

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko – technologická

**Stanovení obsahu vyšších mastných kyselin
v EDTA plazmě diabetiků**

Bc. Lucie Koukalová

Diplomová práce

2012

Prohlášení autora

Prohlašuji:

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

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

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 4. 5. 2012

Lucie Koukalová

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucímu mé diplomové práce doc. Ing. Alexandru Čeganovi, CSc. a konzultantce MUDr. Vladimíře Mužákové, Ph.D. za vedení, vstřícnost, korekturu a za čas, který mi věnovali při řešení této diplomové práce.

Dále bych chtěla poděkovat rodině za podporu během mého studia.

Abstrakt

Předložená diplomová práce zkoumá závislosti složení mastných kyselin v jednotlivých lipidových frakcích plazmy a krevních markerů lipidového a sacharidového metabolismu. Cílem je přispět alespoň malou měrou k rozšíření poznatků o patogenezi a změnách metabolických pochodů při diabetes mellitus.

Vzorky krevní plazmy byly zpracovány nejprve tenkovrstevnou chromatografií, kterou byly lipidy rozděleny do jednotlivých tříd. Poté byl stanoven obsah jednotlivých mastných kyselin ve všech třídách lipidů pomocí plynové chromatografie.

Vzorky plazmy diabetiků 2. typu a zdravých dárců krve byly rozděleny do tří skupin podle hladiny glykovaného hemoglobinu na zdravé osoby, dostatečně a nedostatečně kompenzované diabetiky. U studovaných diabetiků byla prokázána dyslipoproteinémie a to bez ohledu na stupeň kompenzace onemocnění. Bylo zaznamenáno zřetelné snížení esenciálních polynenasycených mastných kyselin u diabetiků oproti zdravé skupině. Dále jsme zjistili, že koncentrace nasycených mastných kyselin má vzrůstající charakter. Nasycené mastné kyseliny jsou prokazatelně toxické a jsou příčinou pokračujících obtíží diabetiků. Významným nálezem je zvýšení koncentrace diacylglycerolů, které jsou důležitými signálními molekulami v přenosu inzulínového signálu. Jejich několikanásobně zvýšená koncentrace vede k poruše v přenosu tohoto signálu a následnému rozvoji inzulínové rezistence.

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

Abstract

This thesis examines the dependence of fatty acids composition in individual lipid fractions of plasma and blood markers of lipid and carbohydrate metabolism. The aim is to contribute at least a small contribution to the expansion of knowledge about the pathogenesis of metabolic pathways and changes in diabetes mellitus.

Plasma samples were processed by thin layer chromatography, which divided plasma lipids into individual classes and then the content of fatty acids in all lipidic classes were determined by gas chromatography.

Plasma samples of type 2 diabetics and healthy donors were divided into three groups according to levels of glycosidic hemoglobin to healthy ones, adequately and inadequately compensated diabetics. In diabetics dyslipoproteinemia, regardless of the degree of the compensation of the disease was demonstrated. There was observed a distinct reduction of essential polyunsaturated fatty acids in diabetic patients compared to healthy group. Furthermore, we found that the concentration of saturated fatty acids has increased character. Saturated fatty acids are verifiable to be toxic and cause ongoing problems of diabetics. An important findings is the increased concentration of diacylglycerols, which are important signaling molecules in transmission of insulin signal. Their increased concentration leads to failure in the transmission of this signal and the subsequent development of insulin resistance.

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

Obsah

1. Úvod	7
2. Cíl práce	8
3. Teoretická část	9
3. 1. Lipidy	9
3. 1. 1. Mastné kyseliny	9
3. 1. 1. 1. Odbourávání mastných kyselin	10
3. 1. 1. 2. Syntéza mastných kyselin	10
3. 1. 2. Triacylglyceroly	12
3. 1. 3. Fosfolipidy	13
3. 1. 4. Cholesterol	13
3. 2. Metabolismus lipidů	14
3. 2. 1. Trávení a vstřebávání lipidů	14
3. 2. 2. Lipoproteiny	15
3. 2. 2. 1. Apoproteiny	15
3. 2. 2. 2. Chylomikrony	16
3. 2. 2. 3. VLDL - lipoproteiny o velmi nízké hustotě	16
3. 2. 2. 4. IDL – lipoproteiny o střední hustotě	17
3. 2. 2. 5. LDL – lipoproteiny o nízké hustotě	17
3. 3. Endokrinní pankreas	18
3. 3. 1. Inzulin	19
3. 3. 1. 1. Biosyntéza a sekrece inzulinu	19
3. 3. 2. Vstup glukosy do buněk	20
3. 3. 3. Metabolické účinky inzulinu	21
3. 4. Diabetes mellitus	22
3. 4. 1. Diabetes mellitus 1. typu	22
3. 4. 2. Diabetes mellitus 2. typu	23
3. 4. 2. 1. Inzulinová rezistence	24
3. 4. 2. 2. Diabetes mellitus a poruchy metabolismu lipidů	25
3. 4. 2. 3. Vliv mastných kyselin	26

3. 4. 3. Diagnostika diabetu	27
3. 4. 4. Komplikace diabetu	28
3. 4. 4. 1. Akutní komplikace	28
3. 4. 4. 2. Chronické komplikace	29
3. 5. Chromatografie	31
3. 5. 1. Princip chromatografie	31
3. 5. 2. Rozdělení chromatografických metod	31
3. 5. 3. Chromatografie na tenké vrstvě (TLC)	32
3. 5. 4. Plynová chromatografie (GC)	34
4. Experimentální část	38
4. 1. Popis vzorků	38
4. 2. Přístrojové vybavení pro TLC a GC	39
4. 3. Chemikálie a další používaný materiál	40
4. 4. Postup práce	42
4. 4. 1. Denaturace bílkovin a extrakce lipidů	42
4. 4. 2. Tenkovrstevná chromatografie	42
4. 4. 3. Plynová chromatografie	44
4. 4. 4. Vyhodnocení výsledků	45
5. Výsledky	48
5. 1. Procentuální zastoupení jednotlivých mastných kyselin	48
5. 2. Vícerozměrné průzkumové techniky	56
5. 2. 1. Korelace mezi MK a glykovaným hemoglobinem	56
5. 2. 2. Zjištění podobnosti objektů	63
6. Diskuse	68
7. Závěr	72
8. Seznam literatury	73
9. Přílohy	79
10. Seznam obrázků, grafů, tabulek a zkratk	100

1. Úvod

Diabetes mellitus se stává novodobým problémem vyspělého světa, ať již po stránce sociální, lékařské nebo ekonomické. K jeho mohutnému rozvoji nezanedbatelnou měrou přispívá hektický a nezdravý životní styl, který v zemích západního světa, tedy i u nás, stále více omezuje pohybovou aktivitu populace a přináší také nesprávné stravovací návyky ve formě vysokokalorických a mnohdy těžko stravitelných pokrmů. Tyto faktory vedou k nárůstu počtu obézních jedinců v populaci, kteří mají tímto vyšší riziko rozvoje diabetu. Diabetici jsou navíc ohroženi celou řadou přidružených onemocnění, jako je ateroskleróza, diabetická nefropatie, retinopatie, polyneuropatie či diabetická noha. Včasné určení diagnózy může přispět k eliminaci, nebo alespoň zmírnění těchto nepříznivých následků.

Diabetes mellitus je onemocnění, které se projevuje nejen zvýšenou glykemií a zvýšenou hladinou glykovaného hemoglobinu, ale i rozvratem lipidového metabolismu s jeho veškerými následky. Dyslipidémie 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 2. typu a detailně studovat patogenetické mechanismy tohoto onemocnění, čímž se také zabývá tato studie.

2. Cíl práce

Cílem této práce je stanovit koncentrace nasycených a nenasycených mastných kyselin pomocí plynové chromatografie. Vzorčky byly rozděleny na kontrolní zdravou skupinu a dvě skupiny diabetiků, podle stupně onemocnění. Po stanovení jejich koncentrací je třeba vypracovat statistickou závislost na krevních parametrech a diskutovat jejich použitelnost pro diagnostiku.

3. Teoretická část

3. 1. Lipidy

Společnou vlastností lipidů je nerozpustnost ve vodě a dobrá rozpustnost v nepolárních rozpouštědlech jako ether, chloroform a benzen. Jejich transport se v krvi uskutečňuje ve formě lipoproteinů a v trávicím ústrojí ve formě micel.

Lipidy mají v organismu několik podstatných úloh a funkcí. Lipidy jsou nejdůležitější složkou potravy nejen pro svou vysokou energetickou hodnotu (zdroj energie pro tkáně), ale i pro obsah esenciálních mastných kyselin a v tučných rozpustných vitamínů (Murray, 2002). Lipidy jsou součástí membrán a podpůrných tkání. Lipidy a steroidy jsou důležitými prekurzory pro syntézu hormonů, eikosanoidů, ketolátek, feromonů, žlučových kyselin a mnoha dalších látek. Nelze pominout ani fyzikální význam lipidů. Tukový polštář představuje mechanickou ochranu proti tlaku a nárazům. Lipidy lze též považovat za elektrickou „izolaci“ v nervové tkáni a látky bránící ztrátám tepla (Debjyoti, 2005, Ledvina, 2004).

3. 1. 1. Mastné kyseliny

Mastné kyseliny (MK) jsou monokarboxylové kyseliny s dlouhými uhlovodíkovými řetězci. Většina mastných kyselin má 16 a více atomů uhlíku, kyseliny s řetězcem kratším než 14 a delším než 22 atomů uhlíku představují minoritní část.

Mastné kyseliny se vyskytují jako volné – neesterifikované, nebo estericky vázané. Neesterifikované mastné kyseliny jsou transportovány ve vazbě na molekulu albuminu.

Mastné kyseliny můžeme členit na nasycené, které neobsahují dvojně vazby, a nenasycené obsahující jednu či více dvojných vazeb. Přítomnost dvojně vazby umožňuje cis/trans izomerii. Většina v přírodě se vyskytujících mastných kyselin je v konfiguraci cis a jejich molekuly jsou v místě dvojně vazby ohnuté o 120°. Mastné kyseliny s trans dvojnými vazbami se vyskytují v některých

potravinách. Nejčastěji vznikají jako vedlejší produkt hydrogenace nenasycených mastných kyselin v průběhu „ztužování“ rostlinných olejů při výrobě margarínu (Murray, 2002).

Body tání mastných kyselin se zvyšují s rostoucí délkou řetězce a klesají s rostoucím počtem dvojných vazeb. Rozpustnost mastných kyselin ve vodě s rostoucí délkou řetězce klesá (Debbyoti, 2005). Ve zředěných roztocích jsou přítomny jako monomery, ve vyšších koncentracích (nad hodnotou kritické micelární koncentrace) pak tvoří micely. V micelách jsou karboxylové skupiny orientovány směrem do vodné fáze, zatímco hydrofobní alifatická část je orientována dovnitř micely. Mastné kyseliny mají amfifilní charakter.

3. 1. 1. 1. Odbourávání mastných kyselin

Odbourávání mastných kyselin se děje katabolickým procesem zvaným β -oxidace a probíhá v matrix mitochondrií. K oxidaci dochází na β -uhlíku. Jde o cyklický proces, při němž se mastná kyselina zkracuje vždy o dvouuhlíkový zbytek navázaný na CoA, tedy o acetyl-CoA. Proces β -oxidace můžeme rozdělit do těchto kroků: aktivace mastných kyselin, transport mastných kyselin z cytosolu do mitochondrií karnitinovým systémem, vlastní oxidace mastných kyselin a uvolnění acetyl-CoA (Numa, 1984). Vzrůst oxidace mastných kyselin je charakteristický pro hladovění a diabetes mellitus a vede k produkci ketonových látek, ty mohou způsobit ketoacidosu, která může mít fatální důsledky.

3. 1. 1. 2. Syntéza mastných kyselin

Základem syntézy mastných kyselin je acetyl-CoA, který vzniká ze sacharidů, aminokyselin i odbouráváním jiných mastných kyselin. Mastná kyselina vzniká reakcí acetyl-CoA s malonyl-CoA, který je opakovaně přidáván a redukován. Postupně vzniká řetězec nasycené mastné kyseliny až do počtu 16 uhlíků – palmitát. Reakci katalyzují enzymy sdružené v tzv. multienzymovém komplexu (Garrett, 2010).

Mastné kyseliny s více než 16 uhlíky vznikají procesem elongace za účasti enzymů elongas. Nasycené mastné kyseliny (SFA) s dlouhým řetězcem zahrnují kyselinu myristovou (C14:0), palmitovou (C16:0), stearovou (C18:0), arachovou (C 20:0), behenovou (C 22:0) a lignocerovou (C24:0). Biosyntéza nenasycených mastných kyselin probíhá procesem desaturace a je katalyzována specifickými acyl-CoA-desaturasami. První dvojná vazba zavedená do mastné kyseliny je vždy v poloze $\Delta 9$. Dodatečné dvojně vazby jsou vždy zaváděny mezi existující dvojnou vazbu a karboxylovou skupinu. Desaturasy vytvářejí dvojnou vazbu v poloze C4, C5, C6 a C9. Rozeznávají se tak $\Delta 4$ -, $\Delta 5$ -, $\Delta 6$ - a $\Delta 9$ - desaturasy. Tento desaturasový systém u savců, tedy i u člověka, není schopen vytvářet kyselinu linolovou a α -linolenovou, ty musí být proto dodávány potravou.

Mononenasycené mastné kyseliny (MUFA) jsou syntetizovány z nasycených mastných kyselin pomocí $\Delta 9$ -desaturasy (stearoyl-CoA desaturasy). Výsledkem desaturace kyseliny palmitové je kyselina palmitolejová (C 16:1 n-9), u stearové je to kyselina olejová (C 18:1 n-9).

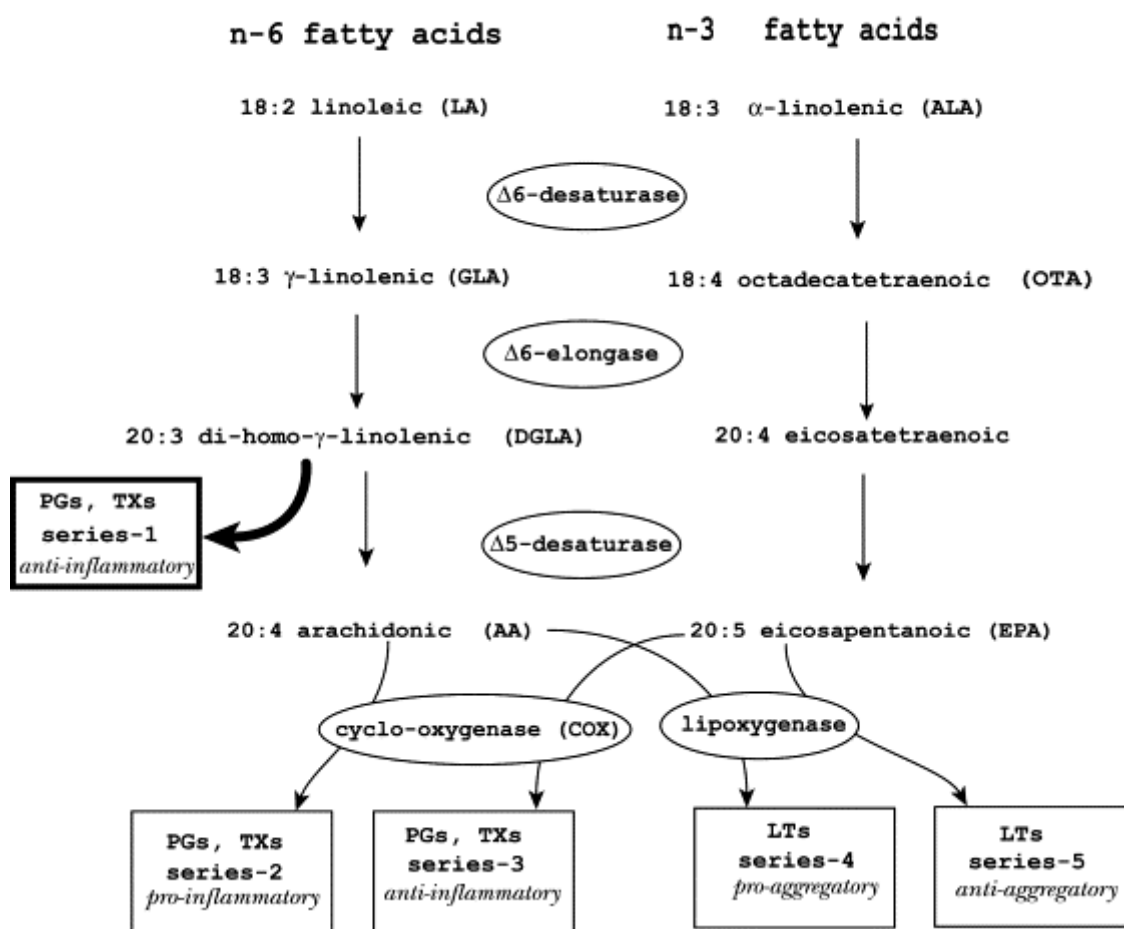
Esenciální polynenasycené mastné kyseliny (PUFA) se rozdělují do dvou skupin n-3 (ω -3) a n-6 (ω -6).

Mateřskou kyselinou řady n-6 je kyselina linolová (LA, C 18:2 n-6) a jejími hlavními metabolity jsou kyseliny γ -linolenová (C 18:3 n-6), dihomo- γ -linolenová (C 20:3 n-6), arachidonová (AA, C 20:4 n-6) a dokosatetraenová (C 22:4 n-6).

Mateřskou kyselinou řady n-3 je kyselina α -linolenová (ALA, C 18:3 n-3) a hlavními metabolickými produkty jsou kyseliny eikosapentaenová (EPA, C 20:5 n-3), dokosaheptaenová (DHA, C 22:6 n-3), dokosapentaenová (C 22:5 n-3) (Roche, 1999).

