly. Všechny pozitivně korelují s AST, TAG a cholesterolem. Kyselina arachová se vyskytuje mimo shluk výše zmíněných MK. Negativně koreluje s AST ($r = -0,2$). Ostatní MK s krevními parametry nekorelují.

Δ^9 desaturasa je orientována na opačnou stranu nežli většina MK, koreluje s nimi tedy negativně, což výstižně vystihuje negativní korelace s celkovými MK ($r = -0,43$). Kromě AST ($r = -0,23$) nejsou korelace s krevními parametry významné.

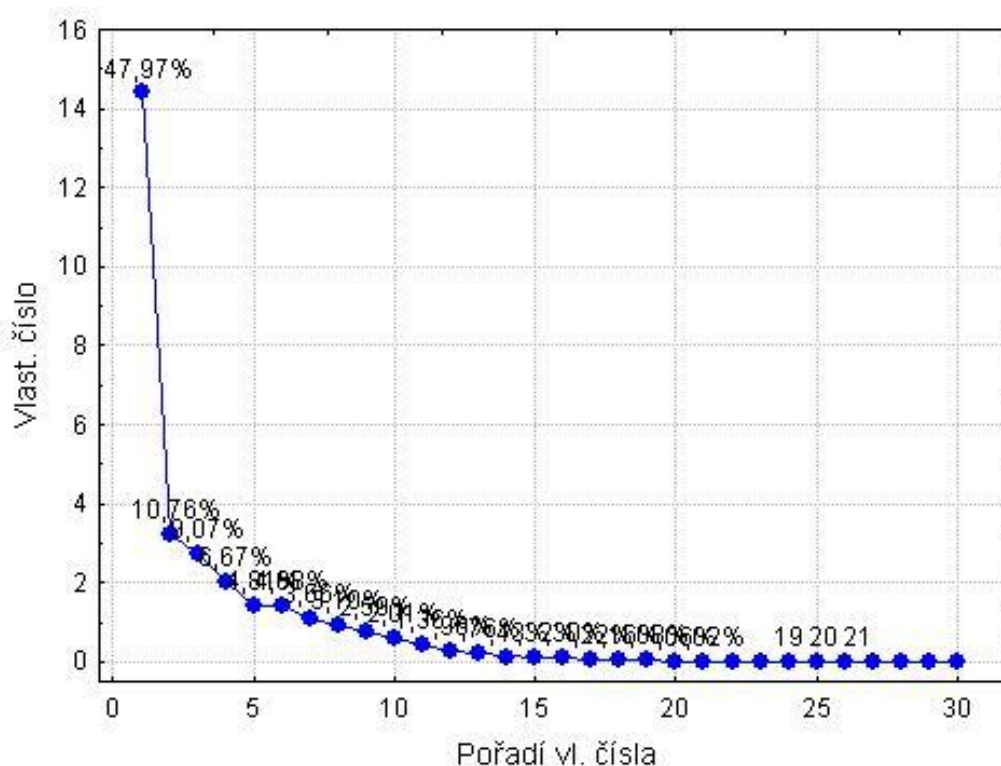
Δ^6 desaturasa také negativně koreluje s celkovými MK ($r = -0,23$) a AST ($-0,26$). Silně pozitivně koreluje s kyselinou arachovou ($r = 0,9$) a lignocenovou ($r = 0,57$).

Δ^5 desaturasa opět negativně koreluje s celkovými MK ($r = -0,24$).

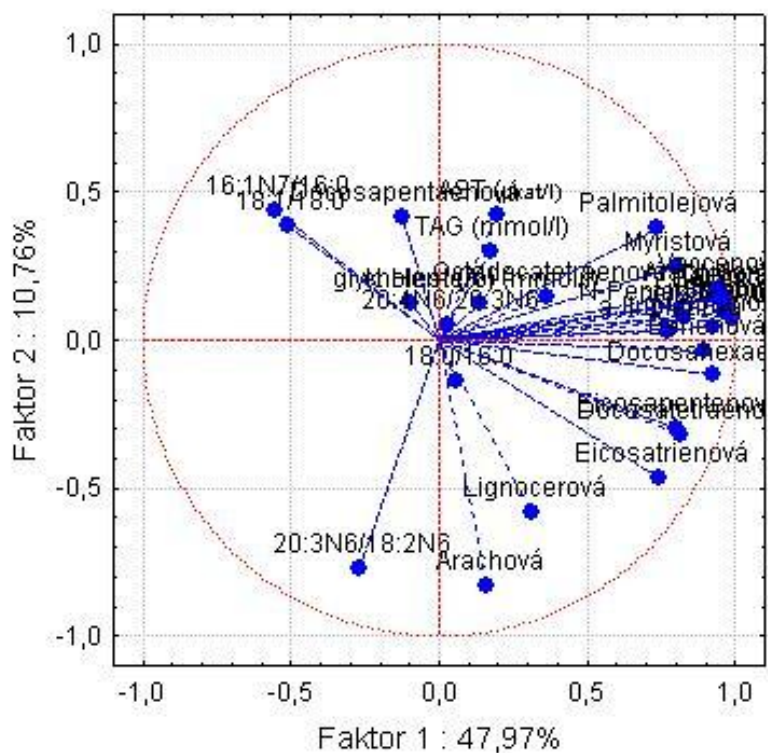
Elongasa pozitivně koreluje s glykovaným hemoglobinem ($r = 0,23$) a s celkovými MK ($r = 0,2$). Významně negativně koreluje pouze s kyselinou arachovou ($r = -0,18$).

V grafu komponentního skóre sledujeme objekty ve shluku. Takovéto objekty jsou si podobné a jsou méně podobné nebo nepodobné objektům v ostatních shlucích. Izolované objekty mohou být odlehlé. Z těchto grafů lze v našem případě nalézt pouze náznaky shlukování. To je zapříčiněno nízkým počtem zpracovaných vzorků. Z tohoto důvodu jsou v našem případě grafy komponentního skóre pouze zobrazeny a nejsou popisovány.

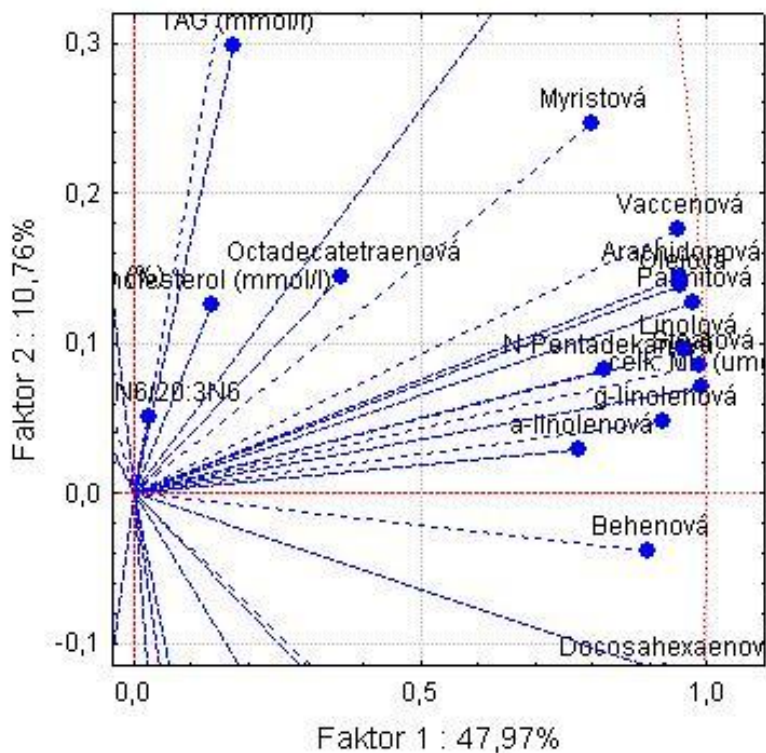
5.1.1.2. Diacylglyceroly



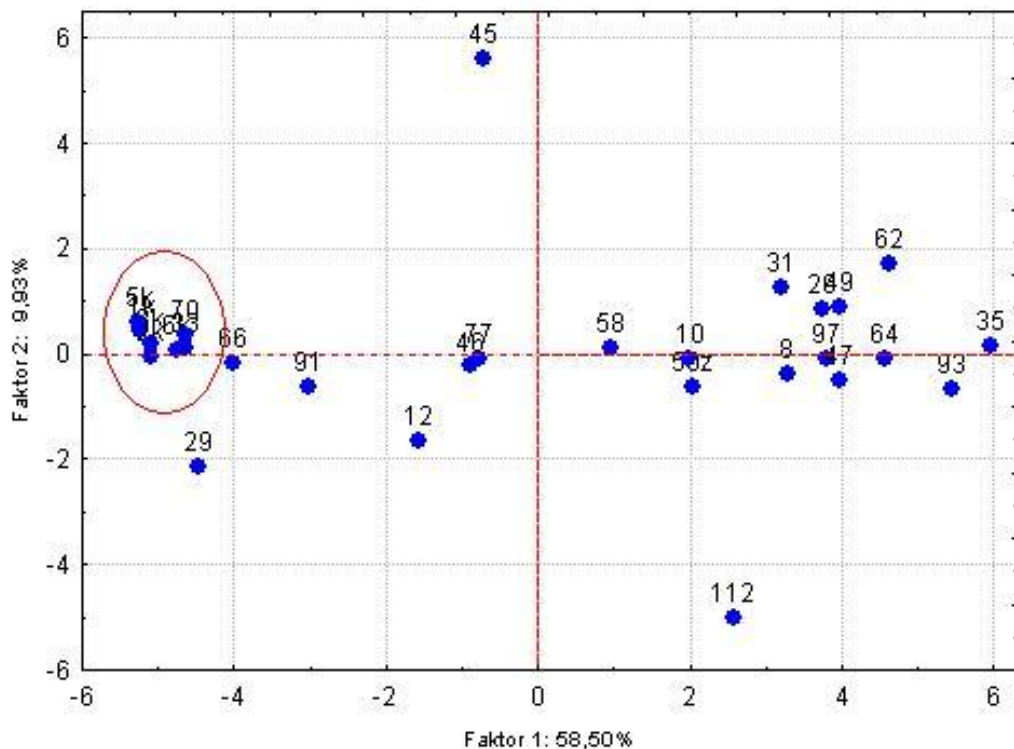
Obr. 5.6 Cattelův indexový graf úpatí vlastních čísel (určuje významnost hlavních komponent pro výchozí dosazení obsahu MK v $\mu\text{mol/l}$ v DG frakci)



Obr. 5.7 Graf komponentních vah – grafické zobrazení korelační matice pro DG frakci



Obr. 5.8 Výřez grafu komponentních vah pro DG frakci



Obr. 5.9 Graf komponentního skóre pro DG frakci

5.1.1.2.1. Interpretace grafického zobrazení dat

První tři hlavní komponenty pokrývají podle Cattelova indexového grafu 67,7 % informací, obr. 5.6.

Podle grafu komponentních vah celkové MK ($\mu\text{mol/l}$) pozitivně korelují s AST ($r = 0,2$), TAG ($r = 0,15$) a celkovým cholesterolem ($r = 0,16$). Celkové MK opět svírají kolmý úhel s glykovaným hemoglobinem, proto tato krevní hodnota nekoreluje s celkovými MK. Celkové MK korelují negativně s Δ^9 desaturasou ($r = -0,45$) a Δ^6 desaturasou ($r = -0,31$).

Kyseliny palmitová, palmitolejová, stearová, olejová, linolová, α -linolenová a γ -linolenová se opět stejně jako většina MK nacházejí blízko sebe a mají mezi sebou malé úhly. Všechny zmíněné MK pozitivně korelují s AST, TAG a cholesterolem. Kyselina arachová opět vykazuje negativní korelaci s AST ($r = -0,21$). S AST významně pozitivně koreluje kyselina oktadekatetraenová ($r = 0,45$). TAG pozitivně korelují

s kyselinou myristovou ($r = 0,26$), kyselinou palmitolejovou ($r = 0,3$) a α -linolenovou ($r = 0,3$). Ostatní krevní hodnoty nijak významně nekorelují s obsahem MK.

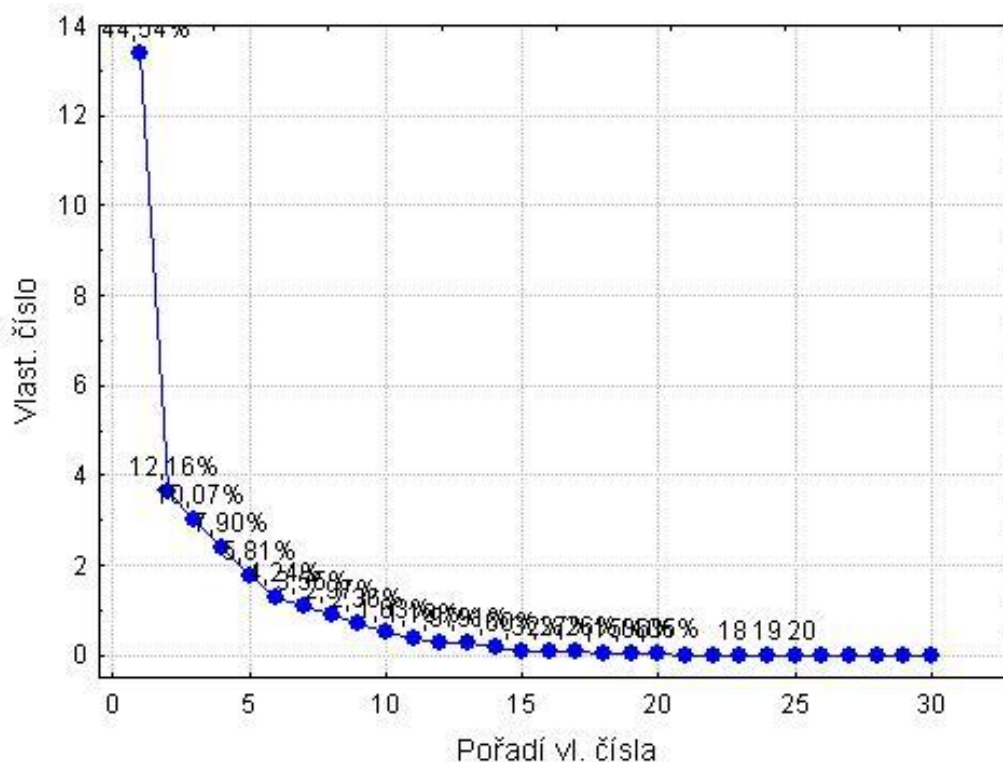
Δ^9 desaturasa významně pozitivně koreluje s glykovaným hemoglobinem ($r = 0,43$). S celkovými MK koreluje negativně ($r = -0,45$) podobně jako se všemi MK.

Δ^6 desaturasa negativně koreluje s celkovými MK ($r = -0,31$) a AST ($-0,26$). Silně pozitivně koreluje s kyselinou lignocenovou ($r = 0,457$).

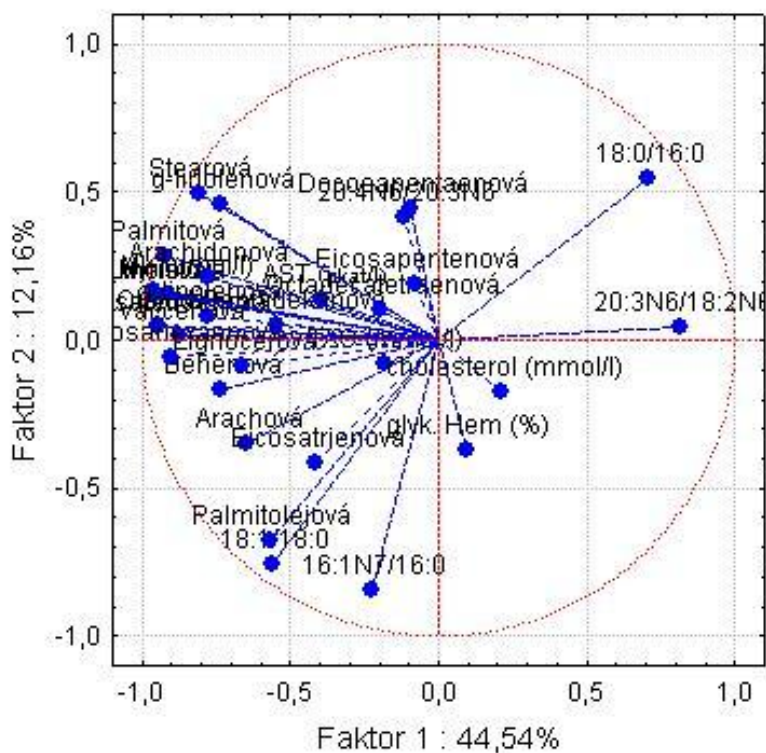
Δ^5 desaturasa nijak nekoreluje s žádnými krevními hodnotami.

Elongasa negativně koreluje s glykovaným hemoglobinem ($r = -0,36$).

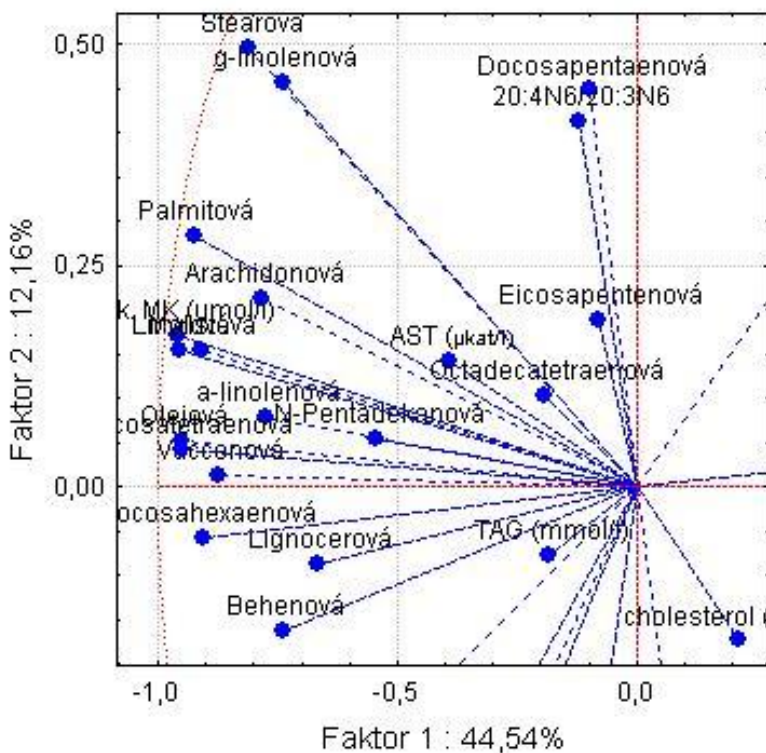
5.1.1.3. Volné mastné kyseliny



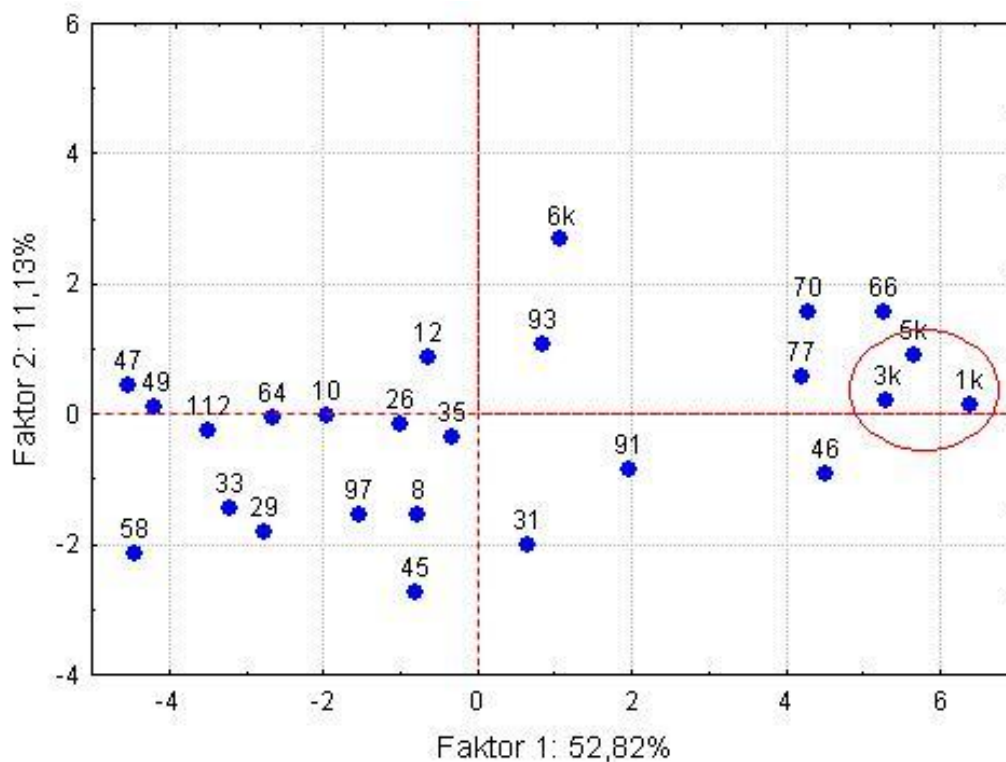
Obr. 5.10 Cattelův indexový graf úpatí vlastních čísel (určuje významnost hlavních komponent pro výchozí dosazení obsahu MK v $\mu\text{mol/l}$ ve frakci VMK)



Obr. 5.11 Graf komponentních vah – grafické zobrazení korelační matice pro frakci VMK



Obr. 5.12 Výřez grafu komponentních vah pro frakci VMK



Obr. 5.13 Graf komponentního skóre pro frakci VMK

5.1.1.3.1. Interpretace grafického zobrazení dat

První tři hlavní komponenty Catellova indexového grafu pokrývají 66,7 % celkových informací.