Řada patologických stavů je spojena s charakteristickými změnami ve složení mastných kyselin, které se projeví většinou zvýšeným obsahem SFA a sníženým obsahem PUFA. Takto se projevuje například dyslipidemie, malnutrice, zánět, oxidativní stres, poruchy metabolismu – metabolický syndrom, diabetes mellitus 2. typu (Tvrzická, 2009).

Metabolic Pathways of Essential Fatty Acids



Obr. 3. 1: Schéma syntézy esenciálních polynenasycených mastných kyselin

3. 1. 2. Triacylglyceroly

Triacylglyceroly (TAG) jsou estery glycerolu a mastných kyselin. Jednotlivé triacylglyceroly mohou mít všechny tři mastné kyseliny stejné, nebo rozdílné. V přírodních tucích jen velmi malá část má na všech esterových pozicích stejnou mastnou kyselinu. Většina z nich jsou smíšené acylglyceroly. Největší zastoupení mastných kyselin patří kyselině palmitové, stearové a olejové.

TAG nemají náboj a jsou neutrální. Mastné kyseliny jsou pro další použití skladovány ve formě triacylglycerolů ve všech buňkách organismu, nejvíce v adipocytech tukové tkáně. V tukové tkáni probíhá jejich neustálá syntéza a

lipolýza. Lipolýza je katalyzována hormonsenzitivní lipasou, která uvolňuje mastné kyseliny a glycerol (Matouš, 2010).

3. 1. 3. Fosfolipidy

Fosfolipidy jsou sloučeniny kyseliny fosforečné s glycerolem a dalšími látkami. Fosfátová skupina vytváří polární (hydrofilní) část, která umožňuje vazbu s bílkoviny a rozpustnost fosfolipidů ve vodném prostředí. Hydrofobní část je tvořena řetězcem mastných kyselin.

Do skupiny fosfolipidů se zařazují: fosfatidylglycerol, fosfatidylcholin, fosfatidylethanolamin, fosfatidylinositol, fosfatidylserin, lysofosfolipidy, plasmalogeny a sfingomyeliny (Debbyoti, 2005, Holeček, 2006). Hlavním významem fosfolipidů je, že jsou strukturální složkou membrán. Fosfolipidy vytvářejí nepropustnou konzistentní přepážku na molekulární úrovni - lipidovou dvojvrstvu. Ve vodném prostředí spontánně tvoří micely, kulovité útvary, v nichž hydrofobní konce mastných kyselin směřují dovnitř.

3. 1. 4. Cholesterol

Cholesterol je významnou složkou živočišných plasmatických membrán. Jeho polární OH-skupina mu poskytuje slabý amfifilní charakter, zatímco jeho kondenzované cykly mu zaručují větší pevnost, než mají ostatní membránové lipidy. Je rovněž hojně zastoupen v lipoproteinech krevní plasmy, kde je ho kolem 70% esterifikováno mastnými kyselinami s dlouhými řetězcem za vzniku cholesterol-esterů. Cholesterol je metabolickým prekurzorem steroidních hormonů, látek regulujících velké množství různých fyziologických funkcí (Voet, 1995).

Cholesterol se do organismu dostává s živočišnou potravou nebo se syntetizuje. Tvorba cholesterolu je jednou z nejkomplicovanějších syntéz v organismu. Vychází opět z acetyl-CoA a probíhá v cytosolu především hepatocytů (Řezáčová, 2008).

Mnohastupňový proces syntézy lze zjednodušeně rozdělit na 4 stádia:

- Syntéza β -hydroxy- β -methylglutarylCoA (HMG-CoA) z acetyl-CoA
- přeměna HMG-CoA na mevalonát a syntéza isopentenylidifosfátu
- vznik skvalenu kondenzací 6 isoprenových jednotek
- přeměna skvalenu na cyklický lanosterol a jeho přeměna na cholesterol (Štern, 2005).

Organismy savců včetně člověka nemají enzymovou výbavu, která by umožnila katabolizovat steranové jádro. Odstranění cholesterolu z organismu je možné několika způsoby. Cholesterol jako velmi málo polární a ve vodě prakticky nerozpustná látka nemůže být vylučován ledvinami. Proto je odsouván do jater, kde je buď ukládán a případně dále transportován ke tkáním, nebo je přeměněn na žlučové kyseliny a vyloučen do žluče. Primární žlučové kyseliny jsou kyselina cholová a kyselina deoxycholová.

3. 2. Metabolismus lipidů

3. 2. 1. Trávení a vstřebávání lipidů

Hlavní složkou lipidů přijatých v potravě jsou triacylglyceroly, v menší míře jsou zastoupeny i cholesterol a fosfolipidy. Minimální část lipidů je štěpena již v ústech a žaludku slinnou a žaludeční lipasou. Většina je trávena až v duodenu. Nejvýznamnější enzymy účastníci se trávení lipidů jsou pankreatická lipasa, cholesterolesterasa a fosfolipasa A2 (Holeček, 2006).

Aby se lipolytické enzymy v GIT plně uplatnily, je nutná přítomnost žlučových kyselin. Žlučové kyseliny jsou typické povrchově aktivní látky s emulgačním účinkem. Natrávená směs monoacylglycerolů, neesterifikovaných mastných kyselin, cholesterolu, částečně odbouraných fosfolipidů, malého podílu vitaminů rozpustných v tucích a lipofilních barviv (β -karoten) vytvoří ve střevě – hlavně v jejunu – spolu se žlučovými kyselinami směsnou micelu. Směsné micely se při transportu střevem dostanou do styku s kartáčovým lemem buněk střevní sliznice. Při tom se micela rozpadá a její složky se pasivně transportují

přes fosfolipidovou dvojvrstvu membrány enterocyty. Výjimkou jsou žlučové kyseliny, které se absorbují až v distálnějších úsecích střev. Absorbované vyšší mastné kyseliny ihned po průchodu membránou enterocyty podlehnou reesterifikaci a po vazbě na apoproteiny se v podobě chylomikronů transportují do *ductus thoracicus* (Harvey, 2010, Ledvina, 2004).

3. 2. 2. Lipoproteiny

Hydrofobní charakter lipidů způsobuje, že se jejich molekuly samotné nemohou v hydrofilním vnitřním prostředí organismu volně vyskytovat. V plazmě se pohybují buď ve vazbě na albumin, nebo ve formě lipoproteinů. Přítomnost apoproteinů jim poskytuje určitou skupinovou charakteristiku.

Lipoproteiny zaujímají v prostoru přibližně kulovitý tvar. Mají jednovrstevný povrch složený z molekul cholesterolu a fosfolipidů, uspořádaných tak, že jejich hydrofilní části jsou orientovány ven a hydrofobní dovnitř partikule. Molekuly apoproteinů jsou uloženy na tomto povrchu, nebo jsou do něho zanořeny a pouze část vyčnívá navenek. Jádro částice tvoří neuspořádané nepolární triacylglyceroly a estery cholesterolu (Štern, 2005).

Lipoproteiny byly rozděleny do pěti širších kategorií na základě svých funkcí a fyzikálních vlastností. Jsou to chylomikrony, lipoproteiny s velmi nízkou hustotou, lipoproteiny se střední hustotou, lipoproteiny s nízkou hustotou, lipoproteiny s vysokou hustotou.

3. 2. 2. 1. Apoproteiny

Proteinové složky lipoproteinů – apoproteiny - vznikají v játrech nebo ve střevě a liší se svojí strukturou a funkcí. Kromě strukturní úlohy (bez jejich přítomnosti nemohou být lipidy secernovány do krevního oběhu) se uplatňují při vazbě na příslušný receptor a regulaci aktivity enzymů lipoproteinového metabolismu.

Význam apoproteinů nespočívá pouze v zajištění transportu hydrofobních lipidů v plazmě. K jejich dalším funkcím patří:

- Jsou potřebné pro syntézu a sekreci specifických lipoproteinů
- aktivují enzymy modifikující lipoproteiny
- vážou se na specifické receptory na povrchu buněk, a tím zajišťují odstranění lipoproteinů z krevního oběhu (Racek, 1999).

3. 2. 2. 2. Chylomikrony

V enterocyty se z absorbovaných lipidů, hlavně triacylglycerolů a cholesterolu, vytvářejí velké částice – nascentní chylomikrony, jejichž charakteristickým integrálním apoproteinem je apo B48. Součástí v krvi kolujících chylomikronů jsou však i povrchové apo CI-III a apo E. Apo CII je nezbytný pro aktivaci lipoproteinové lipasy a apo E je nutný pro rozpoznání částice na receptorech v játrech. Chylomikrony se dostávají exocytózou do střevní lymfy a čirá lymfá se mění na zakalený chylus. Přes *ductus thoracicus* se chylus dostává do krevního oběhu. Chylomikrony se zachycují na vazebná místa endotelu kapilár. Lipoproteinová lipasa odštěpuje z chylomikronových triacylglycerolů mastné kyseliny. Volné mastné kyseliny se okamžitě vážou na albuminy a tak se transportují krví ke tkáním. Degradací činností se chylomikrony zmenšují a vytvářejí se z nich chylomikronové zbytky (remnants). Z jejich povrchu se uvolní apo C (přejde na HDL), zbytek je pak rozpoznán receptory pro remnants (apo E) v játrech a je v nich degradován (Metzler, 2003, Ledvina, 2004).

3. 2. 2. 3. VLDL - lipoproteiny o velmi nízké hustotě

Zbytky chylomikronů vycytené v játrech jsou degradovány v lysosomech a uvolní se z nich ještě mastné kyseliny, které by játra nevyužila. Proto dochází k resyntéze TAG a tvorbě transportní lipoproteinové částice s velmi nízkou hustotou – VLDL.

Jejich hlavním úkolem je transport TAG z jaterních buněk k ostatním tkáním, především svalům a tukové tkáni. Nascentní VLDL částice má kromě apoB-100 i malé množství apoC a apoE. Mastné kyseliny jsou z VLDL

uvolňovány stejným mechanismem jako z chylomiker, tedy aktivitou lipoproteinové lipasy, která je aktivována lipoproteinem apoC-II. Ztrátou mastných kyselin a glycerolu se VLDL přeměňují na IDL (Matouš, 2010, Řezáčová, 2008).

3. 2. 2. 4. IDL – lipoproteiny o střední hustotě

IDL obsahují ve srovnání s VLDL značně větší podíl cholesterolu – ten vzrostl relativně díky hydrolýze triacylglycerolů i absolutně přenosem esterů cholesterolu z HDL. IDL jsou pak vychytávány játry a metabolizovány nebo jsou jaterní buňkou za působení jaterní lipasy přeměněny na lipoproteiny typu LDL.

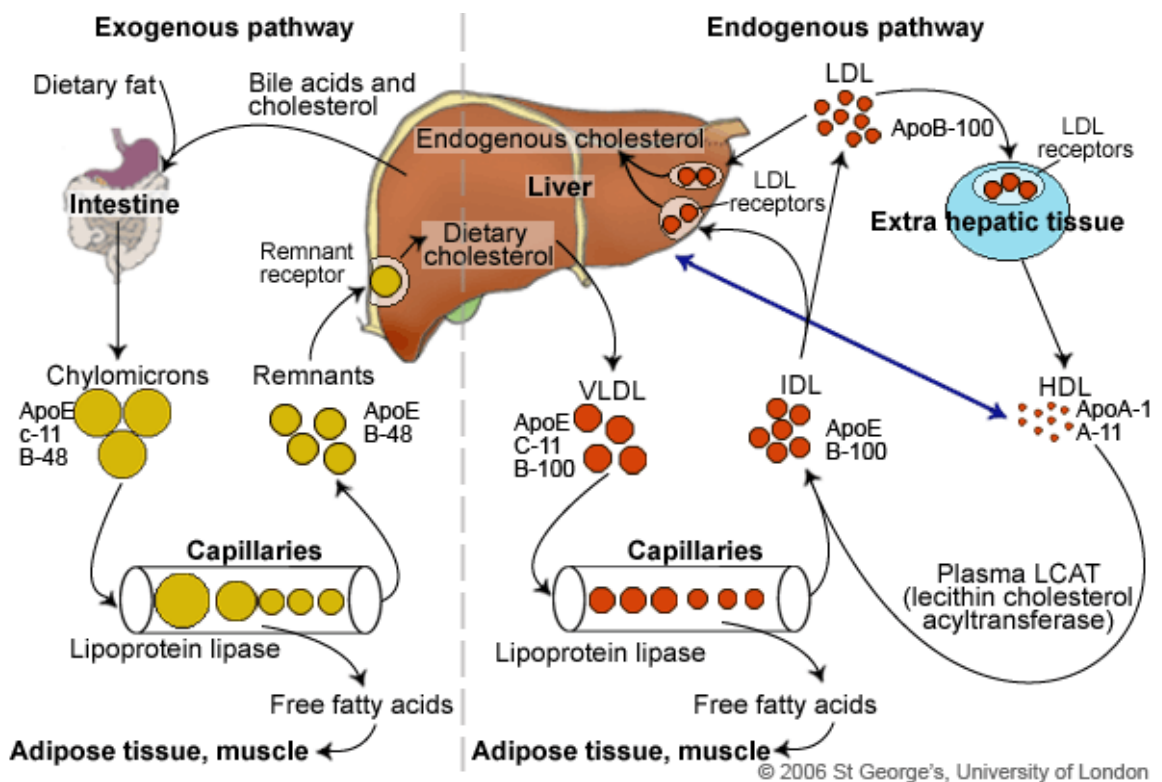
3. 2. 2. 5. LDL – lipoproteiny o nízké hustotě

Lipoproteiny o nízké hustotě představují hlavní typ lipoproteinů přenášejících cholesterol do periferie. Vznikají z IDL v játrech. Jádro LDL obsahuje téměř výlučně estery cholesterolu, povrch pak tvoří fosfolipidy, volný cholesterol a apoprotein B-100. LDL se vážou na membránový receptor prostřednictvím apoB-100. Estery cholesterolu jsou hydrolyzovány a dostávají se do buňky. Cholesterol se může stát součástí buněčných membrán, může být reesterifikován a uložen jako zásobní cholesterol (Metzler, 2003, Racek, 1999).

3. 2. 2. 6. HDL – lipoproteiny o vysoké hustotě

Lipoproteiny s vysokou hustotou vznikající v játrech a v enterocytech jsou diskovité, obsahují fosfolipidovou dvojvrstvu a volný cholesterol a označují se jako nascentní. Na svém povrchu mají apoproteiny apo A, C a E. Nascentní HDL interagují s lipolytickým enzymem lecithin-cholesterolacyltransferasou (LCAT), který je zodpovědný za esterifikaci cholesterolu. Důležitá je přítomnost apo A-I na povrchu HDL, která enzym aktivuje. V diskoidním HDL se vytváří z esterů hydrofobní jádro, částice se zakulacuje a přeměňuje na tzv. HDL3. Tato částice je zdrojem apo C a E pro chylomikrony a VLDL, ale také předává estery cholesterolu do chylomikronů, VLDL a LDL výměnou za TAG a volný

cholesterol. Výměna je zprostředkována bílkovinou přenášející estery cholesterolu. Zvýšení množství objemnějších TAG v částicích způsobí jejich další „zakulacení“ a HDL3 přechází v HDL2. Ty se vychytají na receptorech v játrech, nebo je atakována heparinem uvolnitelnou jaterní lipasou, která odbourá TAG a částice se dostane zpět do cirkulace jako HDL3. HDL jsou jediné částice, které jsou schopny efektivně odstraňovat cholesterol ze subendoteliálních prostorů v cévách (Ledvina, 2004).



Obr. 3. 2: Metabolismus lipoproteinů

3. 3. Endokrinní pankreas

Langerhansovy ostrůvky pankreatu jsou endokrinní žlázou, která je roztroušena uvnitř pankreatu. Buňky Langerhansových ostrůvků pankreatu produkují čtyři peptidové hormony: inzulin (α -buňky), glukagon (β -buňky), somatostatin (D-buňky) a pankreatický polypeptid (F-buňky).

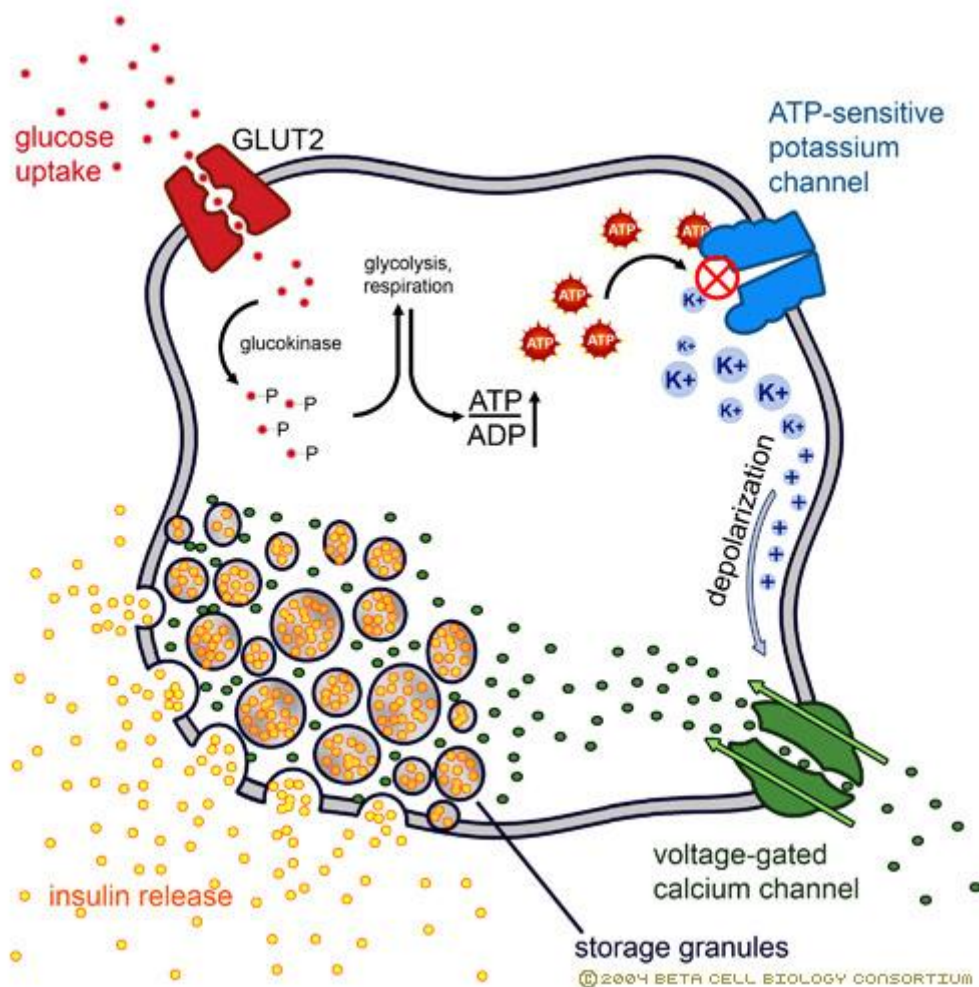
3. 3. 1. Inzulin

β -buňky uložené kolem krevní kapiláry představují zhruba 60% buněk ostrůvků. Jsou místem produkce inzulinu. Lidský inzulin je proteohormon, složený z 51 aminokyselin, organizovaných ve dvou polypeptidových řetězcích A a B, spojených dvěma disulfidickými můstky (Pitřhová, 2009).

3. 3. 1. 1. Biosyntéza a sekrece inzulinu

Nejprve se v β -buňkách tvoří preproinzulin, ze kterého odštěpením signálního peptidu vzniká proinzulin. V Golgiho aparátu dojde k odštěpení C-peptidu a vzniká molekula vlastního inzulinu. C-peptid a inzulin jsou posléze uvolňovány v ekvimolárním poměru. Inzulin ve vazbě na ionty zinku tvoří hexamery a je shromažďován v sekrečních granulích (Koolman, 2005, Seino, 2010). Při stimulačním podnětu dochází k přesunu sekrečních granul s inzulinem pomocí mikrotubulů a mikrofilament k plazmatické membráně β -buněk. Aby mohlo dojít k sekreci inzulinu, musí nejprve do β -buněk pankreatu vstoupit glukosa, která je metabolizována na pyruvát glukokinasou. Zvýší se poměr ATP/ADP a dojde k uzavření draselných kanálů, depolarizaci a otevření vápenatých kanálů. Tím dojde k aktivaci exocytózy a uvolnění inzulinu (McGarry, 1999).

Inzulin se uvolňuje trvale po celých 24 hodin v malých dávkách. Po jídle dochází k vyplavení většího množství inzulinu, který ovlivní hodnotu postprandiální glykémie. Po stimulaci se inzulin z β -buněk vyplavuje ve dvou fázích. V časně fázi, v průběhu 5-10 minut po působení stimulu se uvolňuje inzulin z pohotovostní zásoby. V průběhu pozdní fáze sekrece při delší stimulaci vysokou koncentrací glukosy dochází k uvolnění nově nasyntetizovaného inzulinu (Pitřhová, 2009).



Obr. 3. 3: Sekrece inzulínu

3. 3. 2. Vstup glukosy do buněk

Molekuly glukosy jsou hydrofilní, a proto nemohou volně difundovat buněčnou membránou. Odsun glukosy z plasmy a její vstup do buněk je proto zprostředkován proteiny (glukosové transportéry – GLUT), které cirkulují mezi buněčnou membránou a cytoplasmou.

Podle odpovědi na inzulín se rozlišují dva základní typy odsunu glukosy:

- a) Inzulín-dependentní transport. Uplatňuje se zejména po příjmu potravy. Je zprostředkován glukosovými transportéry GLUT4 a podmínkou je přítomnost inzulínových receptorů v cílových tkáních. Hlavními

představiteli inzulin-senzitivních tkání jsou svalová a tuková tkáň, ale také játra a střevo.

- b) Non-inzulin-dependentní transport. Glukosa vstupuje do buňky facilitovanou difúzí, která závisí pouze na koncentračním gradientu. Non-inzulin-dependentní transport probíhá ve všech tkáních a je zprostředkován glukosovými transportéry GLUT1, 2, 3, 5. Významně se uplatňuje ve tkáních, například v CNS, dále u krevních elementů, imunokompetentních a endotelových buněk, varlat či sítnice oka. Glukosa pro ně představuje prakticky jediný energetický substrát (Pelikánová, 2010).

Inzulin musí být dopraven z pankreatických ostrůvků na místo svého působení krevním oběhem. Předpokladem účinku inzulinu je jeho vazba na specifické receptory. Inzulinovým receptorem je glykoprotein, skládající se z částí α a β , které jsou spojeny disulfidovými vazbami. Části α jsou orientovány na vnější stranu membrány a váže se na ně molekula inzulinu. Část β zaujímá celou šíři buněčné membrány a může tak sloužit jako efektorová součást receptorového glykoproteinu (Páv, 1988).

Po vazbě inzulinu na receptor nastává zkřížená fosforylace β -podjednotek. Kaskádou dalších fosforylací se aktivuje tyrosinkinasa, která navozuje biologický účinek inzulinu – zabudování glukosových transportérů do plasmatických membrán, zejména svalových a tukových buněk (Barthel, 2003).

3. 3. 3. Metabolické účinky inzulinu

V játrech dochází pod vlivem inzulinu ke zvýšení syntézy glykogenu aktivací glykogensynthasy a inhibicí fosforylasy. Současně inzulin účinkem na pyruvátkarboxylasu, fosfoenolpyruvátkarboxykinasu a pyruvátkinasu inhibuje jaterní glukoneogenezi.

V tukové tkáni inzulin inhibuje hormon-senzitivní lipasu, která hydrolyzuje TAG a uvolňuje MK. Účinkem inzulinu je zabráněno lipolýze a dochází k ukládání tuků. Dále inzulin stimuluje lipoproteinovou lipasu, která

umožňuje vstup TAG do adipocytů. Pod vlivem inzulinu dochází k syntéze MK a glycerol-3-fosfátu z glukosy, tyto substráty jsou využity k syntéze TAG.

V oblasti metabolismu aminokyselin a proteinů způsobuje inzulin zvýšený vstup aminokyselin do svalů, kde je stimulována proteosyntéza a inhibována proteolýza (Anděl, 2001).

3. 4. Diabetes mellitus

Pojmem diabetes mellitus se rozumí skupina chronických metabolických chorob, jejichž základním rysem je hyperglykémie. Diabetes vzniká v souvislosti s poruchou sekrece nebo účinku inzulinu a je provázen komplexní poruchou metabolismu cukrů, tuků a bílkovin.

Nejvýraznější je porucha metabolismu glukosy, která je spojena s charakteristickými dlouhodobými vaskulárními a neurologickými komplikacemi. Ty jsou dnes hlavní příčinou morbidity a mortality diabetiků (Pelikánová, 1999).

DM je velký medicínský, sociální a ekonomický problém v zemích s tzv. západním životním stylem. Tento životní styl je charakteristický nízkou pohybovou aktivitou s postupným vznikem obezity, inzulinové rezistence a nakonec vznikem diabetes mellitus 2. typu s následnými diabetickými komplikacemi, které vedou ke zkrácení života a ke zhoršení jeho kvality (Šálek, 2007, O'Rahilly, 1997).

3. 4. 1. Diabetes mellitus 1. typu

Bývá označován IDDM, diabetes mellitus závislý na inzulinu. Jde o skutečný defekt tvorby inzulinu, vyvolaný postupnou destrukcí β -buněk Langrehansových ostrůvků. Jedná se o absolutní nedostatek inzulinu, který je většinou způsoben autoimunitním procesem (Valentine, 1994). Vytvářejí se protilátky proti řadě autoantigenů, například proti dekarboxylase kyseliny glutamové, proti inzulinu a proinzulinu, proti buňkám Langerhansových ostrůvků či proti izoformám tyrosinové fosfatasy. Spouštěcím mechanismem, který navodí

autoimunitní proces, je pravděpodobně virová infekce či styk s jiným exogenním nebo endogenním agens (Ríos, 2010).

Chybějící účinek inzulínu vede ke vzestupu glykémie. Tím se zvyšuje jednak osmolalita vnitřního prostředí, jednak dochází k překročení ledvinového prahu pro glukosu s následným přestupem glukosy do moče a rozvojem osmotické diurézy. Polyurie a zvyšující se osmolalita vedou k žízní a pokud selže korekce zvýšením příjmu tekutin, dochází k výrazné dehydrataci. Při absolutním nedostatku inzulínu je zablokován vstup glukosy do periferních tkání, je vystupňovaná lipolýza, zvýšená glukoneogeneze a glykogenolýze a stoupá hladina volných mastných kyselin v plazmě s následným hromaděním ketolátek a rizikem vzniku ketoacidózy (Pitřhová, 2009).

3. 4. 2. Diabetes mellitus 2. typu

Bývá označován NIDDM, diabetes mellitus nezávislý na inzulínu. Jedná se o onemocnění, které je charakterizované zvýšením inzulínové rezistence a porušenou sekrecí inzulínu. Nezbytným předpokladem vzniku diabetu 2. typu je přítomnost obou poruch (Helmrich, 1991, Zenobi, 1992). Diabetes mellitus 2. typu je nejčastější metabolickou chorobou vyznačující se relativním nedostatkem inzulínu, který vede v organismu k nedostatečnému využití glukosy projevujícím se hyperglykemií.

DM 2. typu je jedním z projevů metabolického syndromu. Nemocní mají současně další abnormality (dyslipidémie, hypertenze, centrální obezita, endoteliální dysfunkce, vyšší náchylnost k tvorbě trombů), které zvyšují jejich kardiovaskulární riziko (Pelikánová, 2010).

Jde o masové civilizační onemocnění, na jehož vzniku se podílí jak genetická predispozice, tak řada faktorů životního stylu. Riziko vzniku diabetu výrazně zvyšuje přibývání na váze, obezita a s tím související nedostatek fyzické aktivity. Diabetes a inzulínová rezistence je také ovlivňována přijímanou potravou (Hu, 2001). Fyzická aktivita snižuje inzulínovou rezistenci a pravidelné cvičení zlepšuje glukosovou toleranci.

Onemocnění se manifestuje nejčastěji v dospělosti, obvykle ve věku nad 40 let. Do této skupiny patří 90% diabetiků.

3. 4. 2. 1. Inzulinová rezistence

V případě, kdy normální koncentrace volného plasmatického inzulínu vyvolá menší metabolickou odpověď, než je očekáváno, mluví se o tzv. inzulinové rezistenci (IR) či snížené citlivosti tkání k inzulínu. V důsledku IR vzniká relativní hyperglykémie následovaná nadměrnou sekrecí inzulínu, která vede k hyperinzulinismu. Rozhodujícím faktorem rozvoje IR je obezita.

Poruchy účinku inzulínu zahrnují jak defekty receptorové, tak postreceptorové. Mezi postreceptorové defekty patří snížená aktivita tyrosinkinasy, zhoršený glukosový transport, zhoršení aktivity glykogensynthasy a snížená stimulace pyruvátdehydrogenasy (Anděl, 2001).

Příčinami selhání sekrece inzulínu u diabetiků 2. typu jsou toxické působení lipidů (lipotoxicita), toxické působení hyperglykémie (glukotoxicita), špatný přenos glukosy do buněk (poruchy přenašečů GLUT), vyčerpání β -buňky, depozita tuku a dalších látek v Langerhansových ostrůvcích (Svačina, 2006).

Expozice β -buněk Langerhansových ostrůvků zvýšeným koncentracím MK může přispívat ke kvalitativním i kvantitativním abnormalitám jejich funkce. Chronické zvýšení plazmatických MK negativně ovlivňuje sekreci inzulínu a jeho účinky nebo může v buňkách indukovat apoptózu. Především se jedná o palmitát a oleát, které mají cytostatický efekt na sekreci inzulínu (Lupi, 2002, Cnop, 2001).

MK se hromadí v buňce, kde jsou přednostně využívány jako zdroj energie na úkor glukosy (Randlerův fenomén). Koncentrace glukosy v plazmě stoupá také díky zvýšené jaterní glukoneogenezi, kdy je aktivována fosfoenolpyruvátkarboxykinasa a glukosa-6-fosfatasa zvýšenou koncentrací MK. Hyperglykémie má také cytostatický a apoptotický účinek na β -buňky pankreatu (Kahn, 2000, Del Prato, 2009).

V literatuře se syndrom IR označuje také jako syndrom X, Reavenův syndrom či metabolický syndrom. Metabolický syndrom zahrnuje přítomnost inzulinové rezistence, centrálního typu obezity, hyperinzulinémie, poruchu glukosové tolerance či DM 2. typu, hypertenze, hyperurikémie, poruchy hemokoagulace a poruchy funkce endotelu (Goldemud, 2003).

3. 4. 2. 2. Diabetes mellitus a poruchy v metabolismu lipidů

Inzulinová rezistence a tedy i diabetes mellitus 2. typu jsou spojeny s lipoproteinovými abnormalitami, které zahrnují snížení HDL-cholesterolu, zvýšení hladiny TAG a zvýšené množství malých denzních LDL částic, zvýšení hepatální sekrece velkých VLDL a poruchu vychytávání VLDL (Krauss, 2004). Na vzestupu poměru LDL/HDL cholesterolu se podílí i pokles počtu LDL-receptorů.

Při inzulinové rezistenci a diabetes mellitus 2. typu je inzulinem nedostatečně inhibována hormon-senzitivní lipasa, to vede ke zvýšené hydrolyze triacylglycerolů a zvýšenému uvolňování mastných kyselin z tukové tkáně. Zvýšená lipolýza vede ke zvýšení cirkulujících mastných kyselin, ty se mohou ukládat v buňkách a je také zvýšená nabídka mastných kyselin játrům.

Zvýšená nabídka mastných kyselin játrům je využita v několika směrech. Část je v cytoplazmě hepatocytů reesterifikována za vzniku triacylglycerolů a secernována do krve ve formě VLDL. Na vyšší koncentraci VLDL se podílí i jejich snížené vychytávání z plazmy při nedostatečné aktivaci lipoproteinové lipasy inzulinem. VLDL partikule při IR jsou větší a obsahují více TAG. Tím dochází k hypertriacylglycerolémii (Holeček, 2006, Krauss, 2004).

Při katabolismu VLDL vznikají malé denzní LDL částice. Jejich zvýšení je prokazatelně aterogenní, neboť jsou pomaleji katabolizovány prostřednictvím LDL receptorů, k nimž mají sníženou afinitu a tím zůstávají déle v plazmě. Malé denzní LDL částice více podléhají oxidační modifikaci a glykaci. Glykované LDL částice jsou rychleji ukládány do cévní stěny a podílejí se na vzniku aterosklerotického plátu. Vznik malých LDL závisí na hladině TAG. Jejich

koncentrace se začíná zvyšovat již při triacylglycerolémii nad 1,5 mmol/l (Howard 1987, Pelikánová, 2010).

Pokles HDL cholesterolu při IR se obvykle vysvětluje zvýšením TAG, které jsou urychleně směřovány za estery cholesterolu. Jejich vzájemná výměna je zprostředkována CETP (cholesterol transfer protein), jehož aktivita je při IR zvýšena. Cholesterol se tak vrací do aterogenních částic VLDL a LDL. HDL, které jsou obohaceny o TAG, jsou rychleji degradovány hepatální lipasou. Snížená hladina HDL cholesterolu je spojena s prokazatelně vyšším rizikem srdečních chorob (Krauss, 2004).

Protože vysoká koncentrace mastných kyselin v mitochondriích inhibuje některé enzymy citrátového cyklu, je část vytvářeného acetyl-CoA využita pro syntézu ketolátů a cholesterolu. Všechny ketolátky se vylučují močí, část acetonu (zejména u diabetického kómatu) se eliminuje plicemi. Zvýšená produkce NADH při β -oxidaci podporuje syntézu glycerol-3-fosfátu, jenž je využit pro syntézu triacylglycerolů (Holeček, 2006).

3. 4. 2. 3. Vliv mastných kyselin

SFA mají významný aterogenní a trombogenní potenciál. Tyto kyseliny představují 90% celkových SFA přijímaných potravou. Pravidelná konzumace SFA s dlouhým řetězcem zvyšuje hladinu cholesterolu, především LDL cholesterolu, který je aterogenní a je dáván do souvislosti se zvýšenou úmrtností na ischemickou chorobu srdeční. Nasycené mastné kyseliny jsou prokazatelně toxické.

Metabolický účinek PUFA n-6 zahrnuje zvýšenou syntézu cholesterolu, zvýšenou aktivitu LDL- receptorů a sníženou konverzi VLDL na LDL. Vysoký příjem n-6 mastných kyselin má vliv na zvýšení viskozity krve, ovlivňuje vasokonstrikci a zvyšuje krvácivost (Simopoulos, 1999).

N-3 mastné kyseliny mají opačné účinky než skupina n-6, mají protizánětlivé, antitrombotické, antiarytmické, hypolipidemické a vasodilatační vlastnosti. Příznivých účinků n-3 se využívá při prevenci koronárních

onemocnění, hypertenze, diabetes mellitus 2. typu a u některých pacientů s renálním onemocněním, revmatoidní artritidou či ulcerativní kolitidou (Haugaard, 2006).