Z grafu komponentních vah je zřejmé, že celkové MK pozitivně korelují s AST ($r = 0,37$) a negativně s celkovým cholesterolem ($r = -0,23$). Pozitivně korelují s Δ^9 desaturasou ($r = 0,32$) a negativně korelují s $\Delta 6$ desaturasou ($r = -0,59$) a elongasou ($r = -0,58$). Ostatní korelace tohoto parametru nejsou signifikantní.

Kyseliny palmitová, stearová, olejová, vaccenová, linolová, behenová a další pozitivně korelují s hodnotou AST, s kterou svírají ostrý úhel. Tyto kyseliny nekorelují s glykovaným hemoglobinem. Je zřejmá negativní korelace s cholesterolem, s kterým nejvýznamněji negativně koreluje kyselina olejová ($r = -0,24$). TAG také svírají s těmito MK ostrý úhel. Průvodič je ovšem krátký a pozitivní korelace jsou nevýznamné.

Δ^9 desaturasa negativně koreluje s TAG ($r = -0,2$) a glykovaným hemoglobinem ($r = -0,3$). S celkovými MK koreluje kladně ($r = 0,32$). Tento enzym významně koreluje

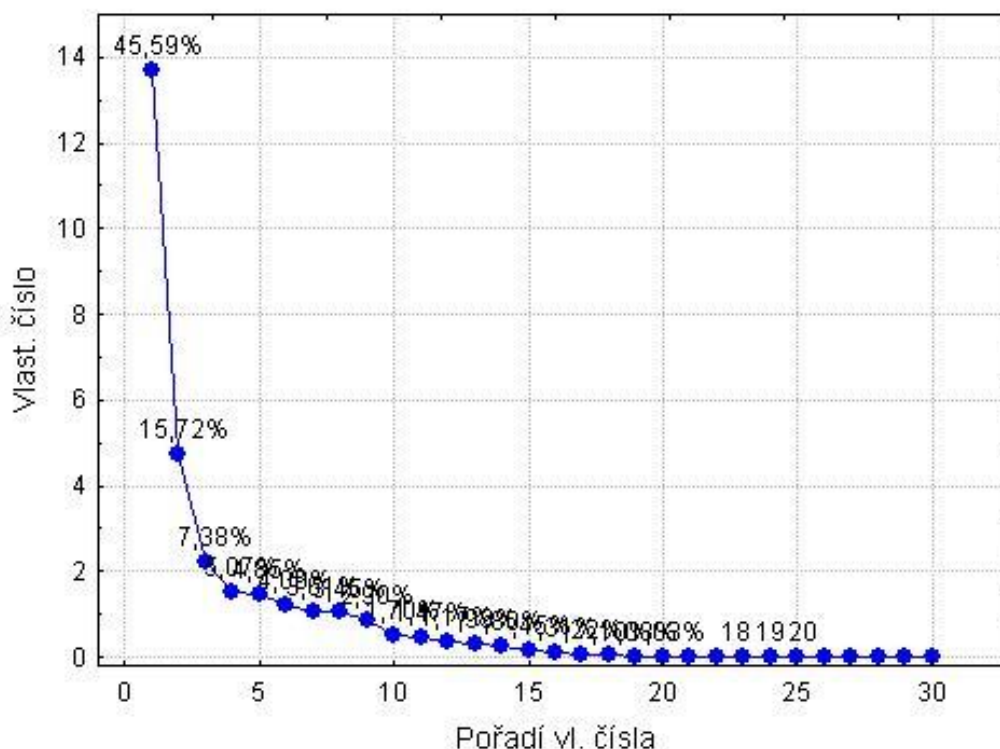
s kyselinou γ -linolovou ($r = 0,94$) a behenovou ($r = 0,79$). Negativně koreluje s kyselinou oktadekatetraenovou ($r = -0,25$) a dokosapentaenovou ($r = 0,2$).

$\Delta 6$ desaturasa negativně koreluje s celkovými MK ($r = -0,59$) a tím i se všemi MK, které se nacházejí ve shluku kolem celkových MK. Dále negativně koreluje s AST ($r = -2$).

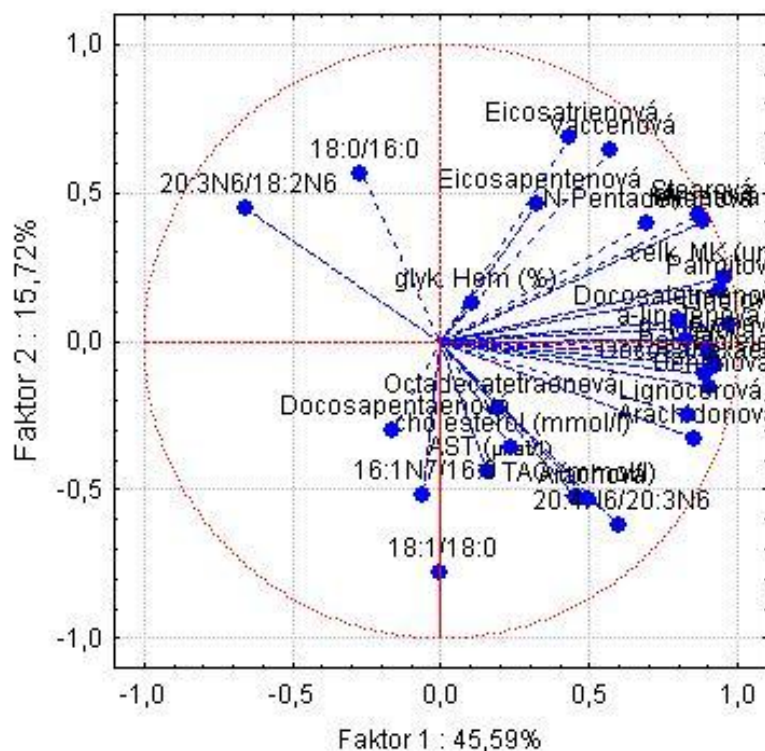
$\Delta 5$ desaturasa pozitivně koreluje s AST ($r = 0,24$), TAG ($r = 0,32$) a cholesterolem ($r = 0,3$). Poměrně vysoká negativní korelace se nachází u glykovaného hemoglobinu ($r = -0,38$). $\Delta 5$ desaturasa koreluje s kyselinou dokosapentaenovou ($r = 0,43$).

Elongasa negativně koreluje s AST ($r = -0,2$). Významná negativní korelace se nachází u celkových MK ($r = -0,58$) a tím i u ostatních MK ve shluku kolem tohoto parametru.

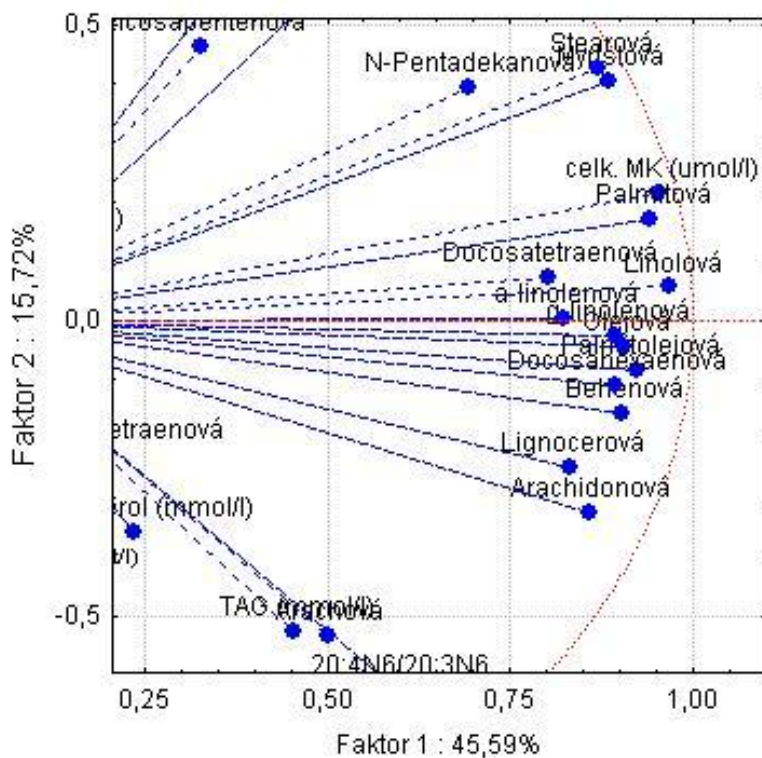
5.1.1.4. Triacylglycerolová frakce



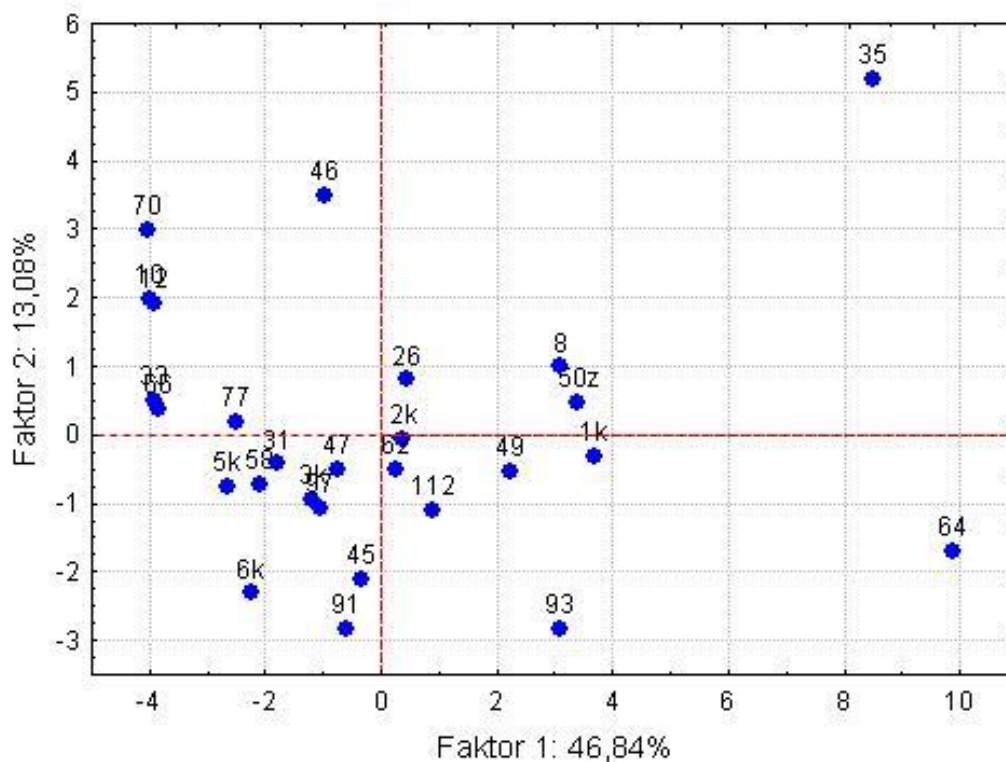
Obr. 5.14 Cattelův indexový graf úpatí vlastních čísel (určuje významnost hlavních komponent pro výchozí dosazení obsahu MK v $\mu\text{mol/l}$ v TAG frakci)



Obr. 5.15 Graf komponentních vah – grafické zobrazení korelační matice pro TAG frakci



Obr. 5.16 Výřez grafu komponentních vah pro TAG frakci



Obr. 5.17 Graf komponentního skóre pro TAG frakci

5.1.1.4.1. Interpretace grafického zobrazení dat

Hlavní tři komponenty v Catellovém indexovém grafu pokrývají 66,7 % celkových informací.

Podle grafu komponentních vah celkové MK pozitivně korelují s TAG ($r = 0,3$) a s Δ^5 desaturasou ($r = 0,44$) a negativně s Δ^6 desaturasou ($r = -0,52$). Ostatní korelace jsou nevýznamné.

Průvodiče MK ve shluku (kyselina palmitová, olejová, linolová a další) svírají poměrně malý úhel s TAG. Zmíněné MK proto s touto hodnotou pozitivně korelují.

Kyselina eicosapentaenová významně koreluje s glykovaným hemoglobinem ($r = 0,36$). S cholesterolem pozitivně koreluje kyselina olejová ($r = 0,28$), arachová ($r = 0,39$) a arachidonová ($r = 0,38$).

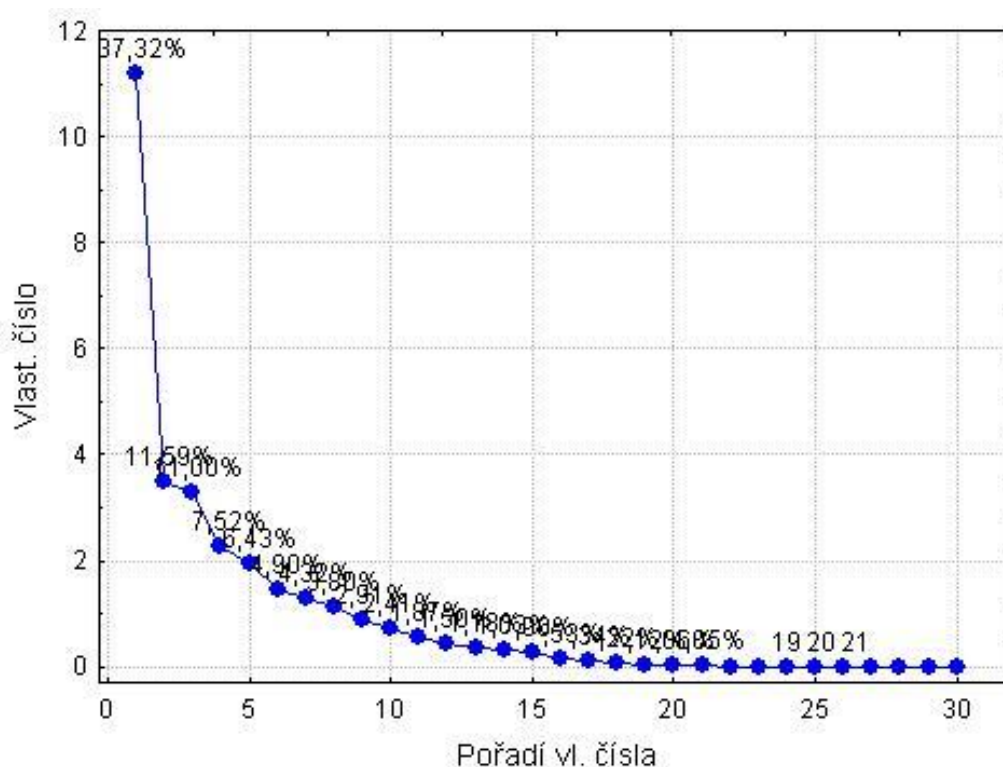
Δ^9 desaturasa pozitivně koreluje s AST ($r = 0,2$), TAG ($r = 0,35$) a kyselinou arachovou ($r = 0,5$). S většinou MK kyselin koreluje negativně.

Δ^6 desaturasa negativně koreluje s AST ($r = -0,23$), TAG ($r = -0,35$), cholesterolem ($r = -0,38$) a shlukem MK včetně celkových MK ($r = -0,52$).

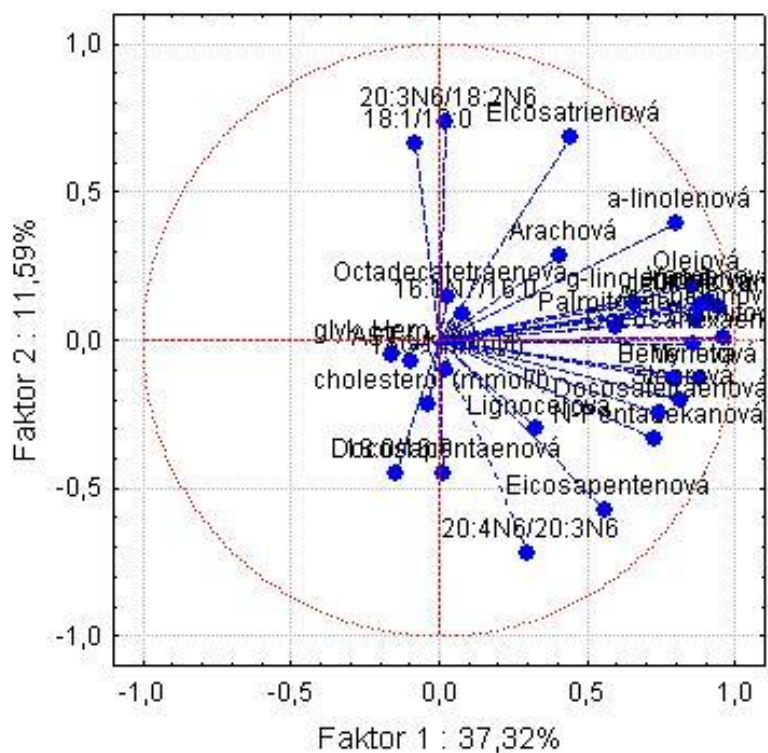
Δ^5 desaturasa pozitivně koreluje s AST ($r = 0,43$), TAG ($r = 0,56$), cholesterolem ($r = 0,36$) a shlukem MK včetně celkových MK.

Elongasa negativně koreluje s AST ($r = -0,23$) a s celkovými MK ($r = -0,2$). Významně negativně koreluje s kyselinou arachovou ($r = -0,46$) a olejovou ($r = -0,41$).

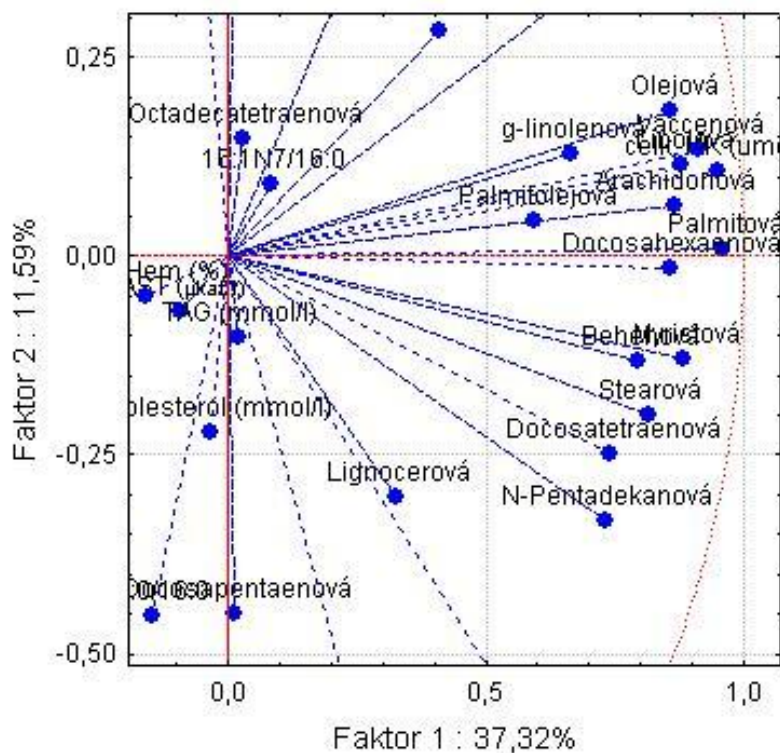
5.1.1.5. Frakce esterů cholesterolu



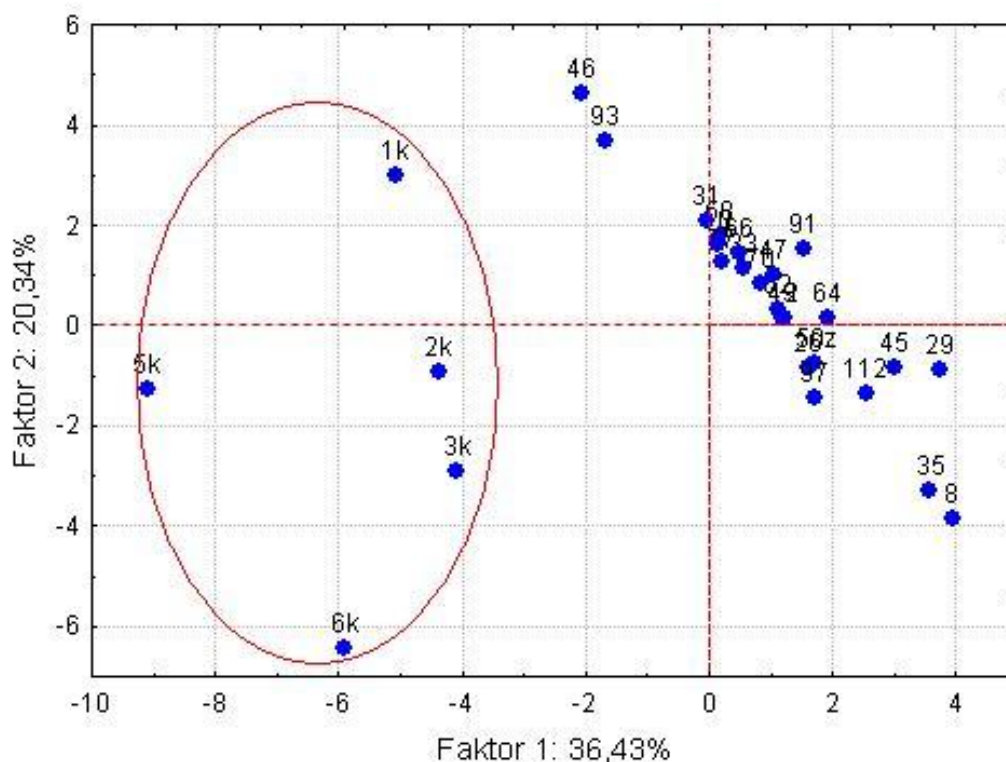
Obr. 5.18 Cattelův indexový graf úpatí vlastních čísel (určuje významnost komponent pro výchozí dosažení obsahu MK v $\mu\text{mol/l}$ ve frakci ECH)



Obr. 5.19 Graf komponentních vah – grafické zobrazení korelační matice pro frakci ECH



Obr. 5.20 Výřez grafu komponentních vah pro frakci ECH



Obr. 5.21 Graf komponentního skóre pro frakci ECH

5.1.1.5.1. Interpretace grafického zobrazení dat

Hlavní tři komponenty v Cattellovém indexovém grafu pokrývají 60% celkových informací.