Konzumace ALA snižuje riziko kardiovaskulárních onemocnění, ovlivňuje srdeční funkci a snižuje hladinu cholesterolu, také snižuje riziko vzniku inzulinové rezistence. EPA a DHA snižují hladinu plazmatických TAG, a to jak snížením syntézy v játrech, tak i zvýšeným vychytáváním v krevním oběhu, zvyšují HDL cholesterol a zvyšují aktivitu lipoproteinové lipasy (Hu, 2001, Poudyal, 2011). AA a EPA jsou prekurzory eikosanoidů, prostaglandinů, leukotrienů a tromboxanů. Prostaglandiny z EPA mají jiné vlastnosti než prostaglandiny z AA. EPA a DHA mají pozitivní kardiovaskulární a protizánětlivé účinky tím, že snižují produkci tromboxanu A₂, který je silným aktivátorem destiček, leukotrienu B₄, jenž je silným induktorem chemotaxe leukocytů. Dále zvyšují produkci tromboxanu A₃, který je slabým aktivátorem destiček, a leukotrienu B₅, jenž je slabým induktorem zánětu (Simopoulos, 1991).

Vysoký příjem MK s trans-dvojnou vazbou obsažených v živočišném tuku je nežádoucí, neboť mají aterogenní a trombogenní účinek, zvyšují LDL cholesterol a TAG a snižují HDL cholesterol (Goldemud, 2003).

3. 4. 3. Diagnostika diabetu

O diagnóze diabetu svědčí:

- přítomnost klinické symptomatologie provázené náhodnou glykemií vyšší než 11,1 mmol/l (stačí jedno stanovení)
- při nepřítomnosti klinických projevů, nález koncentrace glukózy v žilní plazmě nalačno vyšší než 7,0 mmol/l (v plné kapilární krvi nad 6,1 mmol/l) po osmihodinovém lačnění
- nález glykémie za 2 hodiny při orálním glukosovém tolerančním testu (oGTT) vyšší nebo rovné 11,1 mmol/l v kapilární krvi nebo v žilní plazmě.

Mezi klasické příznaky diabetu patří polydipsie, polyurie, hubnutí při normální chuti k jídlu, únava a poruchy zrakové ostrosti (*Klener*).

Mezi vyšetřované parametry patří glykémie, glykovaný hemoglobin a lipidogram, který zahrnuje celkový cholesterol, LDL a HDL-cholesterol a TAG, k diagnostice diabetu slouží oGTT.

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.

Orální glukosový toleranční test slouží k posouzení glukosové tolerance prostřednictvím glykemií stanovených v průběhu testu. Provádí se při podezření na diabetes a v těhotenství. Pacientovi se odebere krev nalačno, pak se podá 75g glukosy rozpuštěné ve 300ml vody a odebere se krev za 1 a 2 h.

Nejdůležitější parametr pro posouzení dlouhodobé kompenzace diabetu je glykovaný hemoglobin. Celkový glykovaný hemoglobin je směsí tří frakcí HbA1a, HbA1b a HbA1c. Na rozdíl od ostatních frakcí, které vážou jiné hexosy, je část HbA1c specifická pouze pro glukosu. Referenční meze pro zdravé dospělé osoby jsou 4-6% (*Pelikánová, Mayfield*). Pomocí glykovaného hemoglobinu lze získat představu o průměrné glykémii za posledních 6-8 týdnů.

3. 4. 4. Komplikace diabetu

3. 4. 4. 1. Akutní komplikace

Akutní komplikace u diabetes mellitus znamenají možné ohrožení života pacienta v krátkém čase. Akutními komplikacemi jsou hypoglykémie a hyperglykémie.

Hypoglykémie je stav, kdy glykémie v kapilární plasmě klesne pod 3,3 mmol/l. Klinicky se projeví třesem, pocením, hladem, tachykardií, nervozitou (*Bělobrádková, 2006*).

Podobně jako hypoglykémie je i definice hyperglykémie založena na laboratorní hodnotě, která je vyšší než stanovená horní hranice rozpětí zdravé populace. Diagnostika hyperglykemického syndromu je založena především na výsledcích laboratorního vyšetření glykemií, neboť klinické projevy bývají značně pozdní a mnohdy i při vysokých glykemiích (15 – 20 mmol/l) mohou zcela chybět (Zima, 2007).

Přestoupí-li koncentrace glukosy v krvi a tudíž i v primární moči schopnost ledvin zpět glukosu vstřebávat, dostává se cukr do moči a dochází ke ztrátám glukosy močí.

Při nadbytku extracelulární i intracelulární glukosy, jenž nemůže být při diabetu normální cestou zpracována, se glukosa váže na proteiny, které mohou do své molekuly vázat glukosu kovalentní vazbou na koncovou aminoskupinu bez účasti enzymů (Klener, 2006). Tato neenzymatická reakce je nejlépe známa vznikem glykovaného hemoglobinu, který způsobuje deformabilitu erytrocytů. Nejdelší, snad i trvalý efekt mají tzv. pozdní produkty glykace AGE, které vznikají spojením s látkami dlouhé životnosti jako je kolagen. Glykace struktur bazální membrány kapilár způsobuje poruchu permeability, glykace struktur vaziva vede k poruše pevnosti a elasticity (Pelikánová, 1999).

Tato vazba pak spustí řadu aktivačních reakcí, které vedou k funkčním a morfologickým změnám tkání.

3. 4. 4. 2. Chronické komplikace

Diabetes mellitus je chronické onemocnění, které po letech svého trvání vyvolává změny v organismu. Konečným důsledkem změn je selhání činnosti orgánů. Specifické komplikace diabetu jsou důsledkem dlouhodobě přítomné hyperglykémie (Bělobrádková, 2006).

Tkáňové a orgánové změny jsou jednak mikrovaskulární (retinopatie, nefropatie, neuropatie) a jednak makrovaskulární (postižení koronárních arterií a periferních cév).

Charakteristickým projevem déle trvajících diabetu je rozšíření (ztluštění) bazální membrány kapilár a prekapilár, přesahující svým rozsahem fyziologické ztluštění, ke kterému dochází s přibývajícím věkem. Změny se týkají kapilárních bazálních membrán, glomerulárního mesangia, bazální membrány Bowmanova pouzdra a stěny ledvinových kanálků. Ztluštění kapilární bazální membrány je patrně přítomno ve všech orgánech (Páv, 1988).

Diabetickou nefropatii lze obecně charakterizovat jako poruchu průtoku krve ledvinami a jako poruchu tvorby extracelulárních struktur. Prvním znakem nefropatie je poškození glomerulárních funkcí. Bazální membrána kapilár glomerulů je ztluštěná a průsvit kapilár může být obliterován. Časem dochází ke skleróze glomerulů (Nečas, 2006). Důsledkem jsou iniciální změny: vzestup renálního průtoku krve, glomerulární hyperfiltrace a hypertrofie nefronů. Klinicky rozpoznatelným stadiem diabetické nefropatie je opakované zjištění mikroalbuminurie.

Retinopatie se klinicky projeví charakteristickými změnami na očním pozadí, poruchami zraku, případně až úplnou slepotou. Retinopatie může procházet třemi stádii, neproliferativní, preproliferativní a proliferativní. Objevují se mikroaneurismata, drobná ložisková krvácení, ložiska exsudátů, edémy a ischémie (Klener, 2006).

Neuropatie je nejčastější chronickou komplikací diabetu, vyznačuje se nejrůznějšími projevy jako difúzní nebo fokální poškození periferních somatických nebo autonomních nervových vláken, a tvoří tak velkou heterogenní skupinu poruch periferního neuronu (Rybka, 2007). Autonomní diabetická neuropatie postihuje řadu orgánů – v kardiovaskulárním systému vede k srdečním arytmiím, bezbolestnému průběhu infarktu myokardu a posturální hypotenzi.

Diabetická noha je závažnou komplikací diabetu, vzniká na základě neuropatie a postižení velkých a malých cév. Změny vedou k otlakům, vředům, flegmónám, nekrotickým tkáně a gangréně. Základním momentem pro vznik diabetické nohy je zhroucení nožní klenby v důsledku poruchy inervace

interoseálních svalů. Závažnou komplikací diabetu je urychlený rozvoj aterosklerosy zejména v aortě, dále také ve velkých a středních cévách. Častou příčinou úmrtí diabetiků je infarkt myokardu (Nečas, 2006).

3. 5. Chromatografie

K rozdělení lipidů krevní plazmy na jednotlivé frakce jsou všeobecně používány chromatografické metody. 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. Princip chromatografie

Chromatografie je separační technika, která využívá dělení složek mezi dvěma fázemi, z nichž jedna je stacionární a druhá mobilní.

Vzorek se umístí na začátek stacionární fáze. Pohybem MF přes stacionární fázi je vzorek touto soustavou unášen. Složky vzorku mohou být SF zachycovány, a proto se při pohybu zdržují. Více se zdrží složky, které jsou stacionární fází poutány silněji. Tím se postupně složky od sebe separují a na konec SF se dostávají dříve složky méně zadržované (Klouda, 2003).

3. 5. 2. Rozdělení chromatografických metod

Chromatografických metod je velké množství, proto je účelné jejich rozdělení do několika skupin podle různorodosti separačního procesu.

Primární je rozdělení na plynovou (GC) a kapalinovou (LC) chromatografii, podle toho v jakém skupenství se nachází mobilní fáze. V kapalinové chromatografii existuje další třídění podle formy lože sorbentu – na chromatografii kolonovou (CC) a chromatografii v plošném uspořádání, kam patří chromatografie na papíru (PC) tenkovrstevná chromatografie (TLC).

Dále lze chromatografické metody dělit podle povahy separačního děje. Při separaci se uplatňuje několik fyzikálně-chemických dějů současně, ale jeden z nich převládá:

- Rozdělovací chromatografie – 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 (Klouda, 2003).

3. 5. 3. Chromatografie na tenké vrstvě (TLC)

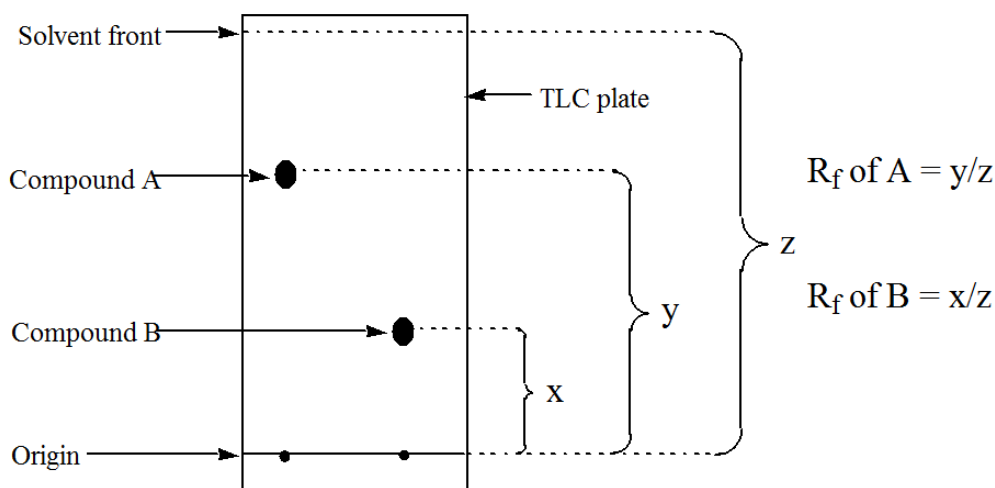
Hlavním prvkem TLC je chromatografická deska. Jedná se o skleněnou, hliníkovou nebo plastovou, která je pokryta vrstvou sorbentu. Nejběžnějším sorbentem v TLC je silikagel, z dalších materiálů se používá oxid hlinitý, celulosa či polyamid (Čůta, 1986).

Moderní modifikací TLC je HPTLC (High Performance TLC – vysoce účinná tenkovrstevná chromatografie), kde se používá vrstva tříděného mikropórovitého sorbentu (silikagelu). HPTLC dovoluje zpracovávat i 20 vzorků na jedné desce současně.

Vzorek se nanáší pomocí kapiláry nebo mikropipety na start, který je blízko jednomu konci plochy. Připravená deska se vyvíjí v uzavřené komoře, kde ne dně je vrstva mobilní fáze a její atmosféra je nasycena parami mobilní fáze.

Skvrny nanesených látek nesmějí být ponořeny. Kapilárními silami vztlínající rozpouštědlo unáší jednotlivé složky vzorku různou rychlostí, a to tím rychleji, čím méně se poutají na stacionární fázi a čím lépe jsou rozpustné ve fázi mobilní. Proto se vzorek rozdělí na zóny obsahující jednotlivé složky. Deska se v komoře ponechá tak dlouho, až čelo rozpouštědla dosáhne určité předem označené vzdálenosti od startu. Potom se deska vyjme, usuší a rozdělené složky musí být lokalizovány (Čůta, 1986). K detekci skvrn se použije buď jejich přirozeného zbarvení, nebo se skvrny zviditelní reakcí s vhodným činidlem, pod UV zářením apod.

Základní veličina, která charakterizuje polohu separovaných zón, se nazývá retenční faktor R_f . Retenční faktor je vyjádřen jako podíl vzdáleností středu skvrny od startu (x) a čela od startu (z).



Thin layer chromatogram

Obr 3. 4: Schéma výpočtu retenčního faktoru pro TLC

V daném systému a za daných podmínek je retenční faktor pro určitou látku konstantou. Látky v TLC se vyhodnocují na základě hodnot R_f a jejich shody 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.

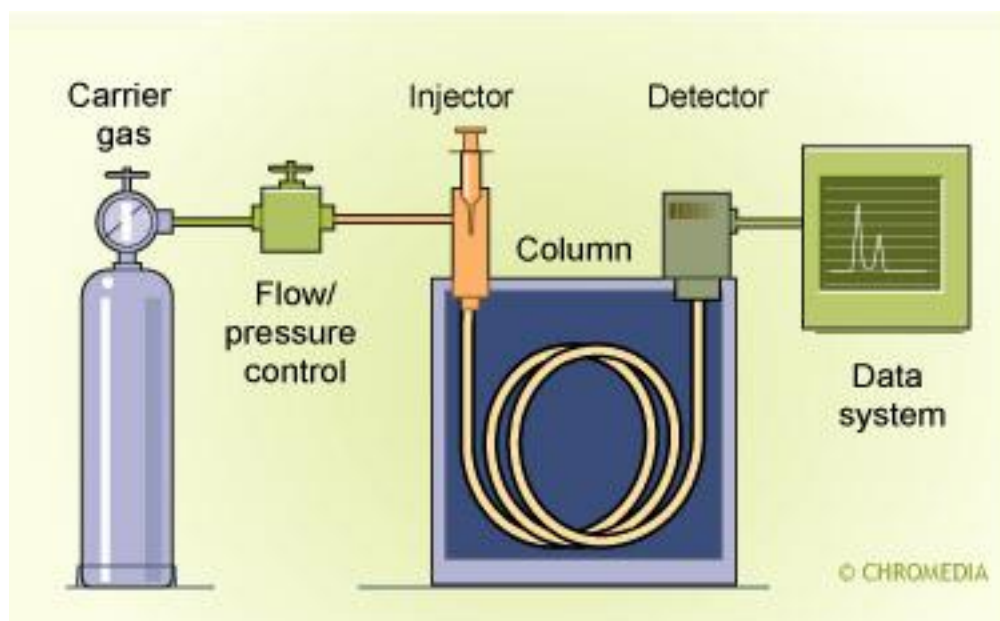
spektrofotometricky nebo jinou metodou. Mezi přímé metody patří měření plochy skvrny (logaritmus plochy skvrny je úměrný koncentraci), radiochemické metody (jde-li o radioaktivně značené látky) a denzitometrie. Použití skenovacích fotodenzitometrů je nejrozšířenější a poskytuje nejpřesnější výsledky (Klouda, 2003).

3. 5. 4. Plynová chromatografie (GC)

Plynová chromatografie je separační metoda, která k separaci plynů a par využívá dvě heterogenní fáze. Mobilní fází je zpravidla inertní plyn. Stacionární fází je nejčastěji kapalina zakotvená na inertním nosiči. Značnou výhodou plynové chromatografie je použití plynu jako mobilní fáze. Nosný plyn je málo viskózní a je stlačitelný. 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.

Plynovou chromatografií lze separovat takové látky, které mají dostatečný tlak syté páry, jsou tepelně stálé a mají relativní molekulovou hmotnost menší než 1000. Metoda není použitelná k separaci makromolekul, organických a anorganických solí (Klouda, 2003).

Plynový chromatograf se skládá z několika částí, jsou to: zásobník plynné fáze, zařízení na regulaci tlaku/průtoku plynné fáze, dávkovací zařízení, chromatografická kolona, termostat, detektor, zařízení na zpracování signálu detektoru a vyhodnocení analýzy.



Obr. 3. 5: Schéma plynového chromatografu

Činnost plynového chromatografu lze popsat zjednodušeným způsobem: Z tlakové láhve přechází nosný plyn redukčním ventilem do regulátoru tlaku, kde se nastaví požadovaný tlak na vstupu kolony. Vzorek se dávkuje do proudu nosného plynu v dávkovači a je plynem vnesen do chromatografické kolony. V koloně se vzorek rozdělí na složky, které jsou nosným plynem postupně vymývané do detektoru, jehož signál se zpracuje a vyhodnotí (Churáček, 1990).

Zdrojem nosného plynu je tlaková láhev obsahující vodík, dusík, helium nebo argon. Volbu nosného plynu ovlivňuje více faktorů, jedním z rozhodujících je typ použitého detektoru. Mezi další patří inertnost, čistota, viskozita, hustota plynu a bezpečnost při práci.

Regulační systém zajišťuje stálý nebo programově se měnící průtok nosného plynu. Udržování definovaného průtoku nosného plynu kolonou je důležitou součástí analýzy, protože průtok ovlivňuje jak kvalitativní, tak kvantitativní analýzu.

Úlohou dávkovače je rychle a reprodukovatelně dávkovat do kolony plyný kapalný nebo tuhý vzorek. Při dávkování je třeba zajistit, aby vzorek

vníkl do kolony v co nejkratším čase a aby se nezměnily tepelné a tlakové podmínky v koloně.

Kolona je část chromatografu, ve které je umístěna stacionární fáze a kde nastává separace složek. Kolony mohou být náplňové nebo kapilární. Náplňové kolony jsou trubice naplněné sorbenty nebo nosiči pokrytými kapalnou fází. Kapilární kolony využívají jako nosiče stacionární fáze své vnitřní stěny. Stacionární kapaliny by měly dobře rozpouštět separované látky a samy být teplotně stálé a málo těkavé. Měly by pevně ulpívat na nosiči, aby nedocházelo k jejich vymývání z kolony (Klouda, 2003, Churáček, 1990).

Účelem detektoru je zvýraznit rozdíl signálů při průchodu samotného nosného plynu a při průchodu nosného plynu obsahujícího eluovanou složku na výstupu z kolony. Prvním předpokladem úspěšné detekce je dobré rozdělení analyzované směsi na koloně. Charakteristikou dobrého detektoru je dobrá stabilita signálu, velká citlivost a dostatečně rychlá reakce na změnu složení procházejícího eluentu. Nejpoužívanější detektory jsou tepelně-vodivostní, plamenový ionizační a detektor elektronového zachytu (Čůta, 1986).

Tepelně vodivostní detektor (TCD) – Nosný plyn proudí přes vlákno žhavené stálým elektrickým proudem a ochlazuje jej na určitou teplotu. Přítomnost složky změní tepelnou vodivost prostředí kolem žhaveného vlákna, a tím jeho teplotu a elektrický odpor. TCD je univerzálním detektorem.

Plamenový ionizační detektor (FID) je nejrozšířenějším detektorem v plynové chromatografii. Molekuly plynu se ionizují v kyslíkovodíkovém plameni a vedou ionizační proud mezi elektrodami. Přítomnost složky zvýší ionizaci a tím i elektrický proud mezi elektrodami. Jako nosný plyn se nejlépe hodí dusík. Detektor je velmi citlivý.

Detektor elektronového zachytu (ECD) - Radioaktivní zářič ^{63}Ni svým zářením β (proud rychlých elektronů) ionizuje molekuly dusíku jako nosného plynu a vyvolává ionizační proud. Uvolňují se pomalé elektrony, které zachycují elektronegativní atomy složek, a tím snižují ionizační proud. Velmi citlivý je tento detektor na halogenované sloučeniny (Klouda, 2003).

Další typy detektorů:

- Bezplamenový detektor s alkalickým kovem (TID)
- Plamenový ionizační detektor s alkalickým kovem (AFID)
- Fotoionizační detektor (PID)
- Plamenový fotometrický detektor (FPD)
- Hmotnostní spektrometr (MS)
- Atomový emisní detektor (AED)

4. Experimentální část

4. 1. Popis vzorků

V naší studii bylo zpracováno 22 anonymních vzorků pacientů s diagnózou diabetes mellitus 2. typu, vzorky byly získány z Univerzity Tübingen. Dále bylo použito 18 vzorků plazmy od zdravých dárců krve, které byly odebrány na Oddělení klinické biochemie Krajské nemocnice Pardubice, a.s. Pacienti s vážnými zdravotními komplikacemi byli vypuštěni. Nikdo z pacientů netrpěl onemocněními jater, rakovinou ani pravidelně nekonzumoval alkohol.

Krev byla odebírána do speciálních zkumavek pro diagnostiku diabetu s antiglykolytickým činidlem fluoridem sodným a s kyselinou ethylendiaminotetraoctovou (EDTA). Následně byla provedena centrifugace a vzorky plazmy byly uchovávány při -20 °C a transportovány na Katedru biologických a biochemických věd Fakulty chemicko-technologické Univerzity Pardubice, kde byly zpracovány metodou tenkovrstevné chromatografie s následnou detekcí plynovou chromatografií.

Ke vzorkům byly k dispozici hodnoty některých krevních parametrů, zvláště hodnoty glykovaného hemoglobinu. Podle hodnot glykovaného hemoglobinu byly vzorky rozděleny do tří skupin.

skupina	glykovaný hemoglobin (%)
zdraví dárce	2,8 – 4,5
dostatečně kompenzovaní diabetici	4,6 – 7,0
nedostatečně kompenzovaní diabetici	7,1 a více

Tab. 4. 1: Rozdělení vzorků podle koncentrace glykovaného hemoglobinu

4. 2. Přístrojové vybavení pro TLC a GC

- 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
- 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
- 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 0,20 μ m, teplotní limit od 50°C do 250°C, pro dělení methylesterů mastných kyselin
Výrobce Agilent Technologies

4. 3. Chemikálie a další používaný materiál

a) 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

b) 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

c) 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

d) 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

e) 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

f) Chromatografické desky

- TLC Silica gel 60, 25 Glass plates 20x20cm, balení 25 kusů, číslo produktu 1057210001

Výrobce: MERCK, 642 71 Darmstadt, Germany

4. 4. Postup práce

4. 4. 1. Denaturace bílkovin a extrakce lipidů

Do pyrexových zkumavek bylo pipetováno 500 μ l séra (nebo standardu). Dále bylo přidáno 2,5 ml deproteinačního roztoku ve složení 2-propanol, n-heptan a 2M kyselina fosforečná v poměru 40 : 20 : 1. Směs byla promíchána na vortexu a po dobu deseti minut ponechána při pokojové teplotě. Následně byl přidán 1 ml směsi methanol-toluen v poměru 1 : 3 a 1,5 ml destilované vody. Vzniklá směs byla centrifugována při 2000 ot./min po dobu pěti minut. Poté byla horní organická vrstva přepipetována do čisté zkumavky a v digestoři pod dusíkem odpařena při pokojové teplotě na objem cca 30 μ l.

4. 4. 2. Tenkovrstevná chromatografie

Příprava chromatografické desky

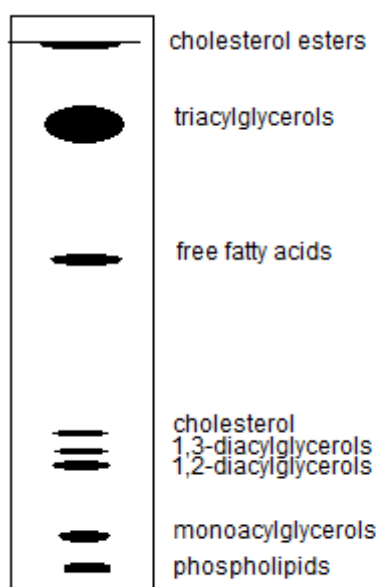
Na chromatografickou desku byl měkkou tužkou vyznačen start a čelo. Linie startu byla umístěna 2,5 cm od spodního okraje desky a čelo 1 cm od horního okraje desky. Plocha byla rozdělena na šest drah o šířce 3 cm, přičemž okraje bočních stran činily 1 cm.

Příprava mobilní fáze

Mobilní fáze byla připravena smícháním 160 ml hexanu, 40 ml diethyletheru a 6 ml 98% kyseliny octové. Směs byla nalita do chromatografické vany a ponechána nasytit parami po dobu 30 až 40 minut.

Vlastní tenkovrstevná chromatografie

Směs extrahovaných lipidů (5 vzorků + 1 standard) byla postupně nanášena skleněnou kapilárou na start chromatografické desky. Bylo dbáno, aby nedošlo k mechanickému poškození silikagelového povrchu. Takto připravená deska byla vložena do chromatografické vany a nechána cca 1 hodinu vyvíjet, resp. dokud mobilní fáze nedosáhla označeného čela desky. Poté byla deska vyjmuta a nechána v digestoři vysušit.



Obr. 4. 1: Rozdělení lipidů na jednotlivé frakce pomocí TLC

Detekce

Detekční činidlo bylo připraveno smícháním 20% kyseliny fosfomolybdenové a ethanolu v poměru 1 : 1. Pomocí rozprašovače bylo detekční činidlo nanášeno na desku pouze v dráze standardu. Ostatní dráhy obsahující vzorky byly zakryty. Poté byla deska vložena na dobu pěti minut do sušárny předehřáté na teplotu 65 °C.

Izolace jednotlivých složek

Tenkvrstevnou chromatografií se přítomné lipidy rozdělily do pěti frakcí podle vzrůstajícího retenčního faktoru: fosfolipidy (PL), diacylglyceroly (DG), volné mastné kyseliny (VMK), triacylglyceroly (TAG) a estery cholesterolu (ECH). Podle standardu byly měkkou tužkou označeny jednotlivé složky vzorků. Takto označená pole byla vyškrábána z chromatografické desky do pyrexových zkumavek.

4. 4. 3. Plynová chromatografie

Derivatizace – převedení na methylestery

Do pyrexových zkumavek obsahujících vyškrábané jednotlivé lipidové frakce byl přidán 1 ml roztoku interního standardu (cis-13, 16, 19-dokosatrienová kyselina) o koncentraci 10 µg/ml a 1 ml směsi methanol – toluen v poměru 1 : 4. Do zkumavek bylo dále vloženo magnetické míchadlo a byly umístěny do termobloku s magnetickým mícháním. Do takto připravených zkumavek bylo pipetováno 200 µl acetylchloridu, který slouží jako katalyzátor esterifikace. Zkumavky byly uzavřeny a zahřívány na 100 °C po dobu jedné hodiny.

Po uplynutí reakční doby byly zkumavky ochlazeny na laboratorní teplotu stáním v digestoři. Obsah zkumavek byl neutralizován přidavkem 5 ml 6% roztoku K₂CO₃. Směs byla míchána 2 minuty na vortexu a pak centrifugována 10 minut při 4000 ot./min. Horní organická vrstva byla přepipetována do nových zkumavek a odpařena pod dusíkem v digestoři na objem cca 100 µl. Vzniklý roztok, obsahující zakoncentrované methylestery mastných kyselin, byl převeden do chromatografických vialek, které byly pečlivě uzavřeny víčkem s pryžovým septem.

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.

4. 4. 4. Vyhodnocení výsledků

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

Získané chromatogramy byly následně integrovány v programu GC ChemStation B.04.03 a takto získaná data byla statisticky zpracována za pomoci softwaru MS Excel 2007 a Statistica 7.0.

5. Výsledky

Obdržené vzorky byly rozděleny do tří skupin podle hodnot glykovaného hemoglobinu na skupinu zdravých osob, dostatečně kompenzovaných a nedostatečně kompenzovaných (viz tab. 4. 1).

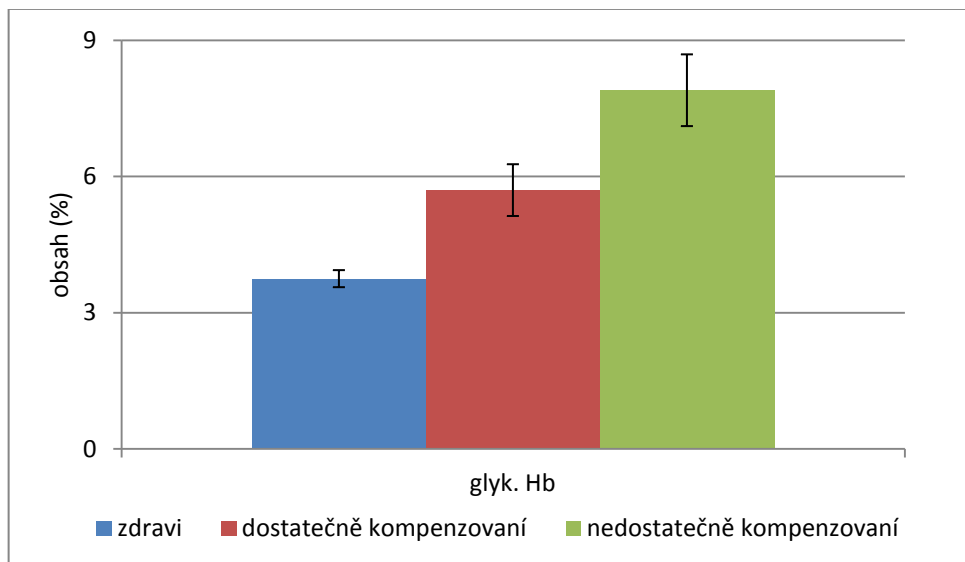
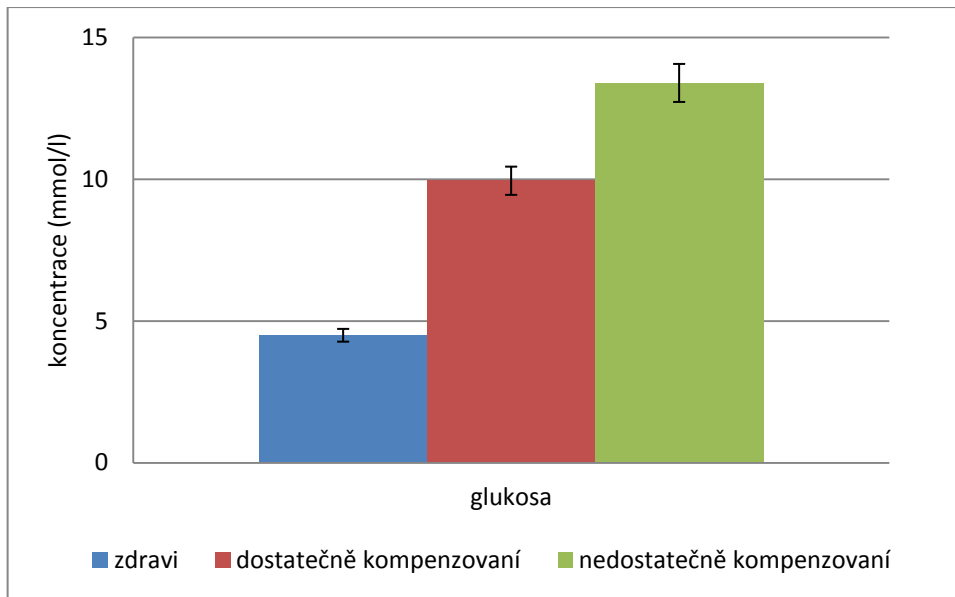
Poté byl každý vzorek plazmy rozdělen na jednotlivé lipidové frakce tenkovrstevnou chromatografií. U všech frakcí byl stanoven obsah jednotlivých mastných kyselin pomocí plynové chromatografie.

Koncentrace mastných kyselin spolu s glykovaným hemoglobinem byly statisticky zpracovány vícerozměrnými průzkumovými metodami – metodou hlavních komponent a klasifikační analýzou v programu Statistica verze 7.0. Cílem této analýzy bylo objevit významné korelace v datech, a tím nalézt možné markery onemocnění diabetes mellitus 2. typu.

V programu Microsoft Office Excel byly vytvořeny grafy procentuálního zastoupení jednotlivých MK ve všech frakcích, grafy celkových lipidů a celkových nasycených, mononenasycených a polynenasycených MK v jednotlivých frakcích.

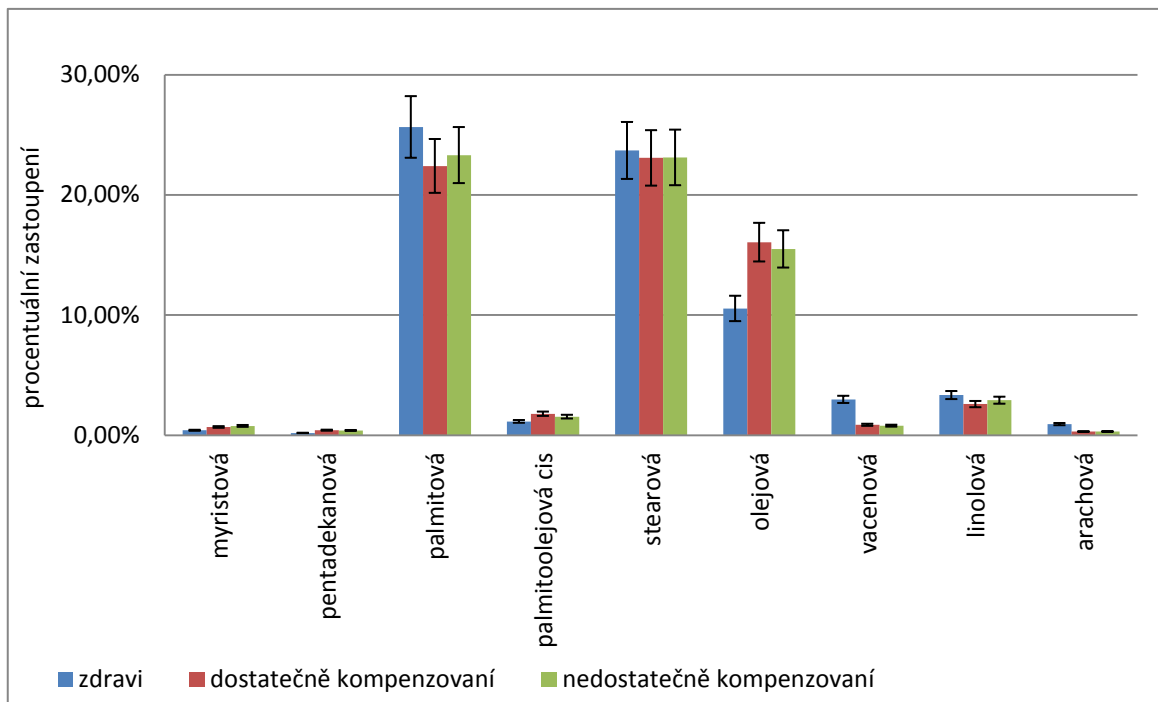
5. 1. Procentuální zastoupení jednotlivých mastných kyselin

V následujících grafech je sledována závislost procentuálního zastoupení jednotlivých mastných kyselin ve všech lipidových frakcích v závislosti na stupni onemocnění diabetes mellitus 2. typu. Jedinci byli rozděleni podle hodnoty glykovaného hemoglobinu na zdravé, dostatečně kompenzované a nedostatečně kompenzované.