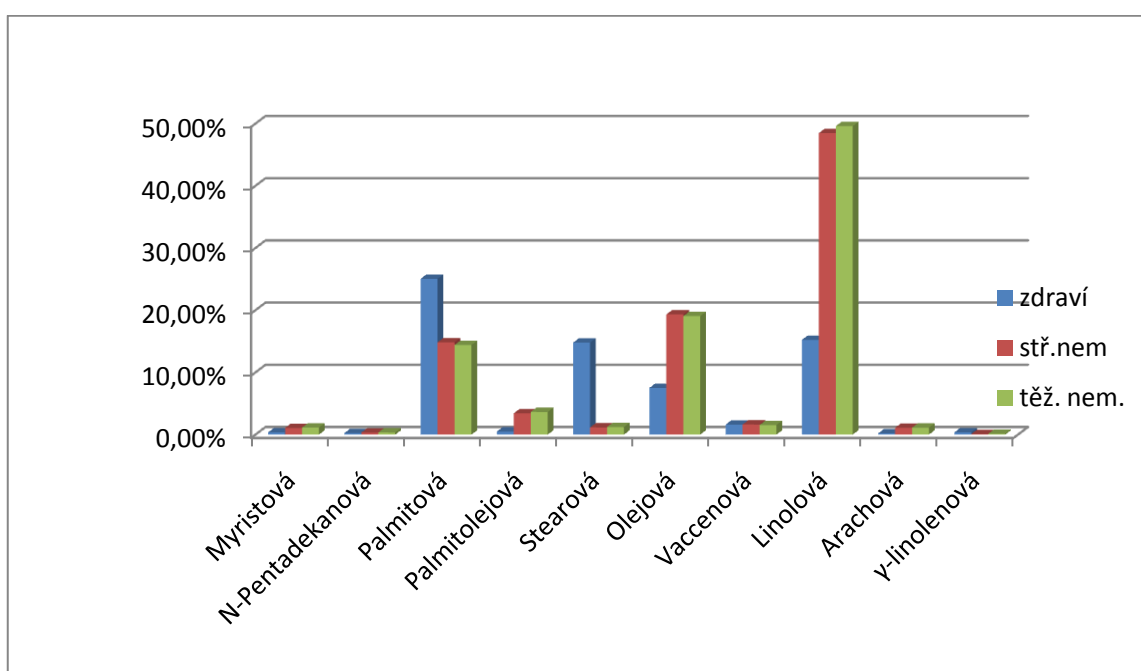
Celkové MK korelují pouze s Δ^5 desaturasou ($r = 0,2$) a negativně s glykovaným hemoglobinem ($r = -0,19$). Celkové MK se vyskytují ve shluku s většinou MK.

Glykovaný hemoglobin, AST, TAG a cholesterol mají velmi krátké průvodiče. Jejich korelace s MK ani s desaturasami a elongásou nejsou signifikantní.

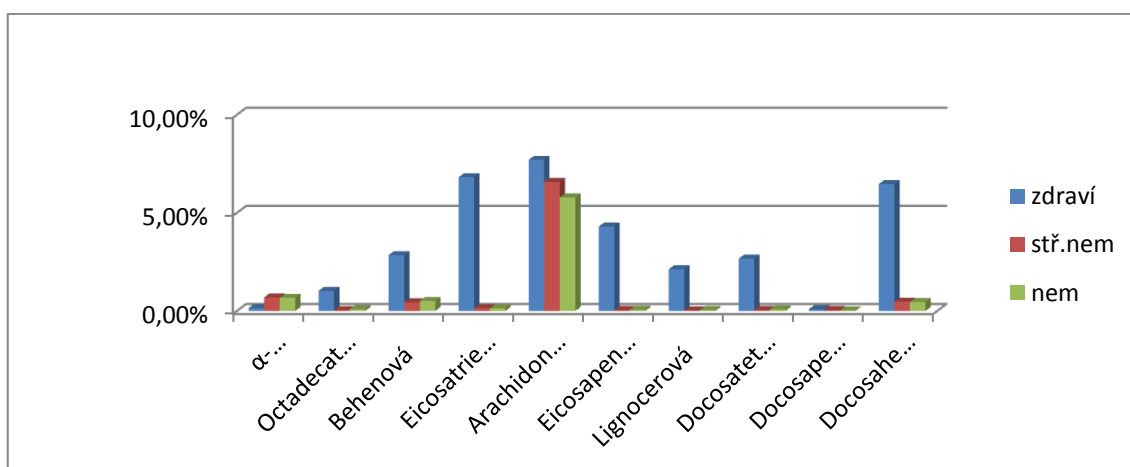
5.1.2. 2D grafy – obsah jednotlivých MK v závislosti na stupni onemocnění

Následující grafy jsou zpracované v programu Microsoft Office Excel. Zde sledujeme závislosti průměrných procentuálních zastoupení jednotlivých MK ve všech lipidových frakcích v závislosti na stupni onemocnění diabetes mellitus 2. typu. Jedinci byli rozděleni podle hodnoty glykovaného hemoglobinu na zdravé, středně nemocné a těžce nemocné.

5.1.2.1. Fosfolipidy

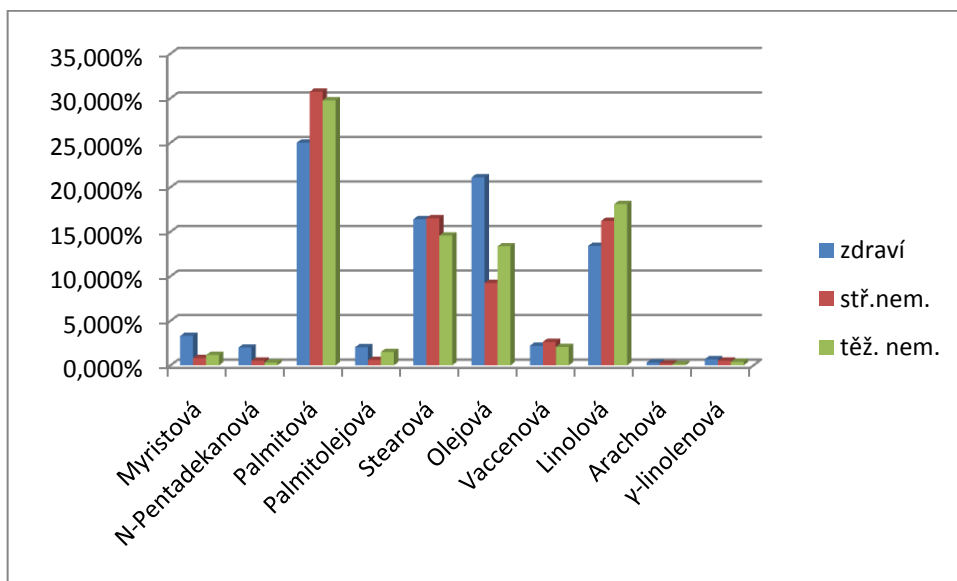


Obr. 5.22a Závislost obsahu MK v procentech na stupni onemocnění

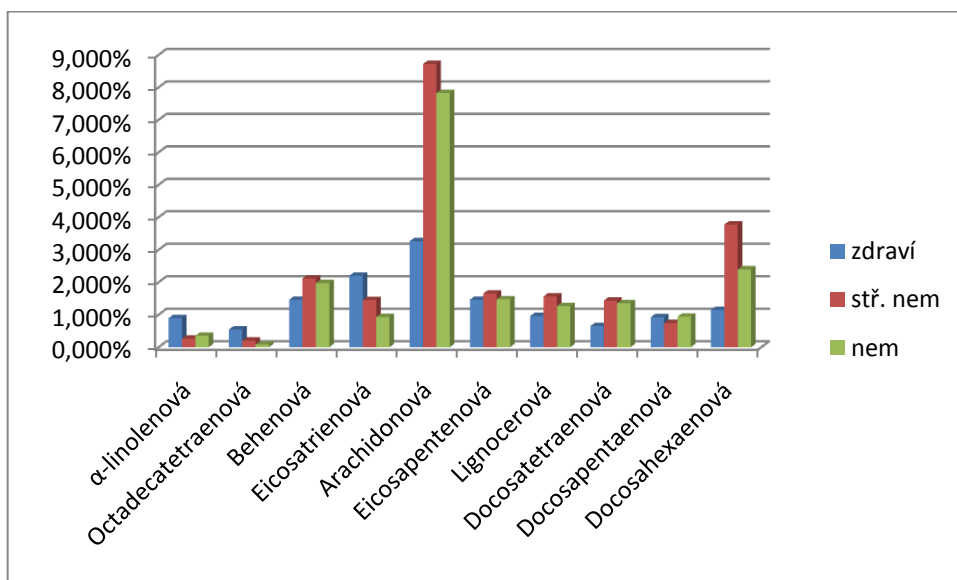


Obr. 5.22b Závislost obsahu MK v procentech na stupni onemocnění

5.1.2.2. Diacylglyceroly

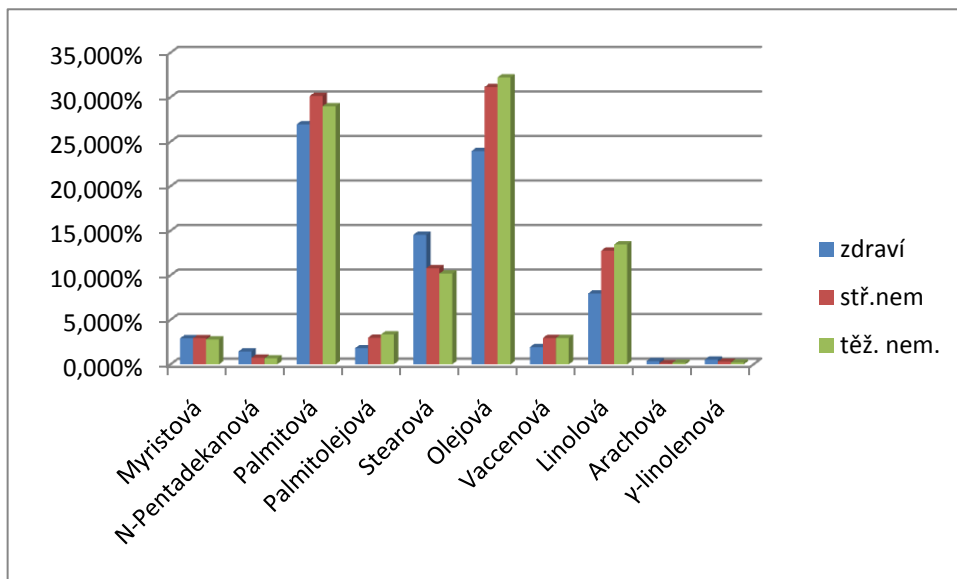


Obr. 5.23a Závislost obsahu MK v procentech na stupni onemocnění

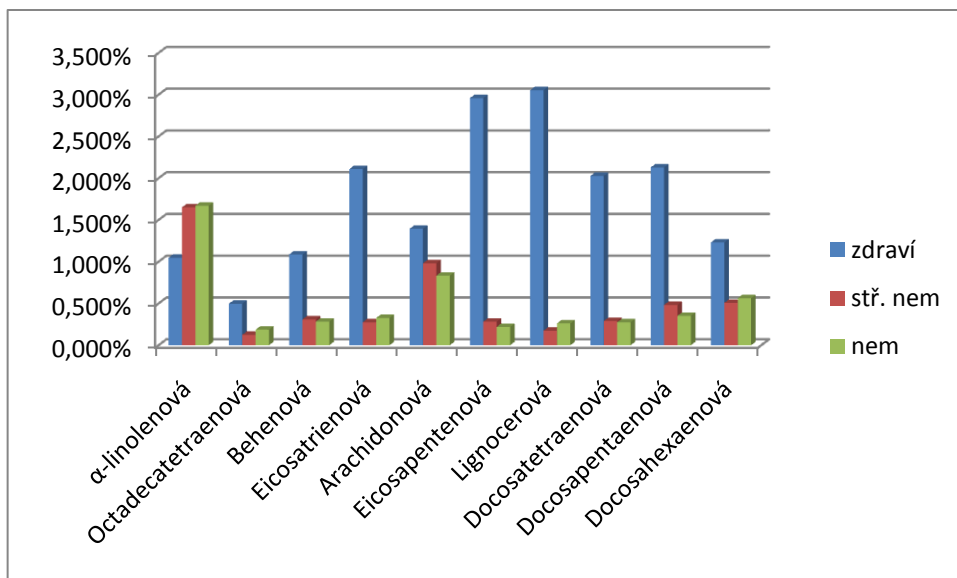


Obr. 5.23b Závislost obsahu MK v procentech na stupni onemocnění

5.1.2.3. Volné mastné kyseliny

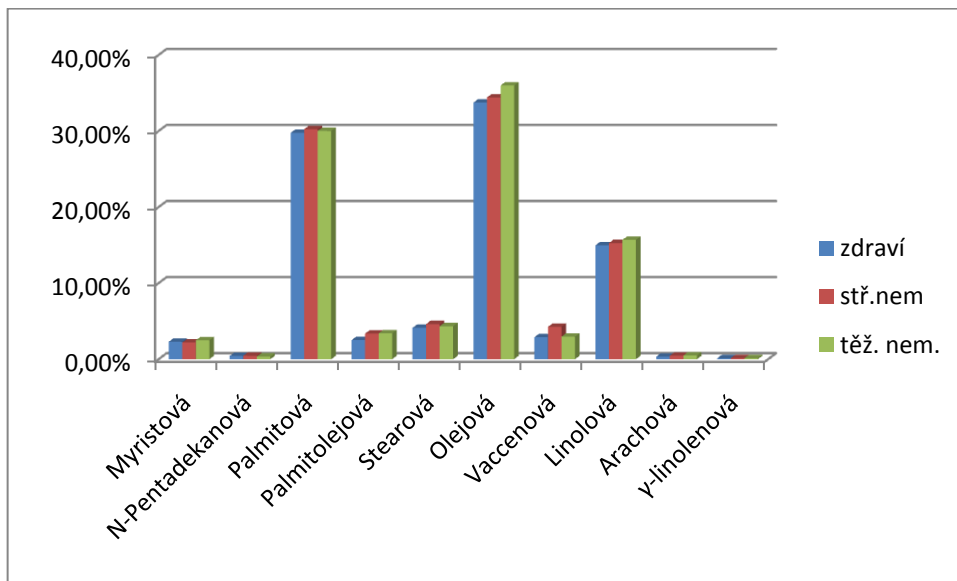


Obr. 5.24a Závislost obsahu MK v procentech na stupni onemocnění

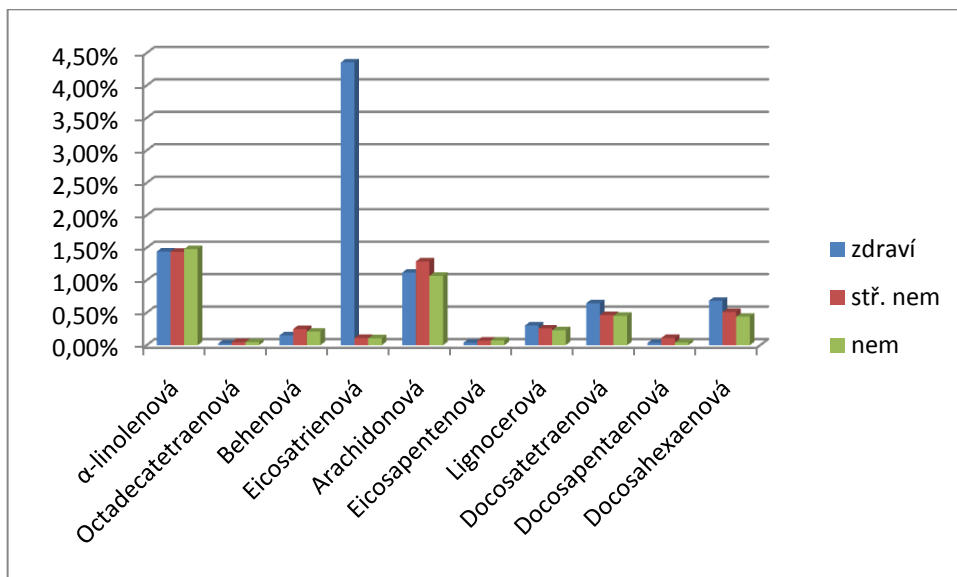


Obr. 5.24b Závislost obsahu MK v procentech na stupni onemocnění

5.1.2.4. Triacylglyceroly

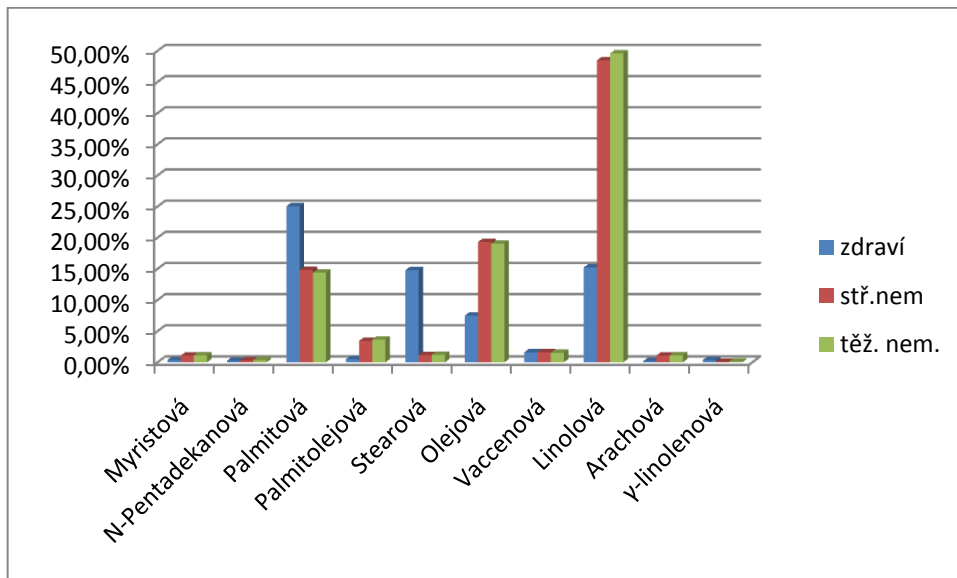


Obr. 5.25a Závislost obsahu MK v procentech na stupni onemocnění

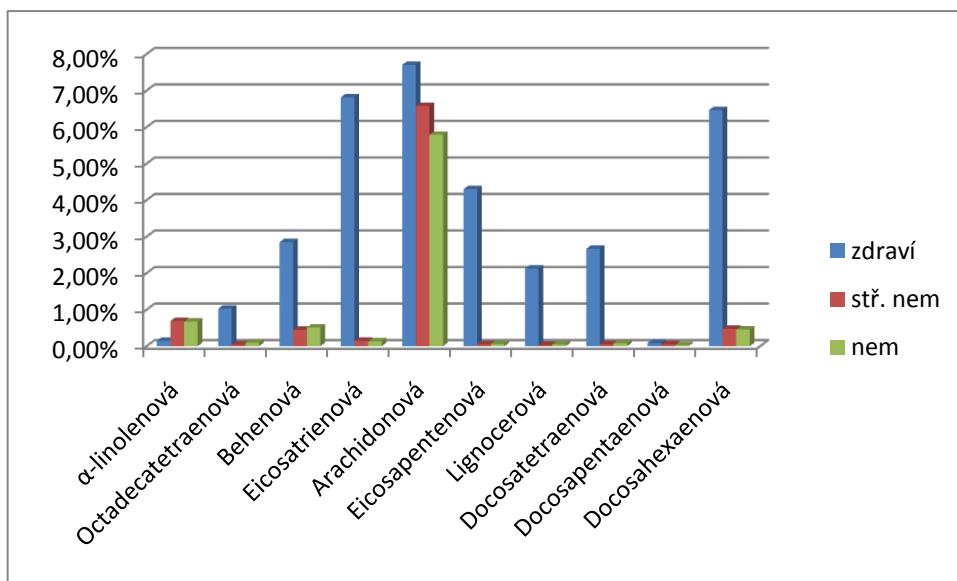


Obr. 5.25b Závislost obsahu MK v procentech na stupni onemocnění

5.1.2.5. Estery cholesterolu



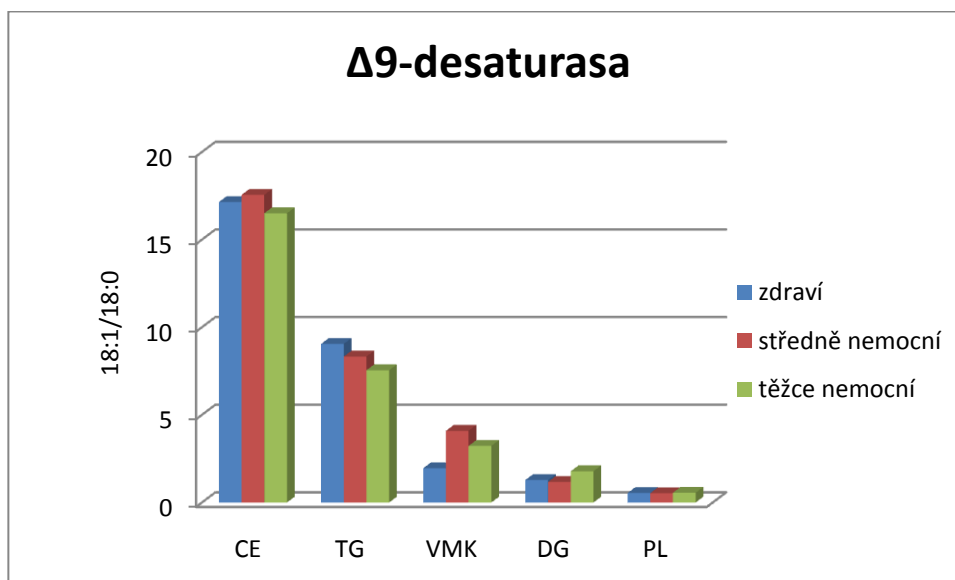
Obr. 5.26a Závislost obsahu MK v procentech na stupni onemocnění