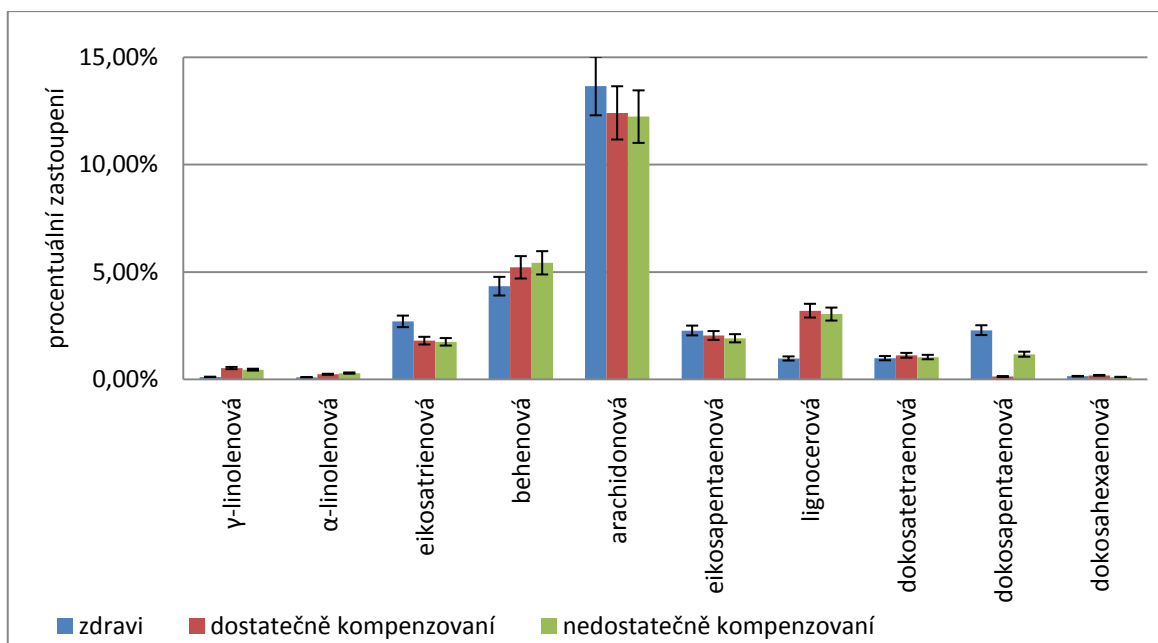


Graf 5.1: Závislost koncentrace glukosy (nahore) a glykovaného hemoglobinu (dole) na stupni onemocnění

Fosfolipidy

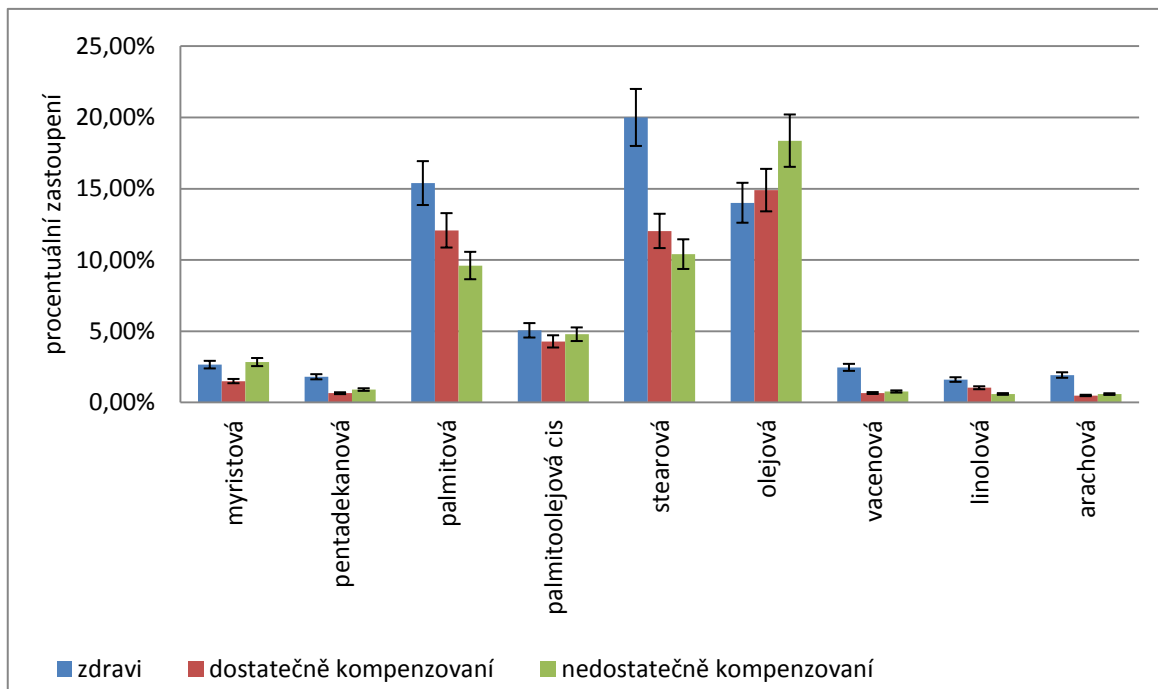


Graf 5. 2. a: Závislost obsahu jednotlivých MK (%) v celkových MK na stupni onemocnění ve frakci PL

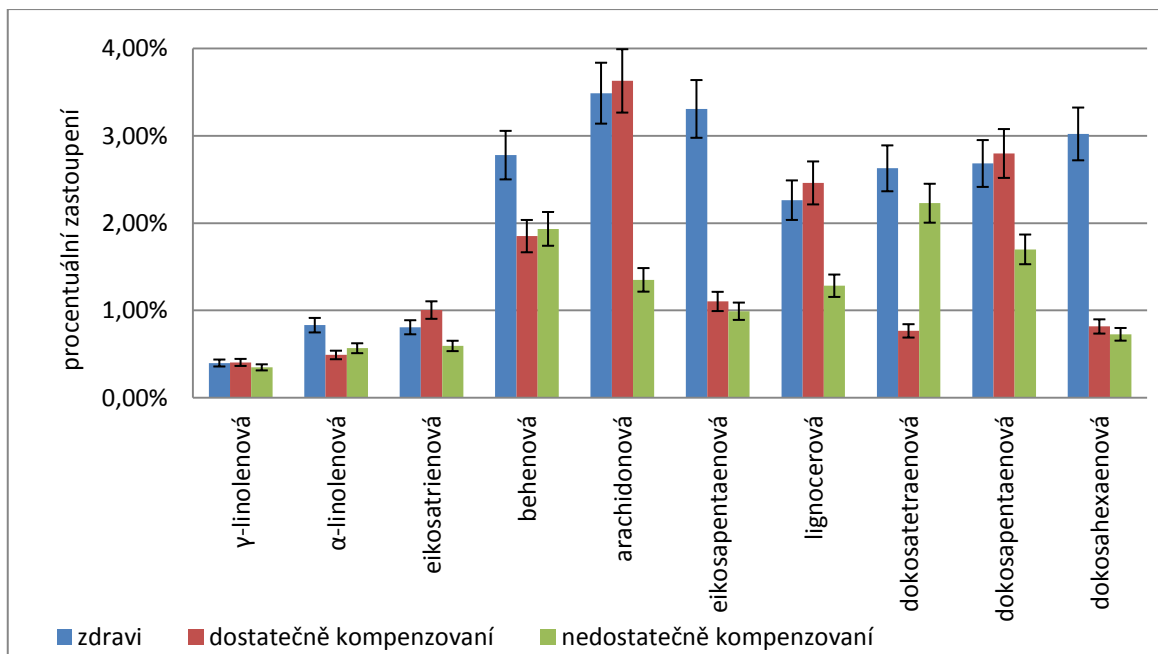


Graf 5. 2. b: Závislost obsahu jednotlivých MK (%) v celkových MK na stupni onemocnění ve frakci PL

Diacylglyceroly

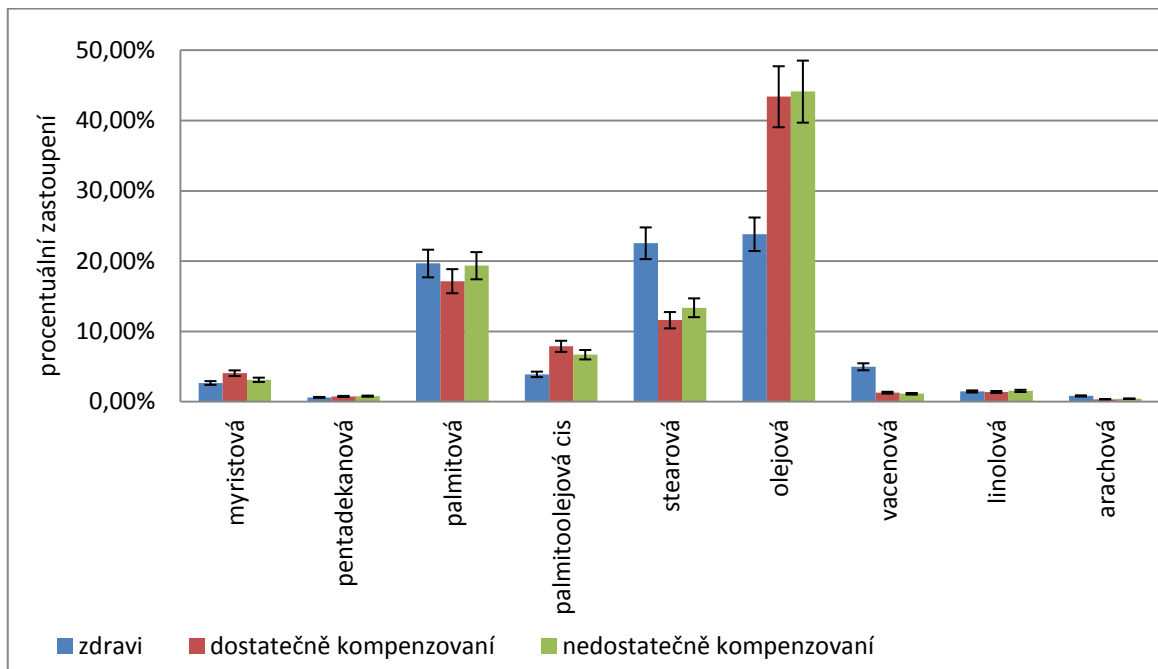


Graf 5. 3. a: Závislost obsahu jednotlivých MK (%) v celkových MK na stupni onemocnění ve frakci DG

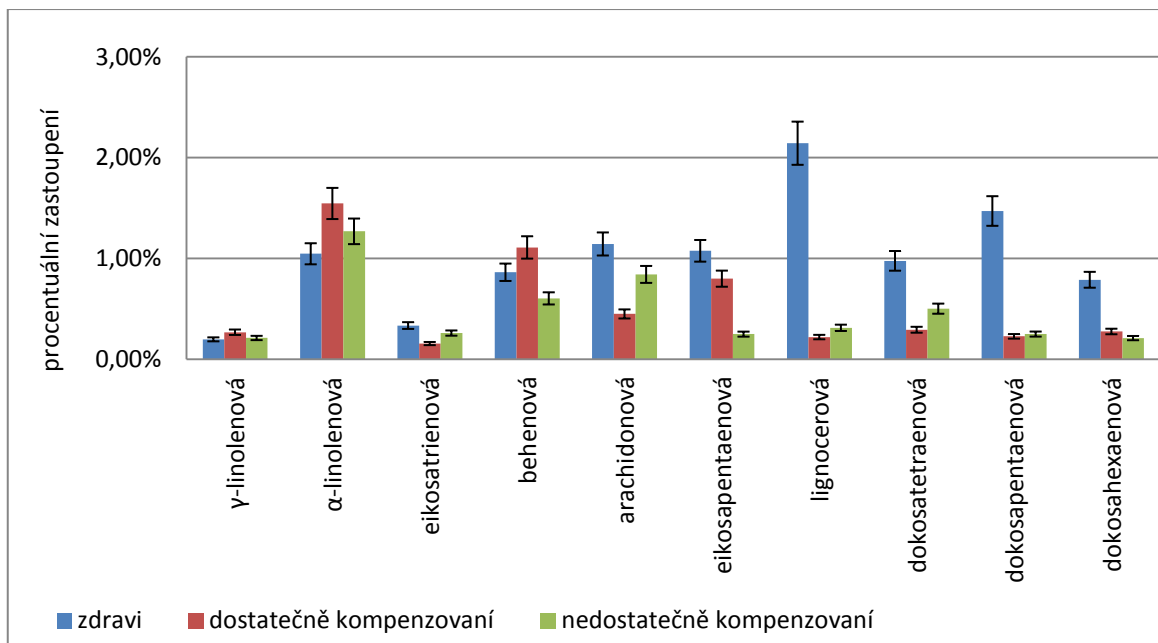


Graf 5. 3. b: Závislost obsahu jednotlivých MK (%) v celkových MK na stupni onemocnění ve frakci DG

Volné mastné kyseliny

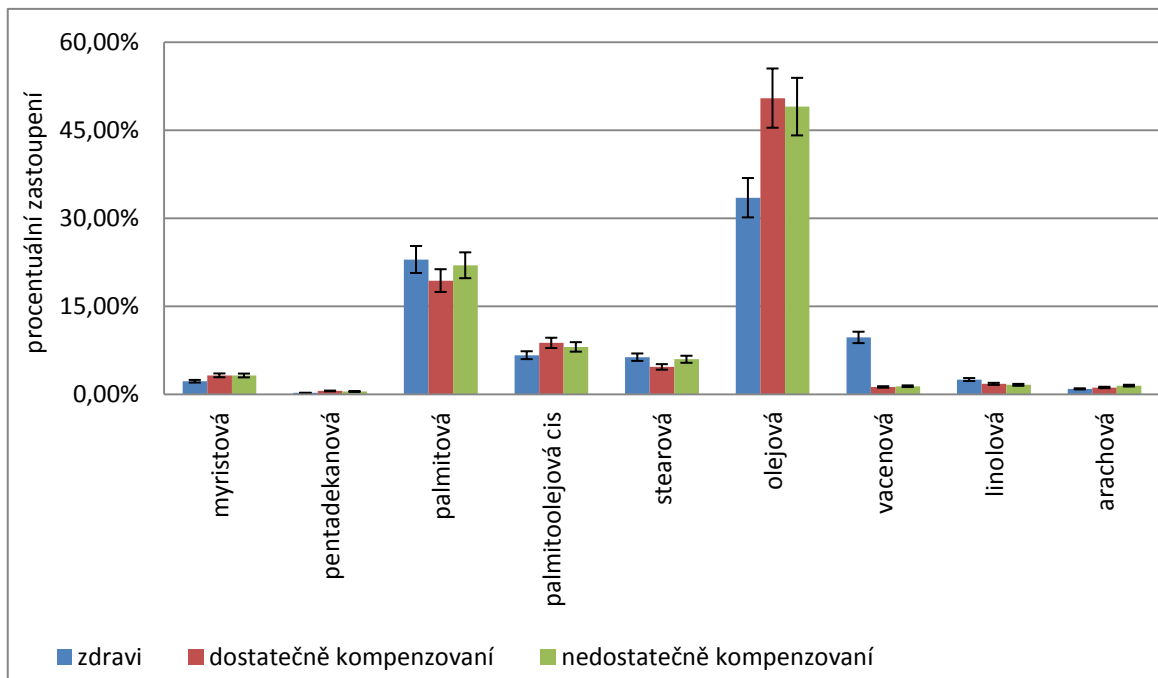


Graf 5. 4. a: Závislost obsahu jednotlivých MK (%) v celkových MK na stupni onemocnění ve frakci VMK

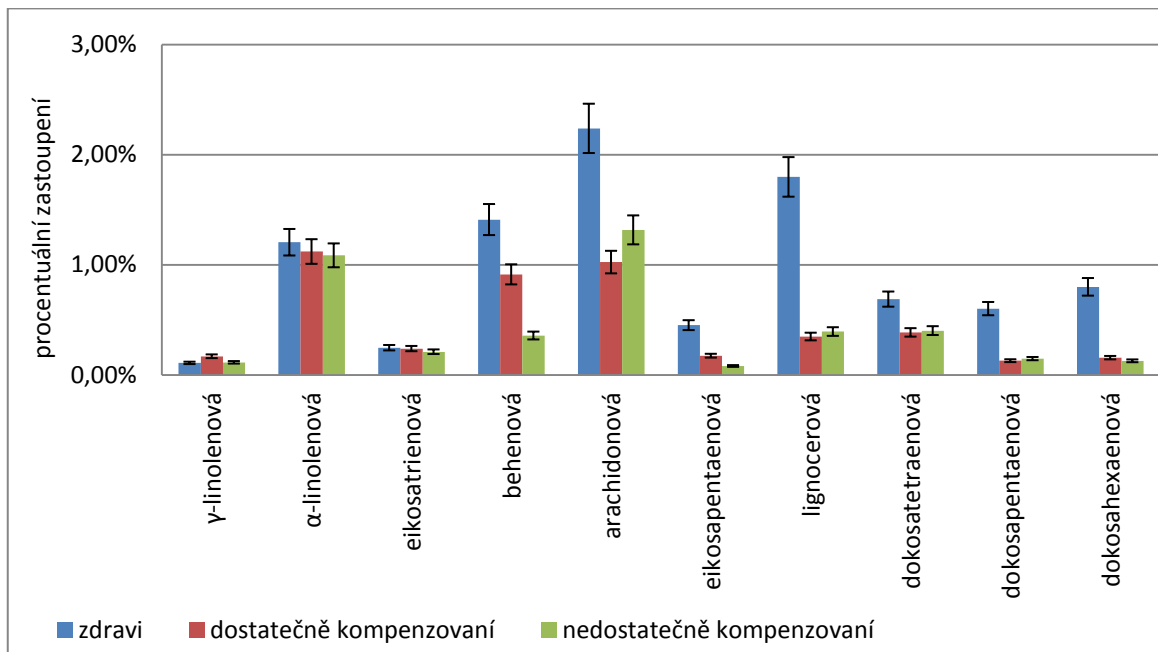


Graf 5. 4. b: Závislost obsahu jednotlivých MK (%) v celkových MK na stupni onemocnění ve frakci VMK