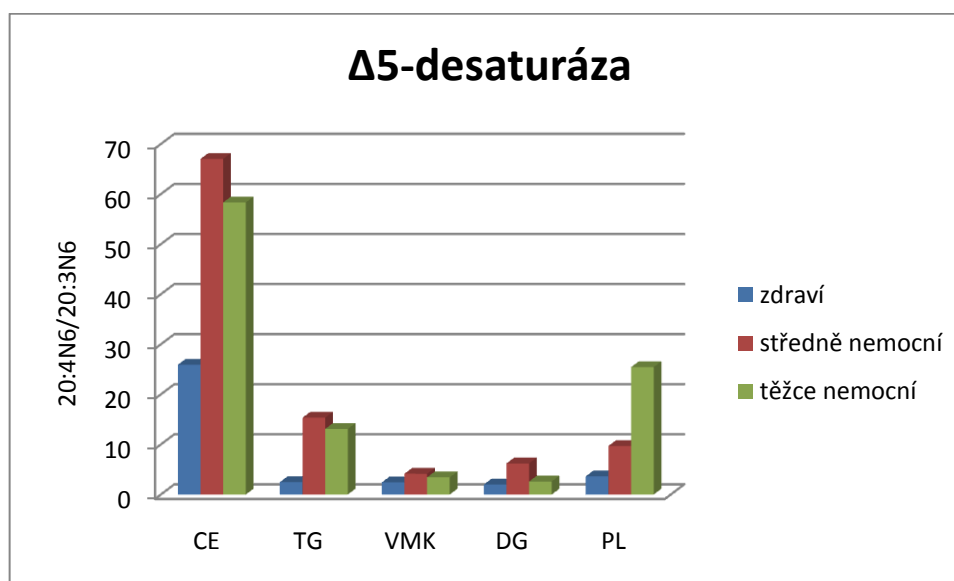
Obr. 5.26b Závislost obsahu MK v procentech na stupni onemocnění

5.1.3. D grafy – aktivity desaturas a elongasy v závislosti na stupni onemocnění

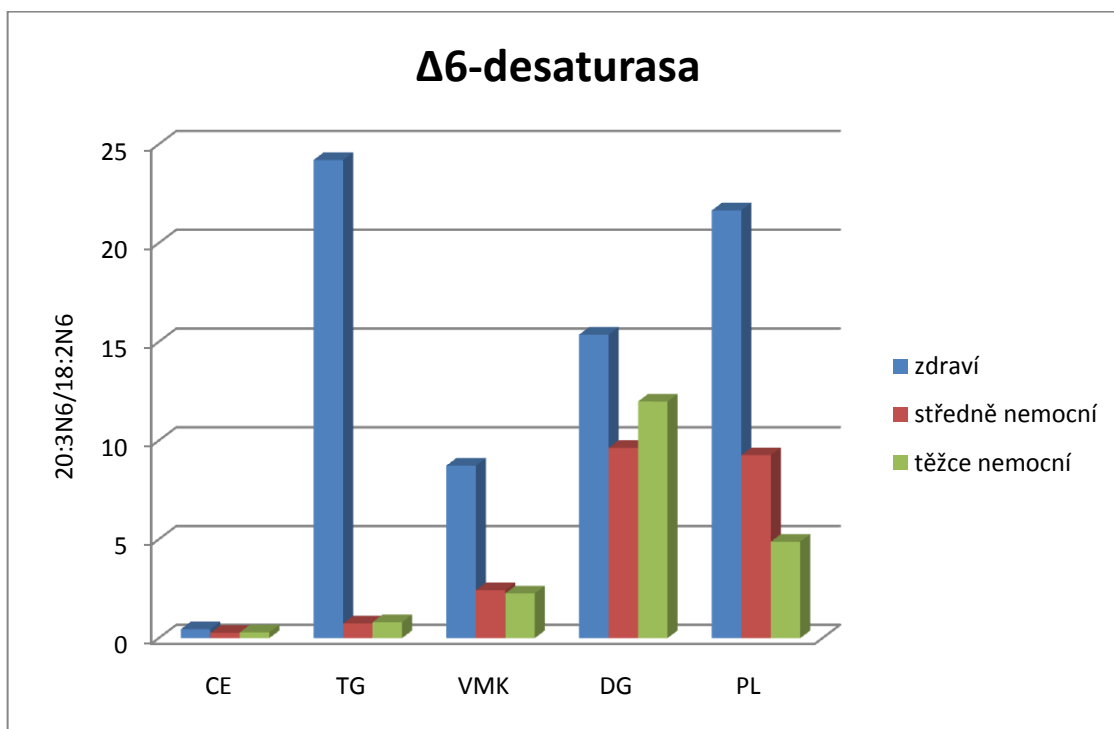
Následující grafy jsou zpracované opět v programu Microsoft Office Excel. Zde sledujeme závislosti aktivit desaturas a elongasy v závislosti na stupni onemocnění diabetes mellitus 2. typu. Jedinci byli rozděleni stejně jako u předchozích grafů podle hodnoty glykovaného hemoglobinu na zdravé, středně nemocné a těžce nemocné.



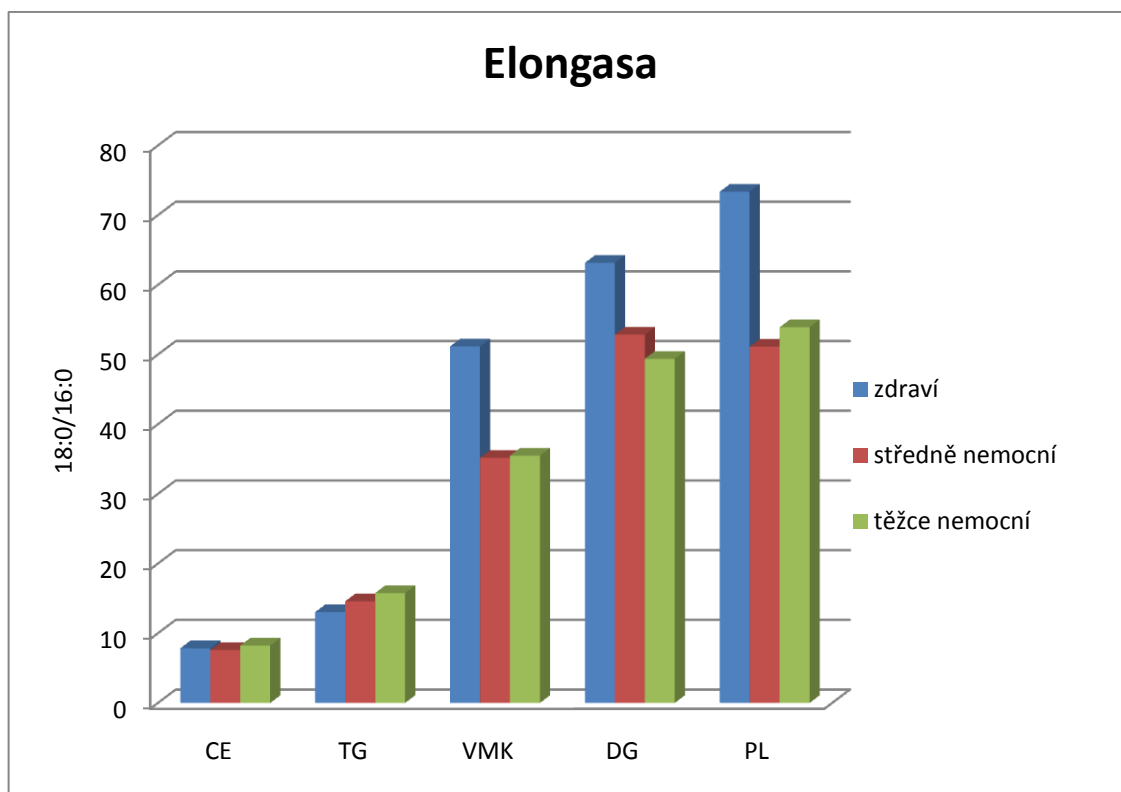
Obr. 5.27 Závislost aktivity 9-desaturasy na stupni onemocnění



Obr. 5.28 Závislost aktivity 5-desaturasy na stupni onemocnění



Obr. 5.29 Závislost aktivity 6-desaturasy na stupni onemocnění



Obr. 5.30 Závislost aktivity 9-desaturasy na stupni onemocnění

6. Diskuze

Diabetes mellitus 2. typu je velký medicínský, sociální a ekonomický problém v zemích s takzvaným západním životním stylem. Tento životní styl je charakteristický nízkou pohybovou aktivitou s postupným vznikem obezity a s ní spojených metabolických poruch, jako je např. diabetes mellitus 2. typu s následnými diabetickými komplikacemi, které vedou ke zkrácení života i zhoršení jeho kvality. Včasná diagnostika diabetu a prediabetu může zabránit vzniku těchto komplikací nebo je oddálit (Šálek, 2007). Prevalence diabetu se ve středoevropské populaci pohybuje v rozmezí 6 – 7,5 %. Až třetina nemocných však zůstává nediodagnostikována a v době záchytu onemocnění má téměř 20 % diabetiků již prokazatelné mikro- a makrovaskulární komplikace (Racek a kol., 2006).

Vzhledem k závažnosti onemocnění a téměř “pandemickému“ růstu počtu nemocných je nutné hledat nové markery včasné diagnostiky diabetes mellitus typu 2. S diabetem úzce souvisí metabolický syndrom, který je klinicky diiodagnostikován na základě souboru fenotypových projevů zahrnující abdominální obezitu, hypertriacylglycerolemii, nízký HDL cholesterol, hypertenzi, zvýšenou hladinu glukózy. Všechny tyto metabolické poruchy přispívají k rozvoji diabetu a kardiovaskulárních onemocnění (Flowers, 2009). Inzulínová rezistence postihuje hlavně obézní populaci, je často doprovázena dyslipidemií a je charakterizována sníženým využitím krevní glukózy. Svalové buňky nejsou pro využití glukózy z důvodu snížené citlivosti k inzulínu stimulovány a přecházejí na zpracování lipidů (Krauss, 2004, Varman, 2010). Dyslipidemie je charakteristická nejen zvýšenou hladinou TAG, vysokým LDL a nízkým HDL, ale je také charakteristická zvýšenou hodnotou volných mastných kyselin. Boden a Shulman popisují ve své práci z roku 2002 patofyziologické účinky zvýšené koncentrace VMK. Cusi (2009) popisuje cytotoxický vliv krevních nasycených volných mastných kyselin na pankreatické, svalové a jaterní buňky, a tento cytotoxický vliv je považován za hlavní příčinu vzniku metabolického syndromu a následných onemocnění jako je diabetes mellitus typu 2, kardiovaskulární choroby a zánětlivé procesy. Toto negativní působení nadbytku volných mastných kyselin je v současné době již kompenzováno léčbou antidiabetiky (troglitazony, pioglitazony, rosiglitazony, statiny, deriváty sulfonylurey, biguanidy, thiazolidiony, inhibitory alfa-glukosidasy) a tento fakt jsem v mé práci potvrdil. Nadbytek nasycených volných mastných kyselin u diabetiků v naší studii nebyl. Vícerozměrnou statistickou analýzou

jsem ale prokázal korelace volných mastných kyselin s některými krevními hodnotami, hodnota celkových volných mastných kyselin pozitivně koreluje s aktivitou AST ($r = 0,37$), ve fosfolipidové frakci celkové mastné kyseliny pozitivně korelují s celkovým cholesterolem ($r = 0,3$), AST ($r = 0,26$) a TAG ($r = 0,2$). Obdobné pozitivní korelace těchto hodnot byly nalezeny rovněž v diacylglycerolové frakci.

U obézních osob se v adipocytech ukládá zvýšené množství nasycených mastných kyselin pocházejících z nadměrného příjmu potravy a z neolipogenezy. Společně s nadměrnou nevhodnou stravou obsahující živočišné a rostlinné tuky bohaté na nasycené mastné kyseliny dochází k růstu zastoupení nasycených mastných kyselin a k poklesu zastoupení nenasycených mastných kyselin. Tím dochází k podstatnému zvýšení tukových zásob, které je charakterizováno nevhodným složením ukládaného tuku. Ten je dále ochuzován o esenciální a polynenasycené kyseliny, které mají významné antidiabetické a kardioprotektivní účinky (Holeček, 2006). Výsledky experimentů dokazují, že snížením obsahu nasycených mastných kyselin včetně kyseliny palmitové (Stefan a kol., 2010) dochází ke snížení zániku β -buněk pankreatu. Bylo zjištěno, že se zvyšujícím se obsahem jaterního tuku klesá obsah polynenasycených mastných kyselin v jaterních TAG u jedinců s normální hmotností vs. u obézních, konkrétně kyseliny arachidonové (z 0,6% na 0,2%) (Kurfürstová, 2011). Podobný trend jsem prokázal u studovaných diabetiků. Koncentrace esenciálních kyselin je regulována jaterními enzymy a to $\Delta 6$ -desaturázou (C20:3N6/C18:2N6) a $\Delta 5$ -desaturázou (C20:4N6/C20:3N6). Zjistil jsem, že aktivita $\Delta 6$ -desaturázy a elongázy je ve všech lipidových frakcích diabetiků podstatně snížena, což se projevilo ve významném snížení všech vyšších polynenasycených mastných kyselin od C18:4 až k C22:5. Tento deficit vede zcela jednoznačně ke snížené produkci eikosanů, tromboxanů, prostaglandinů a protizánětlivých faktorů, které se podílejí na progresi patofyziologických následků metabolických poruch u diabetu a kardiovaskulárních chorob (Holeček, 2006). Tento trend byl pozorován i u dřívějších studií u diabetiků (Nevařilová, 2010), a projevoval se ve frakci VLDL (která je produkována játry) i ve frakci LDL, kde došlo ke snížení obsahu arachidonové kyseliny (VLDL ze 2,5% na 1%; LDL ze 7,5% na 2% u kompenzovaných, u nekompenzovaných byl pokles v LDL téměř až k 0,3%).

Závěrem je možno konstatovat, že u studovaných léčených skupin diabetiků nebyla prokázána zvýšená hladina volných mastných kyselin, která je nepochybně snižována účinnou léčbou antidiabetiky. Byl ale prokázán inhibiční vliv na enzymy

lipidového metabolismu, který prozatím nejsem schopen vysvětlit. Je možné, že to je vedlejší účinek působení antidiabetických léčiv, případně vliv dlouhodobého ukládání nasycených mastných kyselin v tukové tkáni. Snížení aktivity $\Delta 6$ -desaturasy u pacientů s diabetem je největší a snížení obsahu polynenasycených mastných kyselin je také zcela zřetelné. Tyto výsledky budou dále studovány a diskutovány.

7. Závěr

Cílem studie bylo hledání nových markerů včasné diagnostiky onemocnění diabetes mellitus typu 2. K tomu bylo použito 23 anonymních vzorků plazmy náhodně vybraných pacientů s diagnózou zmíněného onemocnění, které jsme rozdělili podle hladin glykovaného hemoglobinu na středně nemocné a těžce nemocné. Pro srovnání dále byly použity vzorky plazmy 5 zdravých dárců krve. Všechny vzorky byly zpracovány metodou tenkovrstvé chromatografie a plynovou chromatografií.

Získaná data, týkající se složení mastných kyselin v jednotlivých lipidových frakcích plazmy, byla statisticky zpracována pomocí vícerozměrných průzkumových technik, které byly doplněné 2D grafy vytvořenými v Microsoft Office Excel. Těmito technikami byly sledovány signifikantní korelace, které měly biologický význam a které by mohly přispět k rozšíření poznatků v problematice diagnózy diabetu 2. typu.

Bylo zjištěno výrazné snížení aktivity $\Delta 6$ -desaturázy a obsahu polynenasycených mastných kyselin ve všech lipidových frakcích plazmy diabetiků typu 2 v závislosti na koncentraci glykovaného hemoglobinu, a tedy v souvislosti se závažností diabetické metabolické poruchy. Je možné, že to je vedlejší účinek působení antidiabetických léčiv, případně vliv dlouhodobého ukládání nasycených mastných kyselin v tukové tkáni. Ze zpracovaných dat vyplývá, že u studovaných středně nemocných a těžce nemocných diabetiků se neprojevila zvýšená hladina volných mastných kyselin, ani zvýšený obsah nasycených mastných kyselin. Možným vysvětlením je, že tyto hodnoty jsou ovlivněné účinnou léčbou antidiabetiky. Tyto závěry budou předmětem dalších studií.

8. Literatura

- **Boden, G., Shulman, G. I.** Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and β -cell dysfunction. *European Journal of Clinical Investigation*. 32(3):14-23, 2002.
- **Ehrmann, J., Hůlek, P a kol.** *Hepatologie*. Grada Publishing, a.s., 2010, s. 31-33, ISBN 978-80-247-3118-6.
- **Flowers, M. T.** The $\Delta 9$ Fatty Acid Desaturation Index as a Predictor of Metabolic disease. *Clinical Chemistry*, 55(12): 2071 – 2073 (2009).
- **Garrett, R., Grisham, M.** *Biochemistry*. Mary Finch, Boston, USA, 2010, s. 799, ISBN 0-495-10935-5.
- **Hames, B. D., Hooper, N. M.** *Biochemistry*. Taylor & Francis Group, s. 357, ISBN: 0-4153-6778-6.
- **Hang Shi, Kokoeva, V., et. al.** TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J Clin Invest*. 116(11): 3015–3025, 2006.
- **Holeček, M.** *Regulace metabolismu cukrů, tuků, bílkovin a aminokyselin*, Grada Publishing, a.s., Praha, 2006, s. 119, ISBN 978-80-247-1562-9.
- **Hulín, I. a kol.** *Patofyziológia*. Slovak Academic press, 1998, s. 907, ISBN 80-88908-07-8.
- **Champe, P., Harvey, R. A., Ferrier, D. R.** *Biochemistry*. Lippincott Williams & Wilkins, s. 184, 2005.
- **Kealey, D., Haines, P. J.** *Analytical chemistry*. Taylor & Francis e-Library, s. 144-147, ISBN 0-203-64544-8.
- **Klouda, P.** *Moderní analytické metody*. Nakladatel: Pavel Klouda, Ostrava, s. 10-25, ISBN 80-86369-07-2.
- **Krauss, R. M.** Lipids and lipoproteins in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 27: 1496-1504, 2004.
- **Lionetti, L., Mollica, M. P., et. al.** From chronic overnutrition to insulin resistance: the role of fat-storing capacity and inflammation. *NMCD*. 19(2): 146-152, 2009.
- **Litwack, G. a kol.** *Human biochemistry and disease*. Academic Press, California, USA, 2008, s. 141, ISBN 978-0-12-452815-4.

- **Matouš, M. a kol.** Základy lékařské chemie a biochemie, Galén, 2010, s. 59-70, ISBN 978-80-7262-702-8.
- **Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A. a kol.** Harperova biochemie. 4. vydání Jinočany: Nakladatelství a vydavatelství H&H, 2002, s. 148-160. ISBN 80-7319-013-3.
- **Pelikánová, T., Bartoš, V.** Praktická diabetologie. Maxdorf, 2010, s. 35-37, 106-107, ISBN: 978-80-7345-216-2.
- **Racek, J. a kol.** Klinická biochemie. 2. vydání, Praha 2006 : Nakladatelství Galén, s. 173-176. ISBN 80-7262-324-9.
- **Rybka, J.,** Diabetes mellitus – komplikace a přidružená onemocnění. Grada Publishing, a.s., Praha, 2007, s. 23, ISBN 978-80-247-1671-8.
- **Stefan, N., Kantartzis, K., Celebi, N. a kol.** Circulating Palmitoleate Strongly and Independently Predicts Insulin Sensitivity in Humans. Diabetes Care, 2010, 33(2): 404
- **Svačina, Š. a kol.** Klinická dietologie. Grada publishing a.s., Praha, 2008. ISBN: 978-80-247-2256-6.
- **Šálek, T.** Laboratorní diagnostika diabetes mellitus a diabetické nefropatie, Med pro praxi 2007; 4(9): 369-370
- **Trojan, S., Langmeier, M. a kol.** Lékařská fyziologie. 4. přepracované vydání. Grada Publishing, a.s., 2003, s. 414-415, ISBN 80-247-0512-5.
- **Vlček, J., Fialová, D.** Klinická Farmacie I. Grada Publishing, a.s., Praha, 2010, s. 190-191, ISBN 978-80247-3169-8.
- **Voet, D., Voetová, J.** Biochemie. Victoria Publishing, Praha, 1995, s. 297, ISBN 80-85605-44-9.
- **Vokurka, M., Hugo, J. a kol.** Velký lékařský slovník. Vydavatelství Maxdorf s.r.o. Praha, 2008, s. 214, 495. ISBN 978-80-7345-166-0.
- **Walker, S., McMahon, D.** Biochemistry Demystified. The McGraw-Hill Companies, USA, s. 95-96, ISBN 978-0-07-149599-1.
- **Zima, T.** Laboratorní diagnostika. Galén, Praha, 2002, s. 143-144, ISBN 80-7262-201-3.

9. Přílohy

9.1. Tabulky získaných dat

PL		1K	2K	3K	5K	6K
Kyselina		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Myristová	C14:0	0,96	3,62	2,79	1,23	3,85
N-Pentadekanová	C15:0	0,67	2,27	2,37	0,75	2,42
Palmitová	C16:0	50,40	191,54	283,73	89,51	317,35
Palmitoolejová	C16:1 N7	2,15	2,21	3,80	3,05	3,97
Stearová	C18:0	36,63	125,45	130,25	54,14	181,05
Olejová	C18:1 N9	12,01	47,03	81,79	68,05	70,24
Vacenová	C18:1 N7	2,44	9,08	18,22	14,33	16,80
Linolová	C18:2 N6	26,22	142,27	158,08	70,69	165,98
Arachová	C20:0	0,66	0,41	0,32	3,86	0,50
γ-Linolenová	C18:3 N6	0,70	3,14	2,87	1,41	5,00
Linolenová	C18:3 N3	0,30	1,81	1,74	0,15	1,31
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,15	0,10	0,13	37,22	0,09
Behenová	C22:0	10,18	19,10	8,32	21,37	34,23
Eikosatrienová	C20:3 N6	19,97	9,76	9,18	171,64	0,47
Arachidonová	C20:4 N6	14,54	61,34	84,12	17,44	115,92
Eikosapentaenová	C20:5 N3	16,02	12,74	10,14	73,94	18,34
Lignocerová	C 24:0	3,65	4,06	5,76	14,00	62,32
Dokosatetraenová	C22:4 N6	12,01	7,77	14,35	27,86	18,12
Dokosapentaenová	C22:5 N3	0,22	0,15	2,12	0,28	0,41
Dokosahexaenová	C22:6 N3	30,35	18,25	38,57	69,72	31,80
Celkem		240,24	662,09	858,63	740,66	1050,16
Enzym						
9-desaturáza	18:1/18:0	0,33	0,37	0,63	1,26	0,39
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	4,26	1,15	1,34	3,41	1,25
elongáza x 100	18:0/16:0	72,68	65,49	45,91	60,48	57,05
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	0,73	6,28	9,16	0,10	246,74
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	76,18	6,86	5,81	242,80	0,28
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	0,40	0,46	0,77	1,53	0,47

Tabulka 9.1: Koncentrace MK ve frakci PL – zdraví dárce

DG		1K	2K	3K	5K	6K
Kyselina		$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$
Myristová	C14:0	1,49	1,29	0,87	0,69	1,34
N-Pentadekanová	C15:0	0,76	0,73	0,71	0,52	0,62
Palmitová	C16:0	8,63	8,87	8,19	5,61	11,59
Palmitoolejová	C16:1 N7	1,06	0,72	0,74	0,37	0,61
Stearová	C18:0	5,43	5,26	5,14	4,31	7,64
Olejová	C18:1 N9	9,93	8,20	7,42	4,10	6,59
Vacenová	C18:1 N7	0,97	0,84	0,77	0,31	1,00
Linolová	C18:2 N6	4,31	5,36	4,69	3,31	5,01
Arachová	C20:0	0,10	0,12	0,09	0,07	0,15
γ -Linolenová	C18:3 N6	0,26	0,24	0,19	0,15	0,37
Linolenová	C18:3 N3	0,34	0,43	0,22	0,21	0,32
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,26	0,08	0,24	0,15	0,18
Behenová	C22:0	0,41	0,54	0,52	0,35	0,67
Eikosatrienová	C20:3 N6	1,03	0,77	0,76	0,58	0,53
Arachidonová	C20:4 N6	0,51	1,20	1,41	0,74	1,72
Eikosapentaenová	C20:5 N3	0,39	0,45	0,52	0,42	0,67
Lignocerová	C 24:0	0,18	0,09	0,17	0,34	0,85
Dokosatetraenová	C22:4 N6	0,34	0,21	0,19	0,17	0,18
Dokosapentaenová	C22:5 N3	0,26	0,07	0,68	0,19	0,37
Dokosahexaenová	C22:6 N3	0,35	0,42	0,53	0,21	0,46
Celkem		37,03	35,93	34,03	22,78	40,88
Enzym						
9-desaturáza	18:1/18:0	1,83	1,56	1,44	0,95	0,86
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	12,27	8,14	9,03	6,52	5,30
elongáza x 100	18:0/16:0	62,94	59,25	62,74	76,83	65,97
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	0,49	1,56	1,85	1,28	3,24
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	23,97	14,36	16,25	17,50	10,60
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	2,23	1,90	1,76	1,16	1,05

Tabulka 9.2: Koncentrace MK v DG frakci – zdraví dárce

VMK		1K	2K	3K	5K	6K
Kyselina		$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$
Myristová	C14:0	3,62	8,39	2,58	2,72	8,55
N-Pentadekanová	C15:0	0,98	14,37	1,00	1,69	2,77
Palmitová	C16:0	26,19	50,06	30,31	26,67	92,47
Palmitoolejová	C16:1 N7	1,34	9,62	2,03	1,47	6,03
Stearová	C18:0	14,45	26,34	17,14	16,99	39,85
Olejová	C18:1 N9	17,62	48,38	30,85	28,30	77,13
Vacenová	C18:1 N7	1,42	7,00	2,38	1,86	6,57
Linolová	C18:2 N6	6,64	20,53	9,14	10,57	20,90
Arachová	C20:0	0,07	8,93	0,18	0,14	0,20
γ -Linolenová	C18:3 N6	0,33	8,50	0,37	0,35	0,52
Linolenová	C18:3 N3	0,80	10,47	0,82	0,97	2,08
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,13	11,96	0,25	0,18	0,20
Behenová	C22:0	0,35	27,70	0,38	0,18	0,58
Eikosatrienová	C20:3 N6	0,88	52,32	0,84	0,57	0,17
Arachidonová	C20:4 N6	0,64	25,49	1,03	0,59	1,72
Eikosapentaenová	C20:5 N3	0,26	90,95	0,30	0,24	0,40
Lignocerová	C 24:0	0,21	95,70	0,22	0,18	0,32
Dokosatetraenová	C22:4 N6	0,17	60,29	0,25	0,34	0,50
Dokosapentaenová	C22:5 N3	0,17	57,21	0,95	0,68	0,32
Dokosahexaenová	C22:6 N3	0,53	27,20	0,55	0,49	0,78
Celkem		76,80	661,40	101,55	95,20	262,06
Enzym						
9-desaturáza	18:1/18:0	1,22	1,84	1,80	1,67	1,94
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	5,13	19,22	6,71	5,52	6,52
elongáza x 100	18:0/16:0	55,17	52,62	56,56	63,69	43,10
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	0,73	0,49	1,22	1,03	10,43
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	13,19	254,87	9,24	5,42	0,79
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	1,49	2,24	2,20	2,03	2,36

Tabulka 9.3: Koncentrace VMK – zdraví dárce

TG		1K	2K	3K	5K	6K
Kyselina		$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$
Myristová	C14:0	64,70	38,35	19,88	10,81	13,99
N-Pentadekanová	C15:0	8,83	6,90	4,51	2,37	3,07
Palmitová	C16:0	648,45	390,08	328,38	185,94	217,84
Palmitoolejová	C16:1 N7	69,61	39,91	1,31	17,10	25,41
Stearová	C18:0	97,61	55,44	47,71	26,17	24,88
Olejová	C18:1 N9	658,32	435,08	381,14	237,82	245,69
Vacenová	C18:1 N7	56,85	36,87	32,53	18,47	23,21
Linolová	C18:2 N6	277,92	214,02	147,13	134,73	88,33
Arachová	C20:0	5,58	3,88	3,03	3,38	2,84
γ -Linolenová	C18:3 N6	2,27	1,82	1,60	1,29	0,74
Linolenová	C18:3 N3	29,78	24,99	13,19	11,31	7,41
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,20	0,27	0,58	0,12	0,21
Behenová	C22:0	3,56	2,79	0,91	1,18	0,86
Eikosatrienová	C20:3 N6	27,12	33,71	56,00	56,71	34,49
Arachidonová	C20:4 N6	17,02	13,34	13,42	6,57	11,19
Eikosapentaenová	C20:5 N3	0,72	0,42	0,58	0,27	0,24
Lignocerová	C 24:0	3,79	3,14	2,94	3,32	2,55
Dokosatetraenová	C22:4 N6	10,64	6,23	8,73	4,10	6,06
Dokosapentaenová	C22:5 N3	0,19	0,20	0,87	0,09	0,41
Dokosahexaenová	C22:6 N3	17,47	5,99	12,25	3,09	3,79
Celkem		2000,62	1313,41	1076,71	724,84	713,21
Enzym						
9-desaturáza	18:1/18:0	6,74	7,85	7,99	9,09	9,87
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	10,73	10,23	0,40	9,20	11,66
elongáza x 100	18:0/16:0	15,05	14,21	14,53	14,07	11,42
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	0,63	0,40	0,24	0,12	0,32
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	9,76	15,75	38,06	42,09	39,05
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	8,23	9,58	9,75	11,09	12,05

Tabulka 9.4: Koncentrace MK v TAG frakci – zdraví dárce

CE		1K	2K	3K	5K	6K
Kyselina		$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$
Myristová	C14:0	11,83	14,59	11,36	10,04	14,13
N-Pentadekanová	C15:0	4,64	4,75	5,54	6,14	4,17
Palmitová	C16:0	131,55	149,69	212,46	168,33	206,76
Palmitoolejová	C16:1 N7	34,69	27,29	39,68	24,17	42,81
Stearová	C18:0	10,27	14,00	13,09	13,40	16,67
Olejová	C18:1 N9	170,93	185,74	281,30	209,66	255,02
Vacenová	C18:1 N7	13,93	13,35	32,03	17,44	24,65
Linolová	C18:2 N6	452,54	690,08	735,19	782,29	644,06
Arachová	C20:0	11,68	10,53	5,48	9,92	12,16
γ -Linolenová	C18:3 N6	0,91	1,57	0,96	1,71	0,80
Linolenová	C18:3 N3	8,12	12,51	10,33	10,45	6,62
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,19	0,55	0,29	0,09	0,12
Behenová	C22:0	6,04	7,35	3,62	6,75	8,82
Eikosatrienová	C20:3 N6	2,30	2,80	3,99	3,90	2,98
Arachidonová	C20:4 N6	57,07	66,74	102,45	72,28	113,19
Eikosapentaenová	C20:5 N3	0,33	0,45	0,22	0,44	0,32
Lignocerová	C 24:0	0,10	0,41	0,32	0,26	0,34
Dokosatetraenová	C22:4 N6	0,36	0,42	0,53	0,67	0,62
Dokosapentaenová	C22:5 N3	0,13	0,25	0,96	1,30	0,14
Dokosahexaenová	C22:6 N3	6,42	4,56	9,69	5,54	6,68
Celkem		924,02	1207,64	1469,50	1344,79	1361,07
Enzym						
9-desaturáza	18:1/18:0	16,64	13,27	21,49	15,64	15,30
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	26,37	18,23	18,68	14,36	20,70
elongáza x 100	18:0/16:0	7,81	9,35	6,16	7,96	8,06
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	24,76	23,87	25,69	18,55	37,98
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	0,51	0,41	0,54	0,50	0,46
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	20,31	16,20	26,23	19,09	18,67

Tabulka 9.5: Koncentrace MK v CE frakci – zdraví dárce

PL		33	66	70	91	97
Kyselina		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Myristová	C14:0	3,21	3,09	3,87	3,38	7,18
N-Pentadekanová	C15:0	2,18	2,17	1,83	1,95	3,37
Palmitová	C16:0	253,86	331,98	263,33	299,20	453,52
Palmitoolejová	C16:1 N7	4,99	4,72	3,17	8,59	8,01
Stearová	C18:0	126,42	135,23	123,62	147,34	273,72
Olejová	C18:1 N9	60,43	72,14	78,13	112,05	107,38
Vacenová	C18:1 N7	15,18	17,56	11,62	16,28	27,42
Linolová	C18:2 N6	181,50	179,49	152,36	118,65	247,79
Arachová	C20:0	0,60	0,30	0,96	2,12	1,38
γ-Linolenová	C18:3 N6	3,08	2,78	4,22	3,88	8,10
Linolenová	C18:3 N3	1,38	1,14	1,21	1,94	4,60
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,32	0,34	0,21	0,21	0,23
Behenová	C22:0	18,23	14,41	12,18	17,85	45,56
Eikosatrienová	C20:3 N6	7,97	5,99	10,82	7,53	13,78
Arachidonová	C20:4 N6	76,99	61,53	71,56	79,17	169,52
Eikosapentaenová	C20:5 N3	11,50	10,33	11,42	12,09	20,89
Lignocerová	C 24:0	16,10	4,19	3,89	5,20	9,19
Dokosatetraenová	C22:4 N6	7,94	6,39	8,22	8,31	20,06
Dokosapentaenová	C22:5 N3	1,42	0,23	0,18	0,49	0,34
Dokosahexaenová	C22:6 N3	22,77	9,50	18,12	15,77	45,05
Celkem		816,07	863,52	780,92	862,00	1467,09
Enzym						
9-desaturáza	18:1/18:0	0,48	0,53	0,63	0,76	0,39
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	1,96	1,42	1,21	2,87	1,77
elongáza x 100	18:0/16:0	49,80	40,74	46,94	49,25	60,35
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	9,67	10,28	6,62	10,52	12,30
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	4,39	3,34	7,10	6,34	5,56
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	0,58	0,71	0,77	0,93	0,48

Tabulka 9.6a: Koncentrace MK ve frakci PL – středně nemocní

PL		26	50	58	62	93
Kyselina		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Myristová	C14:0	4,34	4,67	4,52	9,01	7,65
N-Pentadekanová	C15:0	3,64	3,03	2,75	4,88	2,82
Palmitová	C16:0	437,34	460,76	309,12	649,33	719,52
Palmitoolejová	C16:1 N7	5,21	5,69	5,11	0,91	11,20
Stearová	C18:0	298,45	227,51	168,30	324,66	295,90
Olejová	C18:1 N9	134,20	121,07	75,10	113,19	175,90
Vacenová	C18:1 N7	30,59	25,06	18,89	24,09	37,33
Linolová	C18:2 N6	317,51	289,67	165,64	249,25	312,55
Arachová	C20:0	0,82	0,68	0,78	1,27	0,93
γ-Linolenová	C18:3 N6	7,13	4,34	5,86	10,06	7,51
Linolenová	C18:3 N3	3,46	1,94	1,88	2,67	2,07
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,56	0,13	0,39	0,68	0,45
Behenová	C22:0	31,69	26,85	19,30	29,23	52,41
Eikosatrienová	C20:3 N6	12,31	9,76	12,70	26,26	16,07
Arachidonová	C20:4 N6	160,38	148,75	101,83	125,16	238,70
Eikosapentaenová	C20:5 N3	18,34	12,97	13,83	35,78	27,16
Lignocerová	C 24:0	57,68	7,55	5,30	40,53	11,51
Dokosatetraenová	C22:4 N6	18,05	16,23	11,25	14,00	10,36
Dokosapentaenová	C22:5 N3	2,30	0,34	0,20	0,69	2,58
Dokosahexaenová	C22:6 N3	53,18	50,02	40,83	39,29	69,28
Celkem		1597,19	1417,02	963,59	1700,93	2001,91
Enzym						
9-desaturáza	18:1/18:0	0,45	0,53	0,45	0,35	0,59
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	1,19	1,24	1,65	0,14	1,56
elongáza x 100	18:0/16:0	68,24	49,38	54,45	50,00	41,12
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	13,02	15,23	8,02	4,77	14,85
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	3,88	3,37	7,67	10,54	5,14
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	0,55	0,65	0,54	0,43	0,73

Tabulka 9.6b: Koncentrace MK ve frakci PL – středně nemocní

PL		45	49	77	97
Kyselina		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Myristová	C14:0	1,54	5,74	2,84	2,53
N-Pentadekanová	C15:0	0,91	3,17	2,01	0,99
Palmitová	C16:0	107,84	498,08	234,16	11,08
Palmitoolejová	C16:1 N7	2,01	5,89	3,41	0,86
Stearová	C18:0	46,83	291,02	112,49	6,73
Olejová	C18:1 N9	33,33	137,48	73,46	6,86
Vacenová	C18:1 N7	5,07	26,01	12,25	0,97
Linolová	C18:2 N6	56,99	298,05	124,90	5,79
Arachová	C20:0	5,08	1,40	0,70	0,18
γ-Linolenová	C18:3 N6	1,33	6,12	2,98	0,38
Linolenová	C18:3 N3	0,64	7,18	1,56	0,36
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,25	0,22	0,25	0,25
Behenová	C22:0	23,48	18,72	12,25	0,95
Eikosatrienová	C20:3 N6	29,95	32,60	10,78	0,64
Arachidonová	C20:4 N6	26,93	176,49	63,69	1,93
Eikosapentaenová	C20:5 N3	20,93	13,70	11,68	0,81
Lignocerová	C 24:0	65,13	8,04	3,55	0,76
Dokosatetraenová	C22:4 N6	19,85	26,01	10,04	0,40
Dokosapentaenová	C22:5 N3	0,26	0,19	0,47	0,35
Dokosaheptaenová	C22:6 N3	45,54	53,48	19,87	0,45
Celkem		493,90	1609,60	703,34	43,27
Enzym					
9-desaturáza	18:1/18:0	0,71	0,47	0,65	1,02
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	1,87	1,18	1,46	7,79
elongáza x 100	18:0/16:0	43,42	58,43	48,04	60,72
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	0,90	5,41	5,91	3,00
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	52,56	10,94	8,63	11,11
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	0,87	0,58	0,80	1,24

Tabulka 9.6c: Koncentrace MK ve frakci PL – středně nemocní

DG		33	66	70	91
Kyselina		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Myristová	C14:0	0,74	1,54	0,59	4,48
N-Pentadekanová	C15:0	0,46	0,75	0,33	2,72
Palmitová	C16:0	6,30	15,26	6,36	69,35
Palmitoolejová	C16:1 N7	0,55	0,52	0,33	2,89
Stearová	C18:0	3,47	9,05	4,33	38,21
Olejová	C18:1 N9	4,27	5,91	2,65	21,71
Vacenová	C18:1 N7	3,48	0,85	0,32	3,51
Linolová	C18:2 N6	3,39	5,30	2,15	30,61
Arachová	C20:0	0,14	0,23	0,24	0,31
γ-Linolenová	C18:3 N6	0,22	0,65	0,26	0,98
Linolenová	C18:3 N3	0,19	0,35	0,23	0,65
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,48	0,40	0,34	0,15
Behenová	C22:0	0,34	0,48	0,37	6,07
Eikosatrienová	C20:3 N6	0,73	0,51	0,31	1,97
Arachidonová	C20:4 N6	1,06	1,55	0,98	13,31
Eikosapentaenová	C20:5 N3	3,24	1,04	0,51	2,03
Lignocerová	C 24:0	0,52	0,36	0,27	0,79
Dokosatetraenová	C22:4 N6	2,02	1,99	0,42	1,53
Dokosapentaenová	C22:5 N3	4,67	1,56	1,56	0,22
Dokosaheptaenová	C22:6 N3	1,95	0,57	0,44	4,68
Celkem		38,24	48,87	22,99	206,16
Enzym					
9-desaturáza	18:1/18:0	1,23	0,65	0,61	0,57
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	8,79	3,39	5,15	4,16
elongáza x 100	18:0/16:0	55,17	59,26	67,97	55,09
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	1,46	3,03	3,12	6,77
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	21,41	9,64	14,55	6,42
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	1,54	0,79	0,87	0,69