Triacylglyceroly

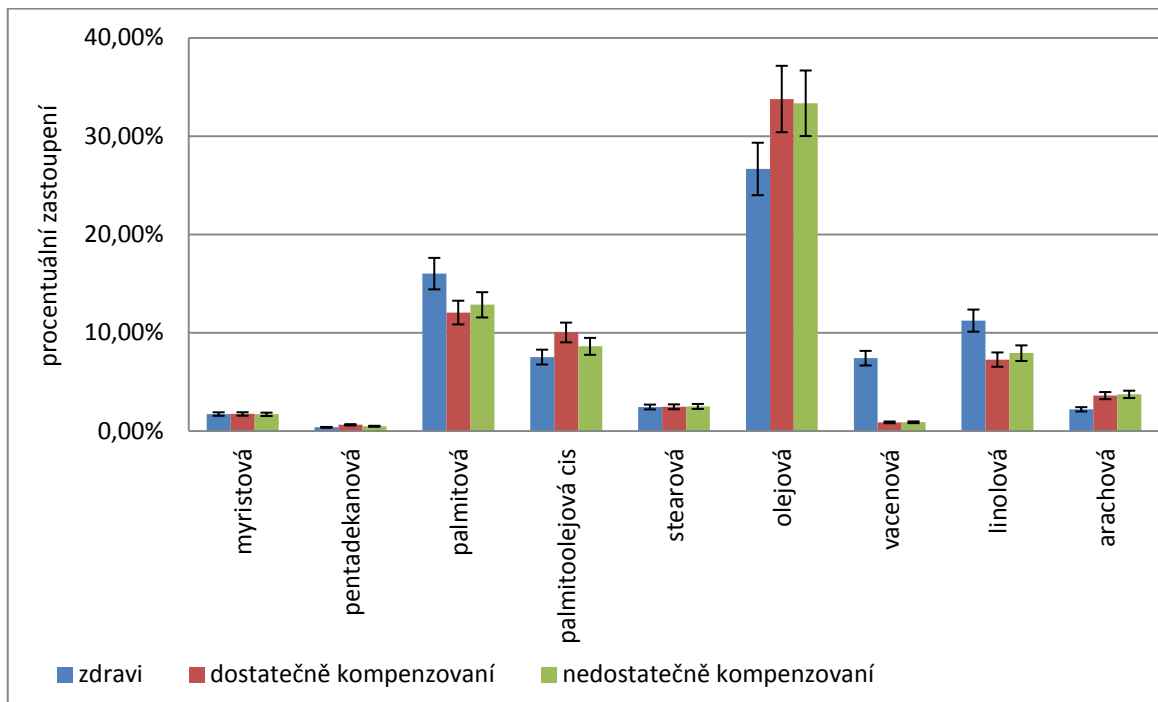


Graf 5. 5. a: Závislost obsahu jednotlivých MK (%) v celkových MK na stupni onemocnění ve frakci TAG

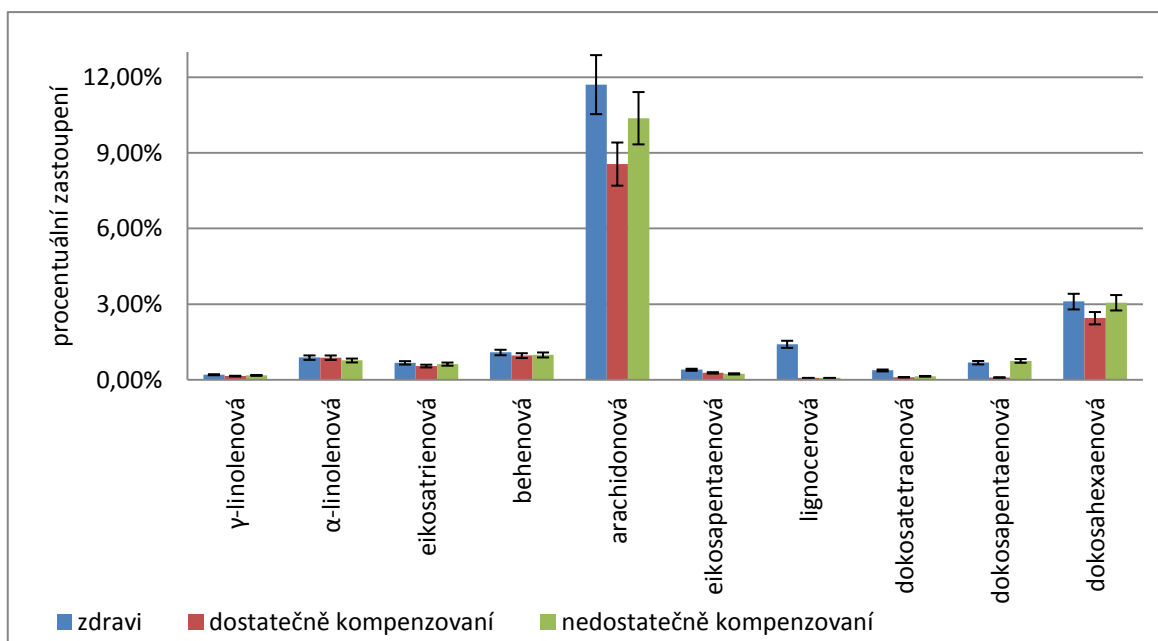


Graf 5. 5. b: Závislost obsahu jednotlivých MK (%) v celkových MK na stupni onemocnění ve frakci TAG

Estery cholesterolu



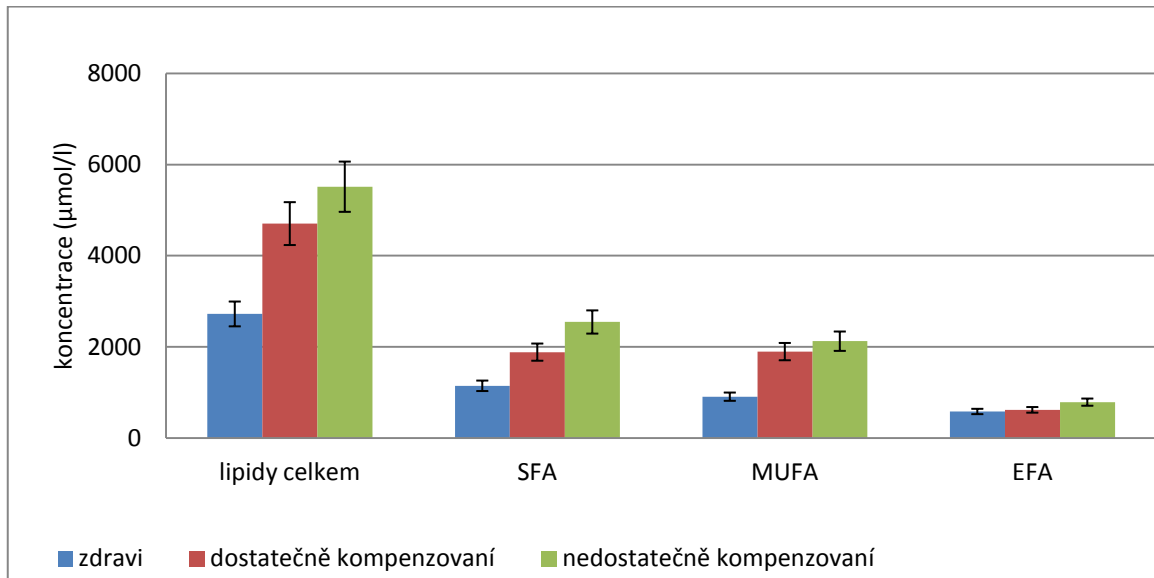
Graf 5. 6. a: Závislost obsahu jednotlivých MK (%) v celkových MK na stupni onemocnění ve frakci ECH



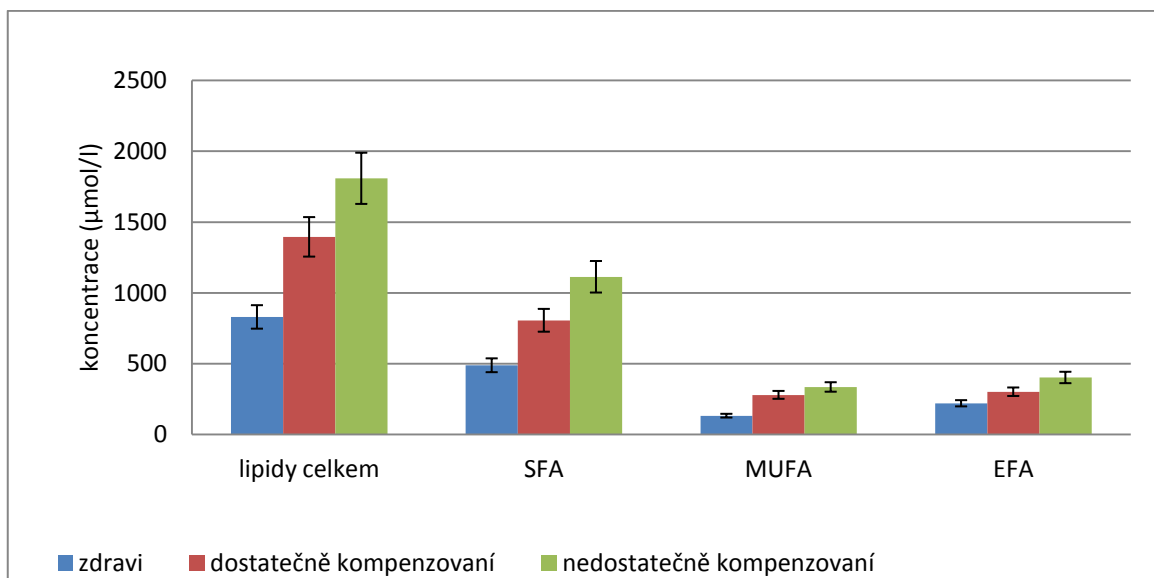
Graf 5. 6. b: Závislost obsahu jednotlivých MK (%) v celkových MK na stupni onemocnění ve frakci ECH

Celkové lipidy

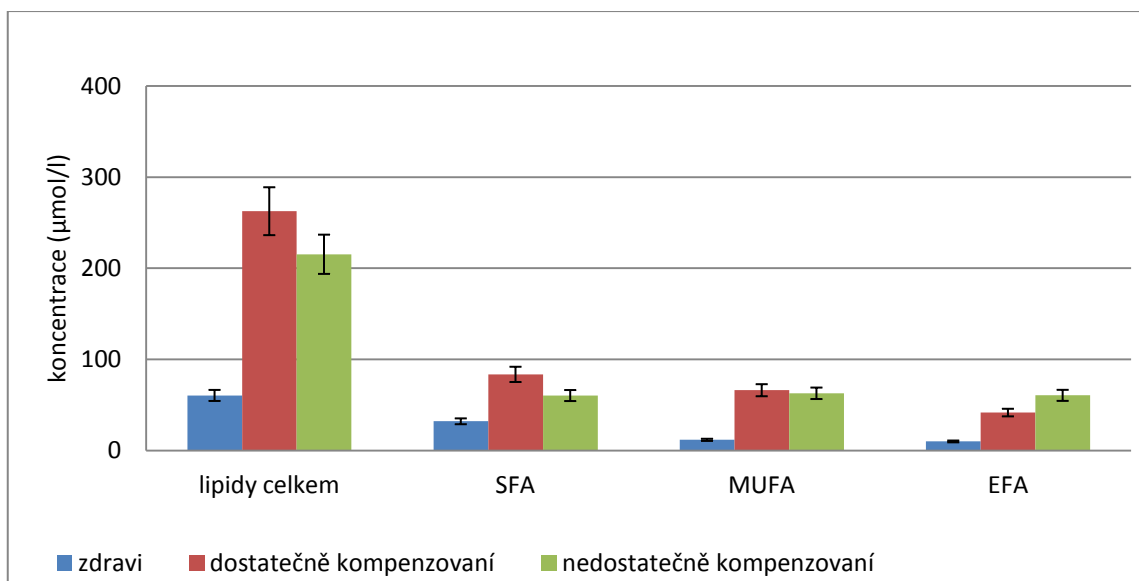
V následujících grafech jsou znázorněny změny lipidů ve všech frakcích v závislosti na stupni onemocnění diabetes mellitus 2. typu. Tato analýza je doplněna o grafy celkových, nasycených, mononenasycených a esenciálních MK v jednotlivých frakcích.



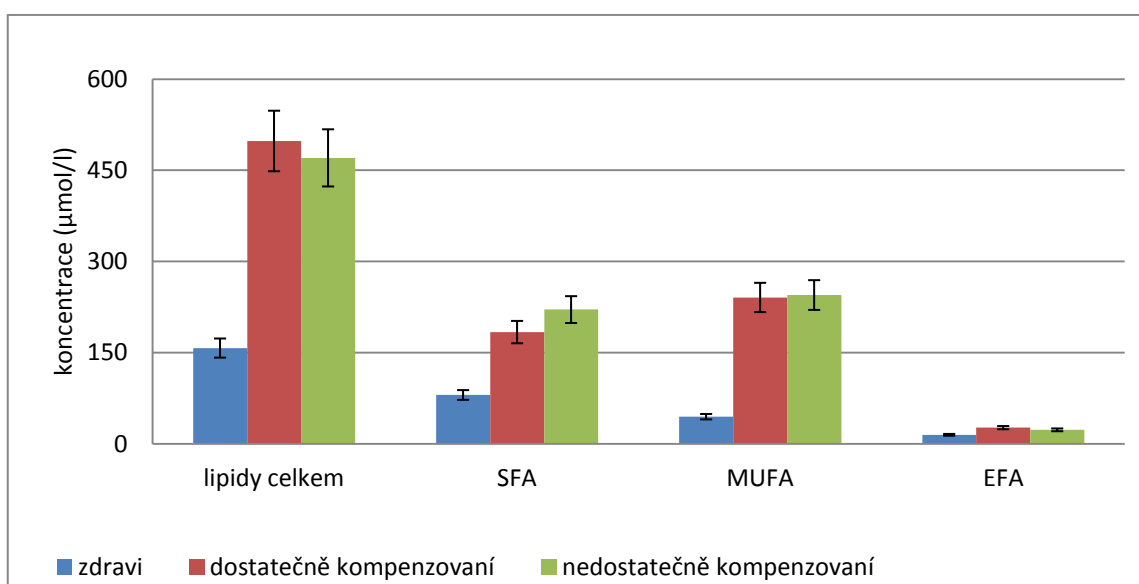
Graf 5. 7: Závislost celkových lipidů ve všech frakcích na stupni onemocnění



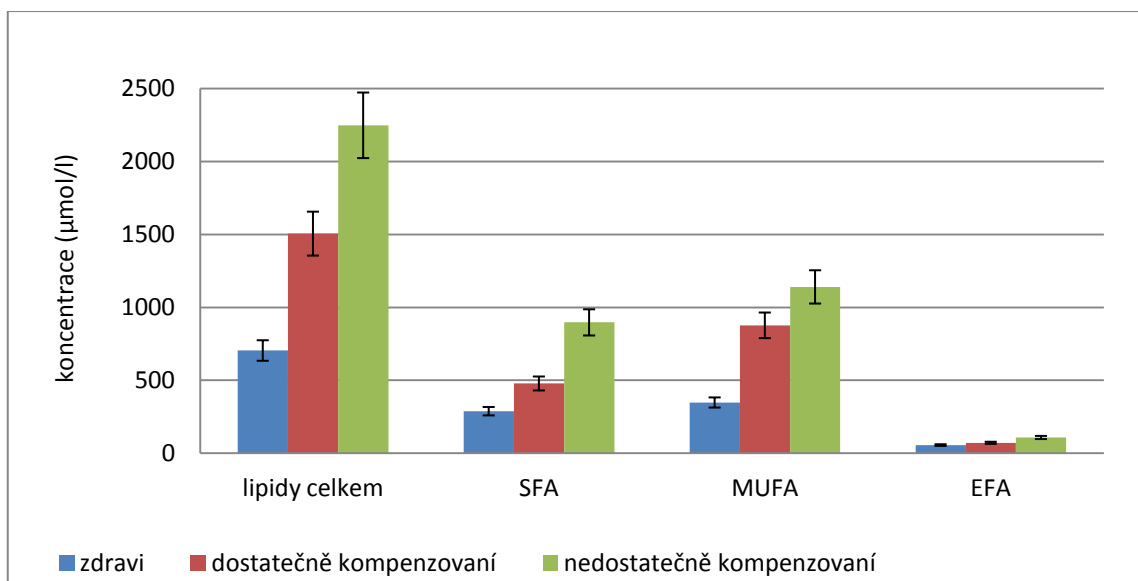
Graf 5. 8: Celkové nasycené, mononenasycené a esenciální MK ve frakci PL