Tabulka 9.7a: Koncentrace MK ve frakci DG – středně nemocní

DG		26	50	58	62	93
Kyselina		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Myristová	C14:0	3,06	1,77	1,98	5,13	3,03
N-Pentadekanová	C15:0	1,42	0,82	0,94	1,42	1,22
Palmitová	C16:0	24,93	14,80	9,87	33,09	23,39
Palmitoolejová	C16:1 N7	1,10	1,02	0,69	2,17	1,05
Stearová	C18:0	10,92	7,11	6,29	18,91	9,46
Olejová	C18:1 N9	22,79	13,77	6,55	8,15	9,95
Vacnová	C18:1 N7	2,15	1,48	0,82	1,60	1,37
Linolová	C18:2 N6	12,07	8,39	5,02	7,81	7,17
Arachová	C20:0	0,15	0,14	0,13	0,54	0,11
γ-Linolenová	C18:3 N6	0,59	0,35	0,33	1,13	0,43
Linolenová	C18:3 N3	0,56	0,41	0,23	0,47	0,24
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,12	0,18	0,18	0,61	0,15
Behenová	C22:0	1,46	0,61	0,62	1,50	0,47
Eikosatrienová	C20:3 N6	0,70	0,76	0,27	0,53	0,92
Arachidonová	C20:4 N6	4,53	1,59	1,36	1,78	2,45
Eikosapentaenová	C20:5 N3	1,17	0,59	0,66	2,74	1,16
Lignocerová	C 24:0	1,91	0,15	0,09	0,79	0,17
Dokosatetraenová	C22:4 N6	0,52	0,28	0,09	1,13	0,26
Dokosapentaenová	C22:5 N3	0,30	0,25	0,07	5,84	0,69
Dokosahexaenová	C22:6 N3	1,23	0,54	0,37	2,51	0,56
Celkem		91,68	55,01	36,53	97,86	64,28
Enzym						
9-desaturáza	18:1/18:0	2,09	1,94	1,04	0,43	1,05
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	4,40	6,88	6,97	6,56	4,51
elongáza x 100	18:0/16:0	43,78	48,01	63,75	57,15	40,44
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	6,46	2,09	5,10	3,36	2,67
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	5,80	9,05	5,32	6,78	12,79
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	2,55	2,37	1,27	0,53	1,28

Tabulka 9.7b: Koncentrace MK ve frakci DG – středně nemocní

DG		45	49	77
Kyselina		μmol/l	μmol/l	μmol/l
Myristová	C14:0	2,34	0,80	1,74
N-Pentadekanová	C15:0	1,13	0,75	1,34
Palmitová	C16:0	13,42	9,26	76,62
Palmitoolejová	C16:1 N7	1,34	0,54	1,48
Stearová	C18:0	6,61	4,75	36,09
Olejová	C18:1 N9	11,92	5,64	28,04
Vacnová	C18:1 N7	0,99	0,47	4,12
Linolová	C18:2 N6	6,05	5,77	38,70
Arachová	C20:0	0,50	0,14	0,27
γ-Linolenová	C18:3 N6	0,30	0,23	1,36
Linolenová	C18:3 N3	0,21	0,53	0,67
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,09	0,25	0,14
Behenová	C22:0	0,74	0,57	6,57
Eikosatrienová	C20:3 N6	0,56	0,39	0,45
Arachidonová	C20:4 N6	1,67	1,91	18,44
Eikosapentaenová	C20:5 N3	0,78	0,52	4,14
Lignocerová	C 24:0	0,08	0,12	0,63
Dokosatetraenová	C22:4 N6	0,18	0,40	2,79
Dokosapentaenová	C22:5 N3	0,08	0,20	0,15
Dokosahexaenová	C22:6 N3	0,38	0,38	5,61
Celkem		49,36	33,62	229,35
Enzym				
9-desaturáza	18:1/18:0	1,80	1,19	0,78
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	10,01	5,80	1,93
elongáza x 100	18:0/16:0	49,24	51,32	47,09
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	2,98	4,87	40,80
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	9,27	6,79	1,17
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	2,20	1,45	0,95

Tabulka 9.7c: Koncentrace MK ve frakci DG – středně nemocní

VMK		33	66	70	91	97
Kyselina		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Myristová	C14:0	10,88	2,71	2,30	3,68	8,89
N-Pentadekanová	C15:0	1,86	0,68	0,76	0,66	1,53
Palmitová	C16:0	98,95	24,19	32,48	45,17	84,57
Palmitoolejová	C16:1 N7	19,47	0,70	1,65	6,71	12,65
Stearová	C18:0	24,66	15,15	18,09	16,37	25,49
Olejová	C18:1 N9	98,24	11,73	27,00	47,38	94,14
Vacenová	C18:1 N7	10,35	1,30	2,59	4,89	9,41
Linolová	C18:2 N6	50,03	8,73	11,24	15,97	49,09
Arachová	C20:0	0,52	0,12	0,20	0,43	0,44
γ-Linolenová	C18:3 N6	0,59	0,51	0,46	0,46	0,64
Linolenová	C18:3 N3	5,15	0,64	0,73	2,89	6,49
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,51	0,21	0,30	0,27	0,13
Behenová	C22:0	1,04	0,37	0,44	0,58	0,82
Eikosatrienová	C20:3 N6	0,50	0,48	0,35	0,34	0,79
Arachidonová	C20:4 N6	2,68	1,60	1,97	2,15	2,23
Eikosapentaenová	C20:5 N3	0,73	0,36	0,44	0,23	0,39
Lignocerová	C 24:0	0,29	0,24	0,18	0,26	0,65
Dokosatetraenová	C22:4 N6	1,19	0,23	0,26	0,45	0,98
Dokosapentaenová	C22:5 N3	2,51	1,91	1,43	1,24	0,21
Dokosahexaenová	C22:6 N3	1,69	0,42	0,76	1,06	1,03
Celkem		331,84	72,28	103,62	151,21	300,57
Enzym						
9-desaturáza	18:1/18:0	3,98	0,77	1,49	2,89	3,69
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	19,68	2,90	5,09	14,86	14,95
elongáza x 100	18:0/16:0	24,92	62,63	55,69	36,24	30,14
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	5,32	3,34	5,64	6,29	2,84
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	1,01	5,50	3,11	2,14	1,60
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	4,81	1,56	1,86	3,53	4,51

Tabulka 9.8a: Koncentrace VMK – středně nemocní

VMK		26	50	58	62	93
Kyselina		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Myristová	C14:0	9,40	7,32	9,55	19,66	6,68
N-Pentadekanová	C15:0	3,25	2,21	1,82	2,57	2,24
Palmitová	C16:0	71,10	115,97	109,02	232,70	65,80
Palmitoolejová	C16:1 N7	8,57	7,13	15,20	0,52	5,12
Stearová	C18:0	24,63	10,23	34,04	80,65	23,68
Olejová	C18:1 N9	81,24	217,96	137,75	187,00	55,21
Vacenová	C18:1 N7	7,72	15,89	13,90	17,38	5,23
Linolová	C18:2 N6	35,34	46,90	59,80	101,48	21,62
Arachová	C20:0	0,23	0,27	0,59	0,59	0,23
γ-Linolenová	C18:3 N6	0,65	3,26	0,69	1,00	0,57
Linolenová	C18:3 N3	5,29	5,94	7,47	13,21	1,62
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,48	0,14	0,25	0,53	0,29
Behenová	C22:0	0,83	1,85	0,95	0,95	0,80
Eikosatrienová	C20:3 N6	0,83	0,54	1,53	0,69	0,39
Arachidonová	C20:4 N6	2,28	3,27	2,71	3,47	2,46
Eikosapentaenová	C20:5 N3	0,81	2,02	0,50	0,74	0,74
Lignocerová	C 24:0	0,39	0,52	0,88	0,69	0,53
Dokosatetraenová	C22:4 N6	0,82	0,74	1,45	1,86	0,38
Dokosapentaenová	C22:5 N3	1,18	0,39	0,48	2,85	1,75
Dokosahexaenová	C22:6 N3	1,29	1,52	2,36	2,31	1,02
Celkem		256,34	444,07	400,94	670,86	196,36
Enzym						
9-desaturáza	18:1/18:0	3,30	21,31	4,05	2,32	2,33
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	12,06	6,14	13,94	0,22	7,78
elongáza x 100	18:0/16:0	34,64	8,82	31,22	34,66	35,98
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	2,76	6,00	1,78	5,00	6,23
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	2,34	1,16	2,55	0,68	1,83
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	4,03	26,01	4,94	2,83	2,85

Tabulka 9.8b: Koncentrace VMK – středně nemocní

VMK		45	49	77
Kyselina		$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$
Myristová	C14:0	9,07	11,86	3,50
N-Pentadekanová	C15:0	1,85	1,90	1,35
Palmitová	C16:0	81,56	113,86	31,09
Palmitoolejová	C16:1 N7	11,98	11,57	1,53
Stearová	C18:0	20,82	34,84	14,84
Olejová	C18:1 N9	90,79	128,86	25,87
Vacenová	C18:1 N7	6,48	11,56	2,20
Linolová	C18:2 N6	35,45	65,38	9,42
Arachová	C20:0	0,68	0,57	0,12
γ -Linolenová	C18:3 N6	0,55	0,73	0,52
Linolenová	C18:3 N3	3,75	19,29	0,99
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,16	0,31	0,24
Behenová	C22:0	0,70	0,61	0,49
Eikosatrienová	C20:3 N6	0,96	0,63	0,46
Arachidonová	C20:4 N6	1,76	2,52	1,22
Eikosapentaenová	C20:5 N3	0,35	0,15	0,65
Lignocerová	C 24:0	0,39	0,65	0,22
Dokosatetraenová	C22:4 N6	0,69	1,34	0,50
Dokosapentaenová	C22:5 N3	0,19	0,18	0,28
Dokosahexaenová	C22:6 N3	1,21	2,30	0,60
Celkem		269,39	409,12	96,10
Enzym				
9-desaturáza	18:1/18:0	4,36	3,70	1,74
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	14,69	10,16	4,93
elongáza x 100	18:0/16:0	25,53	30,60	47,74
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	1,83	3,98	2,65
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	2,71	0,97	4,88
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	5,32	4,51	2,13

Tabulka 9.8c: Koncentrace VMK – středně nemocní

TG		33	66	70	91	97
Kyselina		$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$
Myristová	C14:0	11,78	7,26	11,44	18,28	20,80
N-Pentadekanová	C15:0	2,37	1,83	0,72	3,27	2,87
Palmitová	C16:0	138,07	212,42	193,22	342,17	203,93
Palmitoolejová	C16:1 N7	22,25	18,92	13,48	65,00	31,27
Stearová	C18:0	20,64	25,31	53,28	37,60	31,95
Olejová	C18:1 N9	151,55	206,83	212,17	452,38	240,67
Vacenová	C18:1 N7	16,08	21,13	16,46	38,43	25,63
Linolová	C18:2 N6	89,51	103,19	55,53	112,53	147,64
Arachová	C20:0	2,47	1,21	2,44	8,13	6,64
γ -Linolenová	C18:3 N6	0,87	0,90	1,03	2,22	1,14
Linolenová	C18:3 N3	5,28	5,60	2,90	12,77	15,39
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,45	0,49	0,31	0,55	0,28
Behenová	C22:0	3,19	0,90	1,03	2,19	3,47
Eikosatrienová	C20:3 N6	1,13	0,66	0,72	0,75	0,99
Arachidonová	C20:4 N6	5,20	3,60	8,21	16,63	17,02
Eikosapentaenová	C20:5 N3	1,01	0,25	0,31	0,53	0,38
Lignocerová	C 24:0	1,26	1,39	1,51	2,28	3,93
Dokosatetraenová	C22:4 N6	1,30	1,54	2,05	2,92	5,99
Dokosapentaenová	C22:5 N3	3,61	1,03	1,60	1,78	0,29
Dokosahexaenová	C22:6 N3	1,63	0,65	2,36	2,71	4,84
Celkem		479,64	615,10	580,79	1123,15	765,13
Enzym						
9-desaturáza	18:1/18:0	7,34	8,17	3,98	12,03	7,53
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	16,12	8,91	6,98	19,00	15,33
elongáza x 100	18:0/16:0	14,95	11,91	27,57	10,99	15,67
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	4,62	5,46	11,41	22,08	17,14
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	1,26	0,64	1,30	0,67	0,67
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	9,72	10,00	4,62	14,69	9,19

Tabulka 9.9a: Koncentrace MK v TAG frakci –středně nemocní

TG		26	50	58	62	93
Kyselina		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Myristová	C14:0	33,12	35,87	14,82	25,40	33,49
N-Pentadekanová	C15:0	14,92	6,79	3,23	3,46	5,60
Palmitová	C16:0	317,77	684,28	218,72	286,56	614,33
Palmitolejová	C16:1 N7	36,61	54,16	27,56	26,38	65,37
Stearová	C18:0	49,13	108,87	27,99	39,80	65,27
Olejová	C18:1 N9	454,51	861,27	267,02	295,66	641,14
Vacnová	C18:1 N7	35,03	74,89	24,09	24,81	57,65
Linolová	C18:2 N6	185,24	341,73	128,54	217,82	269,97
Arachová	C20:0	4,64	4,54	4,73	6,71	6,20
γ-Linolenová	C18:3 N6	2,24	2,15	0,90	1,89	1,35
Linolenová	C18:3 N3	19,33	24,69	11,47	26,67	13,18
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,18	0,74	0,42	0,95	0,84
Behenová	C22:0	3,01	3,79	2,07	2,91	4,91
Eikosatrienová	C20:3 N6	0,78	0,96	1,13	0,92	0,71
Arachidonová	C20:4 N6	10,83	14,24	13,02	15,85	27,87
Eikosapentaenová	C20:5 N3	2,22	0,76	0,32	0,88	0,35
Lignocerová	C 24:0	2,10	4,95	2,13	3,25	7,53
Dokosatetraenová	C22:4 N6	5,31	9,15	4,37	7,08	3,98
Dokosapentaenová	C22:5 N3	0,86	0,25	0,19	0,19	2,39
Dokosahexaenová	C22:6 N3	4,16	8,60	6,16	8,71	10,45
Celkem		1181,96	2242,70	758,87	995,89	1832,61
Enzym						
9-desaturáza	18:1/18:0	9,25	7,91	9,54	7,43	9,82
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	11,52	7,92	12,60	9,21	10,64
elongáza x 100	18:0/16:0	15,46	15,91	12,80	13,89	10,63
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	13,93	14,81	11,51	17,21	39,25
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	0,42	0,28	0,88	0,42	0,26
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	11,29	9,66	11,64	9,07	11,99

Tabulka 9.9b: Koncentrace MK v TAG frakci- středně nemocní

TG		45	49	77
Kyselina		μmol/l	μmol/l	μmol/l
Myristová	C14:0	27,74	31,13	17,98
N-Pentadekanová	C15:0	4,87	3,47	3,19
Palmitová	C16:0	387,79	377,43	208,08
Palmitolejová	C16:1 N7	47,98	36,01	21,98
Stearová	C18:0	39,47	58,42	34,97
Olejová	C18:1 N9	451,40	460,40	273,69
Vacnová	C18:1 N7	26,95	40,36	19,77
Linolová	C18:2 N6	159,47	273,80	79,50
Arachová	C20:0	13,22	7,93	3,02
γ-Linolenová	C18:3 N6	1,28	2,78	1,18
Linolenová	C18:3 N3	9,29	62,66	6,85
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,21	0,77	0,29
Behenová	C22:0	2,40	3,26	1,37
Eikosatrienová	C20:3 N6	1,06	1,55	0,67
Arachidonová	C20:4 N6	15,05	20,68	13,91
Eikosapentaenová	C20:5 N3	0,40	0,36	0,45
Lignocerová	C 24:0	2,67	3,39	2,10
Dokosatetraenová	C22:4 N6	4,11	9,91	3,45
Dokosapentaenová	C22:5 N3	0,22	0,40	0,30
Dokosahexaenová	C22:6 N3	3,67	10,76	4,19
Celkem		1199,26	1405,44	696,97
Enzym				
9-desaturáza	18:1/18:0	11,44	7,88	7,83
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	12,37	9,54	10,56
elongáza x 100	18:0/16:0	10,18	15,48	16,80
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	14,15	13,38	20,66
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	0,67	0,56	0,85
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	13,96	9,62	9,55

Tabulka 9.9c: Koncentrace MK v TAG frakci- středně nemocní

CE		33	66	70	91
Kyselina		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Myristová	C14:0	9,83	7,19	8,61	9,96
N-Pentadekanová	C15:0	3,00	1,60	1,73	2,74
Palmitová	C16:0	118,99	133,97	145,62	123,02
Palmitoolejová	C16:1 N7	34,83	31,03	24,15	59,71
Stearová	C18:0	9,23	10,01	12,62	11,47
Olejová	C18:1 N9	134,18	152,80	205,48	216,13
Vacenová	C18:1 N7	12,31	15,66	13,36	12,68
Linolová	C18:2 N6	451,82	488,76	456,21	253,30
Arachová	C20:0	7,02	7,20	12,02	20,46
γ-Linolenová	C18:3 N6	0,63	0,68	0,61	0,83
Linolenová	C18:3 N3	4,74	4,08	5,12	4,67
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,47	0,33	0,50	0,17
Behenová	C22:0	4,45	2,77	3,54	3,21
Eikosatrienová	C20:3 N6	0,72	1,14	0,63	0,66
Arachidonová	C20:4 N6	45,19	36,35	55,15	44,17
Eikosapentaenová	C20:5 N3	0,94	0,28	0,37	0,53
Lignocerová	C 24:0	0,18	0,54	0,23	0,27
Dokosatetraenová	C22:4 N6	0,42	0,36	0,41	0,50
Dokosapentaenová	C22:5 N3	2,11	0,17	0,16	0,11
Dokosahexaenová	C22:6 N3	2,91	1,42	3,15	1,99
Celkem		843,97	896,34	949,71	766,57
Enzym					
9-desaturáza	18:1/18:0	14,53	15,27	16,28	18,85
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	29,27	23,16	16,59	48,53
elongáza x 100	18:0/16:0	7,76	7,47	8,67	9,32
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	62,94	31,84	87,13	66,95
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	0,16	0,23	0,14	0,26
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	18,11	19,62	19,39	23,00

Tabulka 9.10a: Koncentrace MK ve frakci CE středně nemocní

CE		26	50	58	62	93
Kyselina		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Myristová	C14:0	8,16	11,40	6,64	10,36	4,25
N-Pentadekanová	C15:0	2,57	2,80	1,92	2,56	0,86
Palmitová	C16:0	164,30	192,35	95,23	139,48	56,26
Palmitoolejová	C16:1 N7	21,71	36,89	21,85	25,79	12,11
Stearová	C18:0	12,88	21,11	6,33	10,29	3,92
Olejová	C18:1 N9	198,18	253,03	117,97	169,74	62,80
Vacenová	C18:1 N7	17,00	18,94	12,07	16,27	5,25
Linolová	C18:2 N6	664,29	585,93	361,50	480,49	160,12
Arachová	C20:0	7,99	11,63	7,33	12,58	3,19
γ-Linolenová	C18:3 N6	1,07	0,88	0,63	0,94	0,32
Linolenová	C18:3 N3	8,12	7,06	4,71	7,06	1,66
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,30	0,14	0,33	0,34	0,19
Behenová	C22:0	5,40	5,45	3,86	5,11	2,13
Eikosatrienová	C20:3 N6	0,76	1,06	0,74	0,91	0,59
Arachidonová	C20:4 N6	88,15	70,78	58,01	64,26	29,65
Eikosapentaenová	C20:5 N3	1,64	0,31	0,17	0,45	0,33
Lignocerová	C 24:0	0,29	0,22	0,33	0,26	0,27
Dokosatetraenová	C22:4 N6	0,88	0,51	0,30	0,59	0,28
Dokosapentaenová	C22:5 N3	1,33	0,28	0,11	0,26	0,68
Dokosahexaenová	C22:6 N3	6,13	5,99	5,13	6,06	1,55
Celkem		1211,14	1226,76	705,17	953,79	346,40
Enzym						
9-desaturáza	18:1/18:0	15,39	11,98	18,63	16,49	16,00
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	13,21	19,18	22,94	18,49	21,52
elongáza x 100	18:0/16:0	7,84	10,98	6,65	7,38	6,98
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	115,65	67,08	78,69	70,59	50,21
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	0,11	0,18	0,20	0,19	0,37
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	18,78	14,63	22,74	20,13	19,53

Tabulka 9.10b: Koncentrace MK ve frakci CE středně nemocní

CE		45	49	77	97
Kyselina		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Myristová	C14:0	13,75	8,88	9,04	12,65
N-Pentadekanová	C15:0	3,73	2,45	2,51	3,03
Palmitová	C16:0	183,36	131,05	118,90	162,21
Palmitoolejová	C16:1 N7	45,42	24,96	26,95	45,14
Stearová	C18:0	8,67	9,39	10,16	9,51
Olejová	C18:1 N9	242,55	173,05	189,20	189,86
Vacenová	C18:1 N7	16,40	14,75	13,79	19,41
Linolová	C18:2 N6	613,59	460,44	362,80	570,79
Arachová	C20:0	26,25	10,77	8,04	16,71
γ-Linolenová	C18:3 N6	1,17	1,47	0,88	1,07
Linolenová	C18:3 N3	8,16	12,69	4,27	11,65
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,53	0,59	0,36	0,30
Behenová	C22:0	5,44	4,12	3,22	5,75
Eikosatrienová	C20:3 N6	1,02	1,35	1,49	5,91
Arachidonová	C20:4 N6	69,47	72,55	49,57	105,86
Eikosapentaenová	C20:5 N3	0,36	0,10	0,42	0,77
Lignocerová	C 24:0	0,27	0,26	0,23	0,38
Dokosatetraenová	C22:4 N6	0,59	0,73	0,20	0,58
Dokosapentaenová	C22:5 N3	0,35	0,10	0,54	0,30
Dokosahexaenová	C22:6 N3	5,53	5,10	3,84	6,78
Celkem		1246,60	934,78	806,42	1168,65
Enzym					
9-desaturáza	18:1/18:0	27,97	18,43	18,63	19,97
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	24,77	19,05	22,67	27,83
elongáza x 100	18:0/16:0	4,73	7,16	8,54	5,86
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	68,37	53,59	33,29	17,91
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	0,17	0,29	0,41	1,04
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	34,14	22,50	22,73	24,37

Tabulka 9.10c: Koncentrace MK ve frakci CE – středně nemocní

PL		8	10	12	35	64
Kyselina		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Myristová	C14:0	5,49	4,42	2,00	7,63	6,07
N-Pentadekanová	C15:0	3,27	2,57	1,88	5,87	3,52
Palmitová	C16:0	461,76	406,62	147,62	663,68	606,79
Palmitoolejová	C16:1 N7	6,91	4,94	1,72	7,26	9,00
Stearová	C18:0	262,79	224,49	79,09	340,71	298,38
Olejová	C18:1 N9	125,49	103,24	45,33	195,23	143,59
Vacenová	C18:1 N7	29,41	20,50	9,39	33,22	26,23
Linolová	C18:2 N6	248,26	207,15	105,11	437,79	315,23
Arachová	C20:0	0,60	0,59	0,96	0,77	1,45
γ-Linolenová	C18:3 N6	7,83	6,76	1,35	7,74	6,76
Linolenová	C18:3 N3	2,66	1,57	1,06	3,26	3,43
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,44	0,18	0,12	0,40	0,57
Behenová	C22:0	25,38	28,54	15,17	42,06	34,96
Eikosatrienová	C20:3 N6	11,75	16,08	0,91	35,34	15,69
Arachidonová	C20:4 N6	159,96	150,86	65,86	156,30	178,95
Eikosapentaenová	C20:5 N3	17,01	23,89	8,55	21,13	19,08
Lignocerová	C 24:0	7,86	6,54	4,44	7,67	9,82
Dokosatetraenová	C22:4 N6	19,37	13,92	9,55	23,27	15,30
Dokosapentaenová	C22:5 N3	0,73	0,31	0,19	0,82	0,25
Dokosahexaenová	C22:6 N3	60,50	45,36	26,16	60,24	66,14
Celkem		1457,47	1268,53	526,47	2050,39	1761,20
Enzym						
9-desaturáza	18:1/18:0	0,48	0,46	0,57	0,57	0,48
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	1,50	1,21	1,17	1,09	1,48
elongáza x 100	18:0/16:0	56,91	55,21	53,58	51,34	49,17
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	13,61	9,38	72,06	4,42	11,41
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	4,73	7,76	0,87	8,07	4,98
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	0,58	0,56	0,70	0,70	0,59

Tabulka 9.11a: Koncentrace MK ve frakci PL – těžce nemocní

PL		31	46	47	112	29
Kyselina		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Myristová	C14:0	3,72	1,64	3,71	3,98	7,16
N-Pentadekanová	C15:0	2,16	1,09	2,09	3,54	3,62
Palmitová	C16:0	415,70	191,24	600,46	396,52	416,59
Palmitoolejová	C16:1 N7	6,04	1,18	10,27	4,42	13,35
Stearová	C18:0	264,26	102,87	272,75	189,63	259,86
Olejová	C18:1 N9	145,64	67,71	175,85	140,26	106,51
Vacnová	C18:1 N7	30,23	8,73	37,46	24,08	24,59
Linolová	C18:2 N6	279,92	164,61	323,55	194,54	247,03
Arachová	C20:0	0,78	0,74	0,68	1,43	1,41
γ-Linolenová	C18:3 N6	6,59	2,23	3,97	6,10	4,34
Linolenová	C18:3 N3	3,53	1,29	3,71	2,25	3,53
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,36	0,33	0,38	0,25	0,59
Behenová	C22:0	18,85	15,12	29,22	44,18	55,30
Eikosatrienová	C20:3 N6	24,36	6,37	18,66	1,10	8,67
Arachidonová	C20:4 N6	168,07	42,83	167,49	117,71	118,75
Eikosapentaenová	C20:5 N3	16,81	16,55	11,83	17,98	12,68
Lignocerová	C 24:0	63,42	3,69	8,34	5,33	10,24
Dokosatetraenová	C22:4 N6	17,30	12,71	28,62	28,27	18,31
Dokosapentaenová	C22:5 N3	0,42	0,29	0,35	28,15	1,67
Dokosaheptaenová	C22:6 N3	41,13	33,06	55,80	0,94	48,16
Celkem		1509,30	674,28	1755,19	1210,65	1362,35
Enzym						
9-desaturáza	18:1/18:0	0,55	0,66	0,64	0,74	0,41
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	1,45	0,62	1,71	1,12	3,20
elongáza x 100	18:0/16:0	63,57	53,79	45,42	47,82	62,38
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	6,90	6,72	8,98	107,19	13,70
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	8,70	3,87	5,77	0,56	3,51
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	0,67	0,80	0,79	0,90	0,50

Tabulka 9.11b: Koncentrace MK ve frakci PL – těžce nemocní

DG		8	10	12	35	64
Kyselina		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Myristová	C14:0	1,53	2,64	2,74	2,82	3,20
N-Pentadekanová	C15:0	0,57	1,17	1,91	1,33	0,96
Palmitová	C16:0	10,39	12,53	16,75	19,58	24,02
Palmitoolejová	C16:1 N7	1,18	0,99	4,40	0,89	2,30
Stearová	C18:0	6,46	8,70	8,75	8,25	10,45
Olejová	C18:1 N9	11,59	6,35	6,22	13,48	23,51
Vacnová	C18:1 N7	1,31	2,08	0,79	1,15	2,55
Linolová	C18:2 N6	5,29	4,07	7,01	9,44	12,92
Arachová	C20:0	0,13	0,21	0,14	0,29	0,33
γ-Linolenová	C18:3 N6	0,32	0,50	0,32	0,50	0,49
Linolenová	C18:3 N3	0,28	0,32	0,41	0,54	0,88
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,26	0,34	0,26	0,36	0,24
Behenová	C22:0	0,49	0,78	0,98	0,95	0,89
Eikosatrienová	C20:3 N6	0,81	0,67	1,19	0,98	0,25
Arachidonová	C20:4 N6	1,19	1,42	2,29	1,71	2,01
Eikosapentaenová	C20:5 N3	0,77	1,13	1,02	1,00	0,88
Lignocerová	C 24:0	0,20	0,79	0,13	0,67	0,27
Dokosatetraenová	C22:4 N6	0,43	0,25	0,30	0,50	0,27
Dokosapentaenová	C22:5 N3	0,91	0,60	0,67	0,98	0,15
Dokosaheptaenová	C22:6 N3	1,48	0,36	0,82	0,84	0,67
Celkem		45,58	45,91	57,10	66,24	87,25
Enzym						
9-desaturáza	18:1/18:0	1,79	0,73	0,71	1,63	2,25
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	11,33	7,89	26,25	4,54	9,58
elongáza x 100	18:0/16:0	62,18	69,39	52,26	42,11	43,51
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	1,48	2,11	1,93	1,75	8,09
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	15,24	16,47	16,93	10,35	1,92
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	2,19	0,89	0,87	2,00	2,75

Tabulka 9.12a: Koncentrace MK ve frakci DG – těžce nemocní

DG		31	46	47	112	29
Kyselina		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Myristová	C14:0	0,87	1,08	0,97	2,01	4,05
N-Pentadekanová	C15:0	0,74	0,77	0,66	1,59	0,69
Palmitová	C16:0	7,26	10,89	10,31	17,12	22,39
Palmitolejová	C16:1 N7	0,56	1,98	0,70	0,98	5,29
Stearová	C18:0	4,17	5,44	4,62	7,41	6,49
Olejová	C18:1 N9	6,15	9,63	9,03	13,73	23,89
Vacnová	C18:1 N7	0,56	0,69	0,94	1,17	3,11
Linolová	C18:2 N6	5,33	6,13	5,31	7,67	11,85
Arachová	C20:0	0,22	0,20	0,15	0,64	0,28
γ-Linolenová	C18:3 N6	0,16	0,25	0,27	0,50	0,25
Linolenová	C18:3 N3	0,42	0,46	0,47	0,46	0,84
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,22	0,46	0,47	0,14	0,25
Behenová	C22:0	0,41	0,39	0,42	1,01	0,65
Eikosatrienová	C20:3 N6	0,40	0,75	0,91	1,07	0,96
Arachidonová	C20:4 N6	1,63	1,43	1,07	1,96	1,54
Eikosapentaenová	C20:5 N3	0,50	0,83	0,56	0,96	1,07
Lignocerová	C 24:0	0,12	0,23	0,18	0,07	0,52
Dokosatetraenová	C22:4 N6	0,27	0,27	0,26	0,39	0,47
Dokosapentaenová	C22:5 N3	0,56	0,97	0,72	0,14	1,99
Dokosaheptaenová	C22:6 N3	0,46	0,59	0,47	0,57	0,46
Celkem		31,01	43,44	38,49	59,56	87,04
Enzym						
9-desaturáza	18:1/18:0	1,48	1,77	1,96	1,85	3,68
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	7,71	18,19	6,77	5,70	23,63
elongáza x 100	18:0/16:0	57,43	49,97	44,79	43,26	29,00
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	4,08	1,91	1,17	1,84	1,61
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	7,48	12,21	17,19	13,91	8,09
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	1,80	2,16	2,39	2,26	4,49

Tabulka 9.12b: Koncentrace MK ve frakci DG – těžce nemocní

VMK		8	10	12	35	64
Kyselina		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Myristová	C14:0	9,32	9,82	9,17	7,46	7,63
N-Pentadekanová	C15:0	2,38	2,06	3,24	1,81	1,53
Palmitová	C16:0	80,03	102,10	81,37	75,02	108,22
Palmitolejová	C16:1 N7	11,62	11,73	8,70	6,19	9,50
Stearová	C18:0	22,25	36,10	39,84	23,77	34,92
Olejová	C18:1 N9	88,27	103,84	87,18	83,41	110,96
Vacnová	C18:1 N7	9,36	10,43	7,23	7,07	9,72
Linolová	C18:2 N6	32,65	39,92	33,66	32,10	50,27
Arachová	C20:0	0,23	0,36	0,27	0,23	0,48
γ-Linolenová	C18:3 N6	0,50	0,78	0,74	0,53	0,65
Linolenová	C18:3 N3	4,73	5,35	3,38	3,50	7,30
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,44	0,15	0,14	0,19	0,23
Behenová	C22:0	0,55	0,86	0,64	0,97	0,79
Eikosatrienová	C20:3 N6	0,88	0,64	0,82	0,64	0,59
Arachidonová	C20:4 N6	1,91	2,54	2,67	2,89	3,00
Eikosapentaenová	C20:5 N3	0,58	0,39	1,56	1,24	0,48
Lignocerová	C 24:0	0,52	0,56	0,37	0,35	0,82
Dokosatetraenová	C22:4 N6	0,80	0,81	0,59	0,54	0,92
Dokosapentaenová	C22:5 N3	1,05	0,23	0,18	0,11	0,37
Dokosaheptaenová	C22:6 N3	1,17	1,55	1,37	1,49	2,03
Celkem		269,23	330,24	283,11	249,53	350,43
Enzym						
9-desaturáza	18:1/18:0	3,97	2,88	2,19	3,51	3,18
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	14,52	11,49	10,69	8,26	8,78
elongáza x 100	18:0/16:0	27,80	35,36	48,96	31,69	32,27
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	2,16	3,99	3,27	4,49	5,09
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	2,71	1,60	2,42	2,00	1,17
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	4,84	3,51	2,67	4,28	3,88

Tabulka 9.13a: Koncentrace VMK – těžce nemocní

VMK		31	46	47	112	29
Kyselina		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Myristová	C14:0	4,55	2,48	9,32	12,15	11,62
N-Pentadekanová	C15:0	1,32	1,07	1,74	2,08	1,97
Palmitová	C16:0	51,10	26,65	164,54	138,34	81,79
Palmitolejová	C16:1 N7	7,04	1,84	16,23	13,19	15,29
Stearová	C18:0	16,25	14,45	55,13	38,75	25,62
Olejová	C18:1 N9	58,98	34,06	184,48	165,16	76,00
Vacnová	C18:1 N7	6,57	2,09	24,77	14,14	9,10
Linolová	C18:2 N6	31,47	11,27	62,16	53,66	36,16
Arachová	C20:0	0,63	0,13	0,27	0,31	0,52
γ-Linolenová	C18:3 N6	0,45	0,31	0,56	0,68	0,45
Linolenová	C18:3 N3	4,20	0,92	7,14	7,88	3,80
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,43	0,46	0,35	0,17	0,37
Behenová	C22:0	0,67	0,27	0,78	0,64	1,18
Eikosatrienová	C20:3 N6	0,64	0,75	0,68	0,64	0,63
Arachidonová	C20:4 N6	1,93	0,72	2,10	2,27	2,94
Eikosapentaenová	C20:5 N3	0,35	0,34	0,18	0,30	1,01
Lignocerová	C 24:0	0,22	0,62	0,72	0,57	0,58
Dokosatetraenová	C22:4 N6	0,59	0,12	1,51	1,30	1,08
Dokosapentaenová	C22:5 N3	1,06	0,41	0,31	0,28	1,71
Dokosahehexaenová	C22:6 N3	0,97	0,59	1,88	1,23	2,35
Celkem		189,41	99,55	534,85	453,74	274,17
Enzym						
9-desaturáza	18:1/18:0	3,63	2,36	3,35	4,26	2,97
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	13,78	6,91	9,86	9,53	18,70
elongáza x 100	18:0/16:0	31,80	54,20	33,51	28,01	31,33
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	3,04	0,95	3,09	3,55	4,64
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	2,02	6,70	1,09	1,19	1,75
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	4,43	2,88	4,08	5,20	3,65

Tabulka 9.13b: Koncentrace VMK – těžce nemocní

TG		8	10	12	35	64
Kyselina		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Myristová	C14:0	50,83	10,77	10,74	116,39	70,83
N-Pentadekanová	C15:0	13,35	2,69	4,26	18,10	8,88
Palmitová	C16:0	451,08	155,72	155,96	1141,79	1067,50
Palmitolejová	C16:1 N7	62,69	13,17	15,92	99,79	105,74
Stearová	C18:0	88,85	28,82	28,19	180,97	134,79
Olejová	C18:1 N9	582,68	167,11	175,99	740,30	1089,77
Vacnová	C18:1 N7	59,25	15,58	12,79	886,17	88,04
Linolová	C18:2 N6	227,16	65,61	93,11	424,45	490,15
Arachová	C20:0	4,87	1,94	1,77	4,71	11,22
γ-Linolenová	C18:3 N6	2,14	0,82	0,87	3,44	4,44
Linolenová	C18:3 N3	25,80	5,30	6,96	42,30	58,60
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,78	0,25	0,21	0,30	0,32
Behenová	C22:0	3,18	1,32	0,92	5,14	6,43
Eikosatrienová	C20:3 N6	1,29	0,93	1,06	3,74	0,60
Arachidonová	C20:4 N6	18,83	8,20	5,36	22,22	30,22
Eikosapentaenová	C20:5 N3	1,31	0,33	0,74	1,78	1,27
Lignocerová	C 24:0	5,03	1,47	1,27	4,41	8,47
Dokosatetraenová	C22:4 N6	11,33	2,17	2,24	9,67	10,25
Dokosapentaenová	C22:5 N3	0,51	0,30	0,37	0,35	0,70
Dokosahehexaenová	C22:6 N3	13,03	3,45	2,08	10,76	17,30
Celkem		1623,98	485,95	520,83	3716,81	3205,52
Enzym						
9-desaturáza	18:1/18:0	6,56	5,80	6,24	4,09	8,08
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	13,90	8,46	10,21	8,74	9,91
elongáza x 100	18:0/16:0	19,70	18,51	18,07	15,85	12,63
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	14,56	8,79	5,04	5,93	50,40
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	0,57	1,42	1,14	0,88	0,12
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	8,00	7,08	7,62	4,99	9,87

Tabulka 9.14a: Koncentrace MK ve frakci TAG – těžce nemocní

TG		31	46	47	112	29
Kyselina		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Myristová	C14:0	10,96	24,26	16,31	28,74	296,36
N-Pentadekanová	C15:0	1,38	2,99	2,41	7,81	30,81
Palmitová	C16:0	167,21	366,85	419,10	467,96	2068,04
Palmitolejová	C16:1 N7	17,46	15,02	43,06	49,44	409,28
Stearová	C18:0	29,59	82,34	47,40	47,17	237,43
Olejová	C18:1 N9	236,32	593,71	458,41	602,73	1674,58
Vacnová	C18:1 N7	21,46	33,51	51,28	46,36	207,06
Linolová	C18:2 N6	156,06	176,05	195,14	214,73	808,42
Arachová	C20:0	9,39	1,80	3,30	5,24	18,68
γ-Linolenová	C18:3 N6	1,82	0,81	1,03	1,17	6,34
Linolenová	C18:3 N3	14,72	11,17	15,97	19,37	81,11
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,64	0,81	0,58	0,43	2,62
Behenová	C22:0	2,18	1,48	2,28	3,66	11,00
Eikosatrienová	C20:3 N6	1,14	1,03	1,18	1,05	12,29
Arachidonová	C20:4 N6	15,24	8,09	11,11	11,96	49,01
Eikosapentaenová	C20:5 N3	0,17	3,04	0,28	0,85	0,94
Lignocerová	C 24:0	1,62	2,17	0,36	3,02	17,88
Dokosatetraenová	C22:4 N6	3,82	4,16	9,12	10,30	24,58
Dokosapentaenová	C22:5 N3	0,67	0,46	1,22	0,51	0,86
Dokosahehexaenová	C22:6 N3	5,06	3,79	7,83	3,21	26,40
Celkem		696,89	1333,55	1287,36	1525,71	5983,67
Enzym						
9-desaturáza	18:1/18:0	7,99	7,21	9,67	12,78	7,05
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	10,44	4,10	10,27	10,56	19,79
elongáza x 100	18:0/16:0	17,69	22,44	11,31	10,08	11,48
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	13,42	7,89	9,45	11,39	3,99
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	0,73	0,58	0,60	0,49	1,52
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	9,75	8,80	11,80	15,60	8,56

Tabulka 9.14b: Koncentrace MK ve frakci TAG – těžce nemocní

CE		8	10	12	35	64
Kyselina		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Myristová	C14:0	26,66	5,82	12,70	20,68	9,57
N-Pentadekanová	C15:0	13,98	2,02	5,97	5,28	2,57
Palmitová	C16:0	238,23	102,89	158,47	259,89	152,99
Palmitolejová	C16:1 N7	43,80	23,40	22,54	42,29	40,12
Stearová	C18:0	19,33	9,64	12,63	22,22	11,56
Olejová	C18:1 N9	245,98	152,60	175,90	336,25	182,51
Vacnová	C18:1 N7	26,30	11,21	15,90	23,48	14,20
Linolová	C18:2 N6	642,51	360,66	480,53	971,87	533,05
Arachová	C20:0	9,64	8,28	5,23	7,51	12,71
γ-Linolenová	C18:3 N6	1,38	0,69	0,95	0,82	0,93
Linolenová	C18:3 N3	8,31	4,16	7,02	12,55	6,48
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,66	0,40	0,67	0,67	0,23
Behenová	C22:0	6,01	4,85	3,08	5,38	5,43
Eikosatrienová	C20:3 N6	1,15	1,01	0,81	5,97	0,79
Arachidonová	C20:4 N6	108,50	66,50	53,81	88,70	80,26
Eikosapentaenová	C20:5 N3	1,56	0,39	0,49	0,44	0,43
Lignocerová	C 24:0	0,73	0,26	0,18	0,23	0,35
Dokosatetraenová	C22:4 N6	1,19	0,40	0,43	0,65	0,40
Dokosapentaenová	C22:5 N3	0,55	0,41	0,19	0,15	0,19
Dokosahehexaenová	C22:6 N3	9,89	5,14	3,78	7,49	6,55
Celkem		1406,36	760,75	961,27	1812,52	1061,33
Enzym						
9-desaturáza	18:1/18:0	12,73	15,83	13,93	15,13	15,78
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	18,38	22,74	14,22	16,27	26,23
elongáza x 100	18:0/16:0	8,11	9,37	7,97	8,55	7,56
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	94,12	65,72	66,50	14,86	102,02
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	0,18	0,28	0,17	0,61	0,15
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	15,53	19,32	17,00	18,47	19,27

Tabulka 9.15a: Koncentrace MK ve frakci CE – těžce nemocní

CE		31	46	47	112	29
Kyselina		μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l
Myristová	C14:0	4,28	3,35	7,22	13,38	22,84
N-Pentadekanová	C15:0	1,45	1,39	1,51	4,44	5,00
Palmitová	C16:0	89,96	41,36	119,11	185,67	183,41
Palmitoolejová	C16:1 N7	19,42	4,82	43,90	26,68	93,14
Stearová	C18:0	6,03	4,85	7,30	14,51	15,61
Olejová	C18:1 N9	132,82	59,36	190,55	261,07	207,29
Vacenová	C18:1 N7	12,02	3,56	20,31	23,17	17,62
Linolová	C18:2 N6	351,41	160,86	359,85	561,57	556,31
Arachová	C20:0	11,41	1,86	7,50	11,11	14,07
γ-Linolenová	C18:3 N6	1,30	0,37	0,92	1,29	1,28
Linolenová	C18:3 N3	4,59	1,70	8,18	9,19	9,07
Oktadekatetraenová	C 18:4 N3	0,54	0,88	0,69	0,38	0,40
Behenová	C22:0	2,43	0,81	3,28	7,68	9,36
Eikosatrienová	C20:3 N6	1,41	0,72	1,41	0,97	0,68
Arachidonová	C20:4 N6	46,47	10,65	43,70	76,82	56,29
Eikosapentaenová	C20:5 N3	0,12	0,34	0,12	0,57	1,05
Lignocerová	C 24:0	0,06	0,36	0,25	0,67	0,26
Dokosatetraenová	C22:4 N6	0,34	0,45	0,55	1,16	0,53
Dokosapentaenová	C22:5 N3	0,08	0,15	0,12	0,60	0,24
Dokosahexaenová	C22:6 N3	3,33	0,95	3,59	5,77	4,62
Celkem		689,47	298,78	820,06	1206,70	1199,08
Enzym						
9-desaturáza	18:1/18:0	22,04	12,24	26,11	17,99	13,28
9-desaturáza x 100	16:1N7/16:0	21,58	11,65	36,85	14,37	50,78
elongáza x 100	18:0/16:0	6,70	11,72	6,13	7,82	8,51
5-desaturáza	20:4N6/20:3N6	32,87	14,81	31,09	79,13	82,19
6-desaturáza x 100	20:3N6/18:2N6	0,40	0,45	0,39	0,17	0,12
9-desaturáza (plocha)	18:1/18:0	26,91	14,95	31,86	21,96	16,36

Tabulka 9.15b: Koncentrace MK ve frakci CE – těžce nemocní

objekt	AST (μkat/l)	TAG (mmol/l)	HbA1c %	chol (mmol/l)
26	0,39	1,15	6,2	6,2
50	0,38	0,48	5	5
58	0,55	1,11	6,8	6,8
62	0,4	1,19	6,1	6,1
93	0,37	1,35	6,4	6,4
45	0,22	0,69	6,9	6,9
49	0,23	2,24	6,4	6,4
77	0,34	0,82	6,6	6,6
97	0,37	1,03	5,7	5,7
8	0,28	1,78	7,4	7,4
10	0,24	0,89	7,6	7,6
12	0,27	0,65	7,1	7,1
35	0,26	1	7,3	7,3
64	0,5	3,28	8,8	8,8
31	0,33	1,35	9,4	9,4
46	0,2	0,9	10	10
47	0,45	1,73	7,6	7,6
112		1,09	10	10
29	0,31	0,99	9,9	9,9
33	0,35	1,4	7	7
66	0,27	1,05	7,8	7,8
70	0,41	0,97	4,5	4,5
91	0,35	3,28	6,1	6,1
1k		2,05		
2k		1,25		
3k		0,91		
5k		0,53		
6k		0,58		

Tabulka 9.16: Krevní hodnoty analyzovaných vzorků

	AST	TAG	GH	CH	CMK	9D	9DP	ELO	SD	6D	Myr	NPen	Pal	Palo	St	Olej	Vacc	Lino	Aro	γ-lin	α-lin	Okt	Beh	Eic	Ari	Eic5	Lig	Doc4	Doc5	Doc6
AST	1,00	0,28	-0,26	-0,12	0,07	0,21	0,21	-0,23	0,43	-0,23	-0,04	-0,06	0,11	0,19	-0,02	0,14	-0,17	0,16	0,11	0,15	0,06	-0,04	0,29	-0,29	0,23	-0,22	0,20	0,14	0,16	0,27
TAG	0,28	1,00	0,16	0,22	0,30	0,35	0,43	-0,32	0,57	-0,35	0,20	0,06	0,32	0,53	0,17	0,39	-0,05	0,35	0,45	0,60	0,53	0,17	0,42	-0,12	0,52	-0,02	0,35	0,32	0,26	0,46
GH	-0,26	0,16	1,00	-0,02	0,13	0,01	-0,25	-0,02	0,01	-0,09	0,10	0,01	0,12	0,03	0,13	0,15	0,06	0,15	0,05	0,08	0,10	0,11	0,00	0,10	0,00	0,37	-0,02	0,02	-0,11	0,12
CH	-0,12	0,22	-0,02	1,00	0,13	0,18	0,00	0,10	0,36	-0,38	0,02	0,08	0,12	0,17	0,10	0,28	-0,16	0,19	0,39	0,22	0,13	0,39	0,24	-0,18	0,38	-0,02	0,34	0,12	0,28	0,22
CMK	0,07	0,30	0,13	0,13	1,00	-0,11	-0,19	-0,19	0,44	-0,53	0,93	0,72	0,99	0,91	0,96	0,91	0,72	0,95	0,34	0,82	0,72	0,11	0,82	0,56	0,72	0,40	0,73	0,72	-0,16	0,78
9D	0,21	0,35	0,01	0,18	-0,11	1,00	0,50	-0,76	0,33	-0,48	-0,28	-0,18	-0,09	0,13	-0,34	0,11	-0,41	-0,06	0,50	-0,04	-0,09	0,12	0,04	-0,42	0,17	-0,21	0,03	-0,08	0,14	-0,06
9DP	0,21	0,43	-0,25	0,00	-0,19	0,50	1,00	-0,46	0,12	0,04	-0,12	0,02	-0,19	0,18	-0,33	-0,19	-0,15	-0,21	0,32	0,02	-0,12	-0,17	0,12	-0,10	0,12	-0,28	-0,01	-0,09	0,38	-0,10
ELO	-0,23	-0,32	-0,02	0,10	-0,19	-0,76	-0,46	1,00	-0,34	0,47	-0,08	-0,05	-0,23	-0,41	0,08	-0,20	-0,02	-0,26	-0,46	-0,19	-0,17	-0,05	-0,37	0,04	-0,34	0,28	-0,23	-0,12	-0,11	-0,19
SD	0,43	0,57	0,01	0,36	0,44	0,33	0,12	-0,34	1,00	-0,62	0,28	0,12	0,49	0,59	0,29	0,60	-0,12	0,52	0,56	0,54	0,41	0,12	0,65	-0,35	0,80	-0,06	0,81	0,28	0,09	0,62
6D	-0,23	-0,35	-0,09	-0,38	-0,53	-0,48	0,04	0,47	-0,62	1,00	-0,34	-0,31	-0,52	-0,53	-0,38	-0,71	0,03	-0,67	-0,50	-0,53	-0,52	-0,48	-0,59	0,15	-0,62	-0,22	-0,65	-0,59	0,18	-0,62
Myr	-0,04	0,20	0,10	0,02	0,93	-0,28	-0,12	-0,08	0,28	-0,34	1,00	0,84	0,91	0,84	0,93	0,73	0,85	0,84	0,27	0,79	0,68	-0,03	0,76	0,73	0,65	0,45	0,63	0,68	-0,20	0,70
N-Pen	-0,06	0,06	0,01	0,08	0,72	-0,18	0,02	-0,05	0,12	-0,31	0,84	1,00	0,68	0,68	0,72	0,58	0,67	0,62	0,11	0,63	0,47	-0,14	0,58	0,57	0,42	0,57	0,46	0,57	-0,19	0,52
Pal	0,11	0,32	0,12	0,12	0,99	-0,09	-0,19	-0,23	0,49	-0,52	0,91	0,68	1,00	0,92	0,94	0,91	0,70	0,94	0,34	0,80	0,69	0,07	0,83	0,51	0,72	0,35	0,74	0,68	-0,12	0,77
Palo	0,19	0,53	0,03	0,17	0,91	0,13	0,18	-0,41	0,59	-0,53	0,84	0,68	0,92	1,00	0,79	0,84	0,59	0,84	0,50	0,82	0,64	0,02	0,85	0,41	0,80	0,20	0,76	0,65	0,01	0,76
St	-0,02	0,17	0,13	0,10	0,96	-0,34	-0,33	0,08	0,29	-0,38	0,93	0,72	0,94	0,79	1,00	0,85	0,76	0,87	0,16	0,74	0,65	0,09	0,70	0,61	0,58	0,50	0,64	0,69	-0,20	0,70
Olej	0,14	0,39	0,15	0,28	0,91	0,11	-0,19	-0,20	0,60	-0,71	0,73	0,58	0,91	0,84	0,85	1,00	0,38	0,90	0,40	0,76	0,66	0,23	0,77	0,21	0,71	0,42	0,79	0,71	-0,13	0,78
Vacc	-0,17	-0,05	0,06	-0,16	0,72	-0,41	-0,15	-0,02	-0,12	0,03	0,85	0,67	0,70	0,59	0,76	0,38	1,00	0,55	0,00	0,49	0,39	-0,14	0,45	0,92	0,33	0,32	0,24	0,38	-0,13	0,32
Lino	0,16	0,35	0,15	0,19	0,95	-0,06	-0,21	-0,26	0,52	-0,67	0,84	0,62	0,94	0,84	0,87	0,90	0,55	1,00	0,43	0,85	0,83	0,24	0,88	0,43	0,77	0,33	0,79	0,80	-0,20	0,87
Aro	0,11	0,45	0,05	0,39	0,34	0,50	0,32	-0,46	0,56	-0,50	0,27	0,11	0,34	0,50	0,16	0,40	0,00	0,43	1,00	0,55	0,47	0,04	0,51	-0,01	0,67	-0,17	0,47	0,34	-0,17	0,44
γ-lin	0,15	0,60	0,08	0,22	0,82	-0,04	0,02	-0,19	0,54	-0,53	0,79	0,63	0,80	0,82	0,74	0,76	0,49	0,85	0,55	1,00	0,88	0,05	0,78	0,36	0,74	0,27	0,67	0,70	-0,18	0,77
α-lin	0,06	0,53	0,10	0,13	0,72	-0,09	-0,12	-0,17	0,41	-0,52	0,68	0,47	0,69	0,64	0,65	0,66	0,39	0,83	0,47	0,88	1,00	0,23	0,71	0,39	0,66	0,20	0,60	0,81	-0,27	0,82
Okt	-0,04	0,17	0,11	0,39	0,11	0,12	-0,17	-0,05	0,12	-0,48	-0,03	-0,14	0,07	0,02	0,09	0,23	-0,14	0,24	0,04	0,05	0,23	1,00	0,15	-0,06	0,24	0,07	0,25	0,33	0,09	0,36
Beh	0,29	0,42	0,00	0,24	0,82	0,04	0,12	-0,37	0,65	-0,59	0,76	0,58	0,83	0,85	0,70	0,77	0,45	0,88	0,51	0,78	0,71	0,15	1,00	0,33	0,84	0,22	0,86	0,65	0,10	0,81
Eic	-0,29	-0,12	0,10	-0,18	0,56	-0,42	-0,10	0,04	-0,35	0,15	0,73	0,57	0,51	0,41	0,61	0,21	0,92	0,43	-0,01	0,36	0,39	-0,06	0,33	1,00	0,21	0,26	0,06	0,41	-0,18	0,27
Ari	0,23	0,52	0,00	0,38	0,72	0,17	0,12	-0,34	0,80	-0,62	0,65	0,42	0,72	0,80	0,58	0,71	0,33	0,77	0,67	0,74	0,70	0,24	0,84	0,21	1,00	0,00	0,87	0,63	-0,10	0,85
Eic5	-0,22	-0,02	0,37	-0,02	0,40	-0,21	-0,28	0,28	-0,06	-0,22	0,45	0,57	0,35	0,20	0,50	0,42	0,32	0,33	-0,17	0,27	0,20	0,07	0,22	0,26	0,00	1,00	0,15	0,23	-0,08	0,15
Lig	0,20	0,35	-0,02	0,34	0,73	0,03	-0,01	-0,23	0,81	-0,65	0,63	0,46	0,74	0,76	0,64	0,79	0,24	0,79	0,47	0,67	0,60	0,25	0,86	0,06	0,87	0,15	1,00	0,56	-0,05	0,81
Doc4	0,14	0,32	0,02	0,12	0,72	-0,08	-0,09	-0,12	0,28	-0,59	0,68	0,57	0,68	0,65	0,69	0,71	0,38	0,80	0,34	0,70	0,81	0,33	0,65	0,41	0,63	0,23	0,56	1,00	-0,39	0,87
Doc5	0,16	0,26	-0,11	0,28	-0,16	0,14	0,38	-0,11	0,09	0,18	-0,20	-0,19	-0,12	0,01	-0,20	-0,13	-0,13	-0,20	-0,17	-0,18	-0,27	0,09	0,10	-0,18	-0,10	-0,08	-0,05	-0,39	1,00	-0,21
Doc6	0,27	0,46	0,12	0,22	0,78	-0,06	-0,10	-0,19	0,62	-0,62	0,70	0,52	0,77	0,76	0,70	0,78	0,32	0,87	0,44	0,77	0,82	0,36	0,81	0,27	0,85	0,15	0,81	0,87	-0,21	1,00

Tabulka 9.20: Matice korelačních koeficientů ve frakci TAG (pro koncentrace MK v μmol/l)

9.2. Seznam obrázků a tabulek

9.2.1. Seznam obrázků

- Obr. 3.1 Játra
- Obr. 3.2 Rozdělení lipoproteinů podle hustoty
- Obr. 3.3 Lipoproteinový metabolismus
- Obr. 3.4 Struktura inzulinu
- Obr. 3.5 Znárodnění tenkovrstvé chromatografie
- Obr. 3.6 Obecné schéma GC
- Obr. 5.1 Cattelův indexový graf úpatí vlastních čísel (určuje významnost komponent pro výchozí dosazení obsahu MK v $\mu\text{mol/l}$ ve PL frakci)
- Obr. 5.2 Cattelův indexový graf úpatí vlastních čísel (určuje významnost hlavních komponent pro výchozí dosazení obsahu MK v % ve PL frakci)
- Obr. 5.3 Graf komponentních vah – grafické zobrazení korelační matice pro PL frakci
- Obr. 5.4 Výřez grafu komponentních vah pro PL frakci
- Obr. 5.5 Graf komponentního skóre pro PL frakci
- Obr. 5.6 Cattelův indexový graf úpatí vlastních čísel (určuje významnost hlavních komponent pro výchozí dosazení obsahu MK v $\mu\text{mol/l}$ v DG frakci)
- Obr. 5.7 Graf komponentních vah – grafické zobrazení korelační matice pro DG frakci
- Obr. 5.8 Výřez grafu komponentních vah pro DG frakci
- Obr. 5.9 Graf komponentního skóre pro DG frakci
- Obr. 5.10 Cattelův indexový graf úpatí vlastních čísel (určuje významnost hlavních komponent pro výchozí dosazení obsahu MK v $\mu\text{mol/l}$ ve frakci VMK)
- Obr. 5.11 Graf komponentních vah – grafické zobrazení korelační matice pro frakci VMK
- Obr. 5.12 Výřez grafu komponentních vah pro frakci VMK
- Obr. 5.13 Graf komponentního skóre pro frakci VMK
- Obr. 5.14 Cattelův indexový graf úpatí vlastních čísel (určuje významnost hlavních komponent pro výchozí dosazení obsahu MK v $\mu\text{mol/l}$ v TAG frakci)

- Obr. 5.15 Graf komponentních vah – grafické zobrazení korelační matice pro TAG frakci
- Obr. 5.16 Výřez grafu komponentních vah pro TAG frakci
- Obr. 5.17 Graf komponentního skóre pro TAG frakci
- Obr. 5.18 Cattelův indexový graf úpatí vlastních čísel (určuje významnost komponent pro výchozí dosazení obsahu MK v $\mu\text{mol/l}$ ve frakci CE)
- Obr. 5.19 Graf komponentních vah – grafické zobrazení korelační matice pro frakci CE
- Obr. 5.20 Výřez grafu komponentních vah pro frakci CE
- Obr. 5.21 Graf komponentního skóre pro frakci ECH
- Obr. 5.22 Závislost obsahu MK v procentech na stupni onemocnění
- Obr. 5.23 Závislost obsahu MK v procentech na stupni onemocnění
- Obr. 5.24 Závislost obsahu MK v procentech na stupni onemocnění
- Obr. 5.25 Závislost obsahu MK v procentech na stupni onemocnění
- Obr. 5.26 Závislost obsahu MK v procentech na stupni onemocnění
- Obr. 5.27 Závislost aktivity 9-desaturasy na stupni onemocnění
- Obr. 5.28 Závislost aktivity 5-desaturasy na stupni onemocnění
- Obr. 5.29 Závislost aktivity 6-desaturasy na stupni onemocnění
- Obr. 5.30 Závislost aktivity 9-desaturasy na stupni onemocnění

9.2.2. Seznam tabulek

- Tabulka 9.1: Koncentrace MK ve frakci PL – zdraví dárce
- Tabulka 9.2: Koncentrace MK v DG frakci – zdraví dárce
- Tabulka 9.3: Koncentrace VMK – zdraví dárce
- Tabulka 9.4: Koncentrace MK v TAG frakci – zdraví dárce
- Tabulka 9.5: Koncentrace MK v CE frakci – zdraví dárce
- Tabulka 9.6: Koncentrace MK ve frakci PL – středně nemocní
- Tabulka 9.7: Koncentrace MK ve frakci DG – středně nemocní
- Tabulka 9.8: Koncentrace VMK – středně nemocní
- Tabulka 9.9: Koncentrace MK v TAG frakci – středně nemocní
- Tabulka 9.10: Koncentrace MK ve frakci CE středně nemocní
- Tabulka 9.11: Koncentrace MK ve frakci PL – těžce nemocní
- Tabulka 9.12: Koncentrace MK ve frakci DG – těžce nemocní

- Tabulka 9.13: Koncentrace VMK – těžce nemocní
- Tabulka 9.13: Koncentrace VMK – těžce nemocní
- Tabulka 9.14: Koncentrace MK ve frakci TAG – těžce nemocní
- Tabulka 9.15: Koncentrace MK ve frakci CE – těžce nemocní
- Tabulka 9.16: Krevní hodnoty analyzovaných vzorků
- Tabulka 9.17: Matice korelačních koeficientů ve frakci PL
- Tabulka 9.18: Matice korelačních koeficientů ve frakci
- Tabulka 9.19: Matice korelačních koeficientů ve frakci VMK
- Tabulka 9.20: Matice korelačních koeficientů ve frakci TAG
- Tabulka 9.21: Matice korelačních koeficientů ve frakci ECH

9.3. Seznam zkratk

- | | |
|---------|---|
| • ATP | Adenosintrifosfát |
| • AFID | Plamenový ionizační detektor s alkalickým kovem |
| • AST | Aspartátaminotransferasa |
| • CoA | Acetyl-koenzym A |
| • DM | Diabetes mellitus |
| • DG | Diacylglyceroly |
| • ECD | Detektor elektronového záchytu |
| • EDTA | Ethylen diamin tetraacetic acid |
| • ECH | Estery cholesterolu |
| • FA | Mastné kyseliny |
| • FID | Flame ionization detector |
| • FFA | Volné mastné kyseliny |
| • GC | Plynová chromatografie |
| • GLUT4 | Glukózový transferový protein |
| • HbA1c | Glykovaný hemoglobin |
| • HDL | Lipoproteiny o vysoké hustotě |
| • IDDM | Diabetes mellitus závislý na inzulinu |
| • PL | Fosfolipidy |

- Rf Retenční faktor
- TAG Triacylglyceroly
- TID Tepelně vodivostní detektor
- TLC Tenkovrstvá chromatografie
- TLR-4 Toll-like receptor 4
- VLDL Lipoproteiny o velmi nízké hustotě
- VMK Volné mastné kyseliny