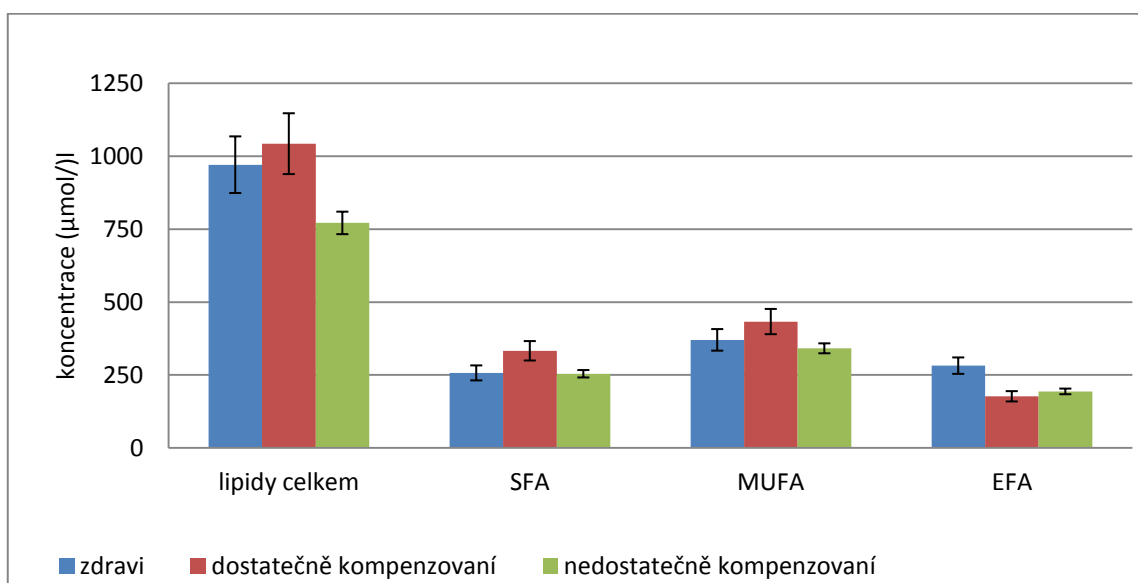
Graf 5. 9: Celkové nasycené, mononenasycené a esenciální MK ve frakci DG



Graf 5. 10: Celkové nasycené, mononenasycené a esenciální MK ve frakci VMK



Graf 5. 11: Celkové nasycené, mononenasycené a polynenasycené MK ve frakci TAG



Graf 5. 12: Celkové nasycené, mononenasycené a polynenasycené MK (μmol/l) ve frakci ECH

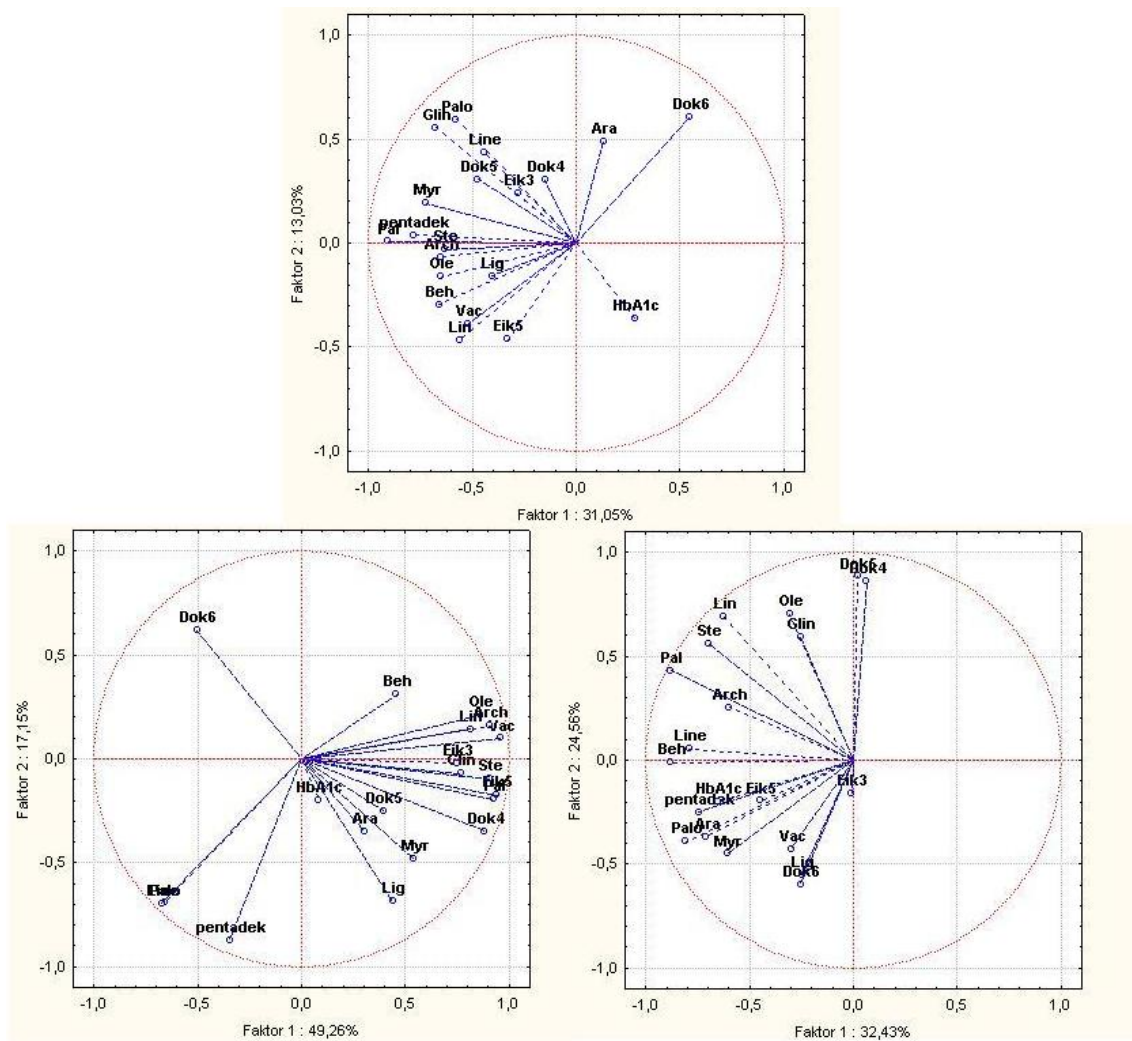
5. 2. Vícerozměrné průzkumové techniky

Hodnoty koncentrací ($\mu\text{mol/l}$) všech devatenácti naměřených mastných kyselin a glykovaného hemoglobinu byly statisticky zpracovány v programu Statistica 7.0. Jedinci byli rozděleni podle hodnoty glykovaného hemoglobinu na zdravé, dostatečně kompenzované a nedostatečně kompenzované. Zdraví jsou označeni čísly 1 – 20, dostatečně kompenzovaní 1D – 15D a nedostatečně kompenzovaní 16D – 25D.

5. 2. 1. Korelace mezi jednotlivými MK a glykovaným hemoglobinem

Z grafu komponentních vah lze pomocí délky průvodičů a podle úhlu, který svírají, určit korelaci mezi proměnnými. Vyskytují-li se proměnné blízko sebe a jejich průvodiče svírají ostrý úhel, jsou tyto proměnné silně pozitivně korelované. Naopak svírají-li úhel 180° , mají proměnné silnou negativní korelaci. Proměnné svírající pravý úhel jsou nekorelované.

Grafy komponentních vah pro frakci PL

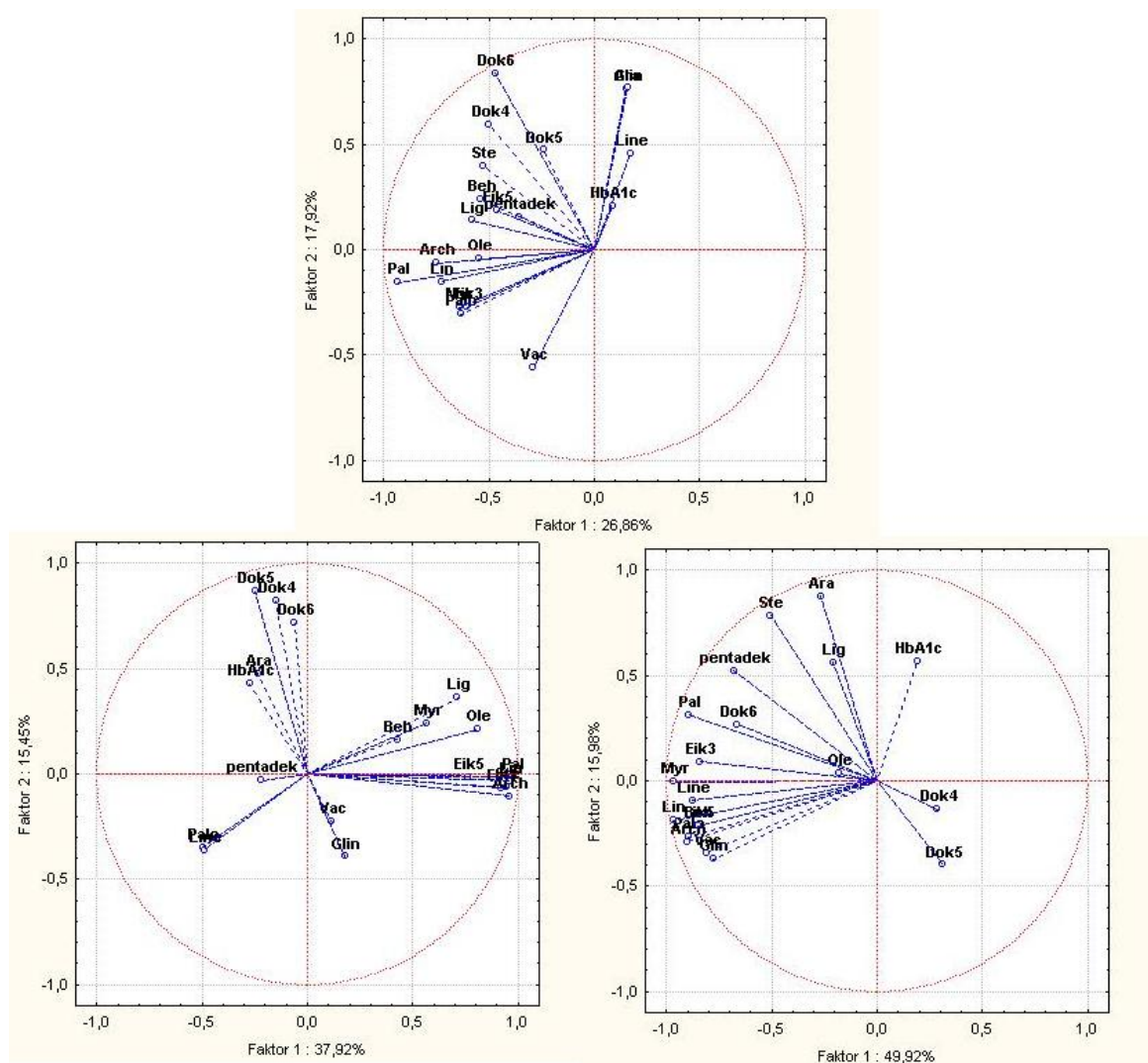


Graf 5. 13: Graf komponentních vah pro frakci PL - zdraví (nahore), dostatečně (vlevo dole) a nedostatečně kompenzovaní (vpravo dole)

Ve frakci fosfolipidů u zdravých jedinců lze pozorovat, že glykovaný hemoglobin pozitivně nekoreluje s žádnou mastnou kyselinou, ale je v silné negativní korelaci s kyselinami dokosatetraenovou, eikosatrienovou, dokosapentaenovou, α -linolenovou, palmitolejovou a γ -linolenovou. S ostatními mastnými kyselinami glykovaný hemoglobin není v korelaci. U skupiny dostatečně kompenzovaných diabetiků lze nalézt pozitivní vztah mezi glykovaným hemoglobinem a lignocerovou, arachovou, myristovou, dokosapentaenovou, dokosatetraenovou, palmitovou a eikosapentaenovou kyselinou, ale nachází se i v negativní korelaci s kyselinou dokosatetraenovou. U

skupiny nedostatečně kompenzovaných diabetiků glykovaný hemoglobin pozitivně koreluje s kyselinami α -linolenovou, behenovou, eikosapentaenovou, palmitolejovou, arachovou, myristovou, vacenovou, eikosatrienovou, lignocerovou a dokosaheptaenovou. Slabě negativní korelaci vykazují kyseliny dokosatetraenová a dokosapentaenová s glykovaným hemoglobinem.

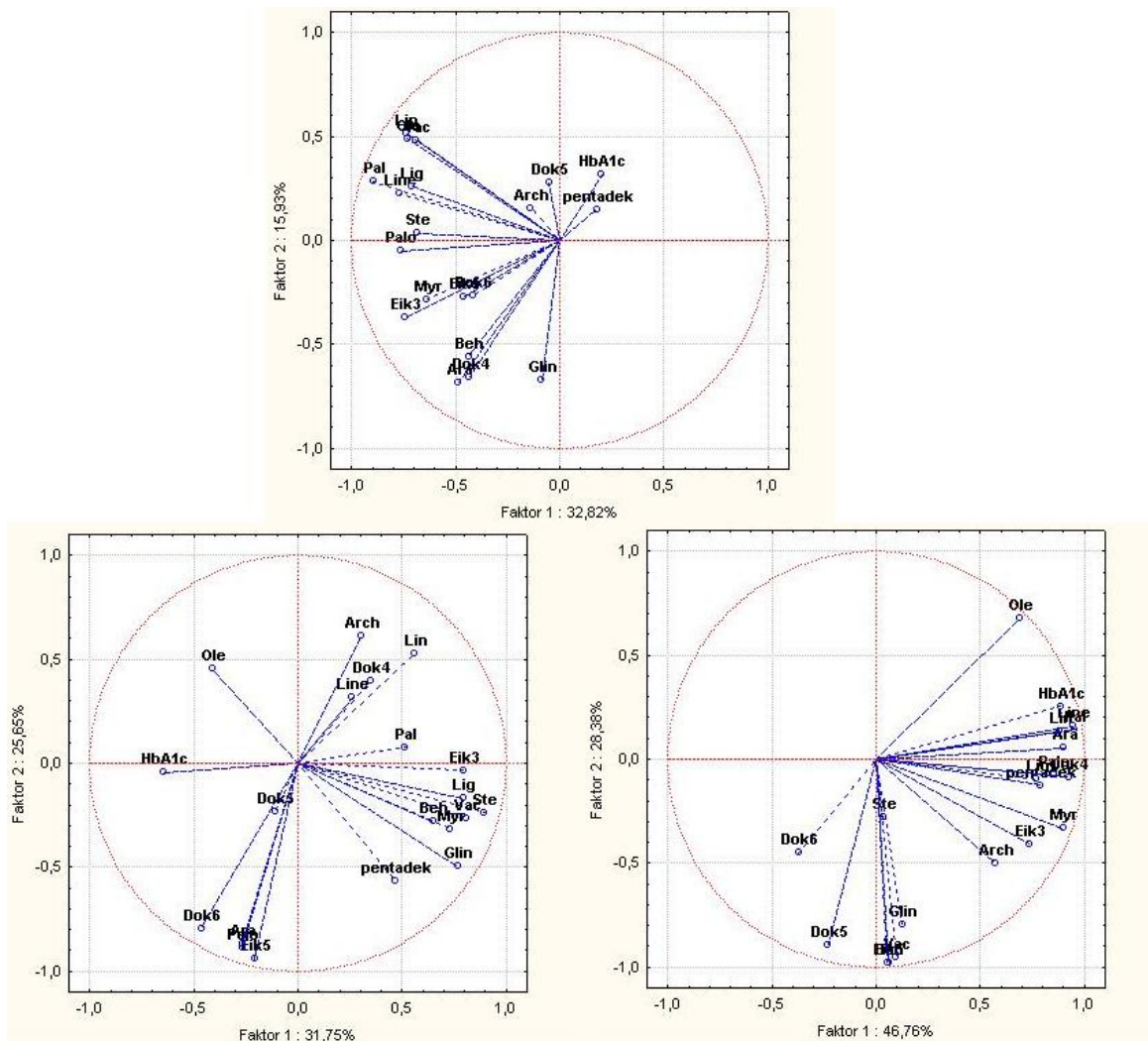
Grafy komponentních vah pro frakci DG



Graf 5. 14: Graf komponentních vah pro frakci DG - zdraví (nahore), dostatečně (vlevo dole) a nedostatečně kompenzovaní (vpravo dole)

U frakce diacylglycerolů zdravé skupiny je vidět, že většina mastných kyselin s glykovaným hemoglobinem nekoreluje, výjimkou jsou kyseliny arachová, α -linolenová a γ -linolenová, které jsou v pozitivní korelaci a s kyselinou vacenovou je glykovaný hemoglobin v negativní korelaci. Situace je velmi podobná u skupiny dostatečně kompenzovaných diabetiků, kde glykovaný hemoglobin je v pozitivním vztahu s kyselinami arachovou, dokosapentaenovou, dokosatetraenovou a dokosaheptaenovou, ale s kyselinami vacenovou a γ -linolenovou je ve vztahu negativním. Ostatní mastné kyseliny s glykovaným hemoglobinem nekorelují. U nedostatečně kompenzovaných diabetiků jsou vztahy mezi glykovaným hemoglobinem a mastnými kyselinami velmi jednoduché – s většinou nekoreluje. Výjimkou je kyselina arachová, lignocerová a stearová, které vykazují slabou pozitivní korelaci s glykovaným hemoglobinem.

Grafy komponentních vah pro frakci VMK

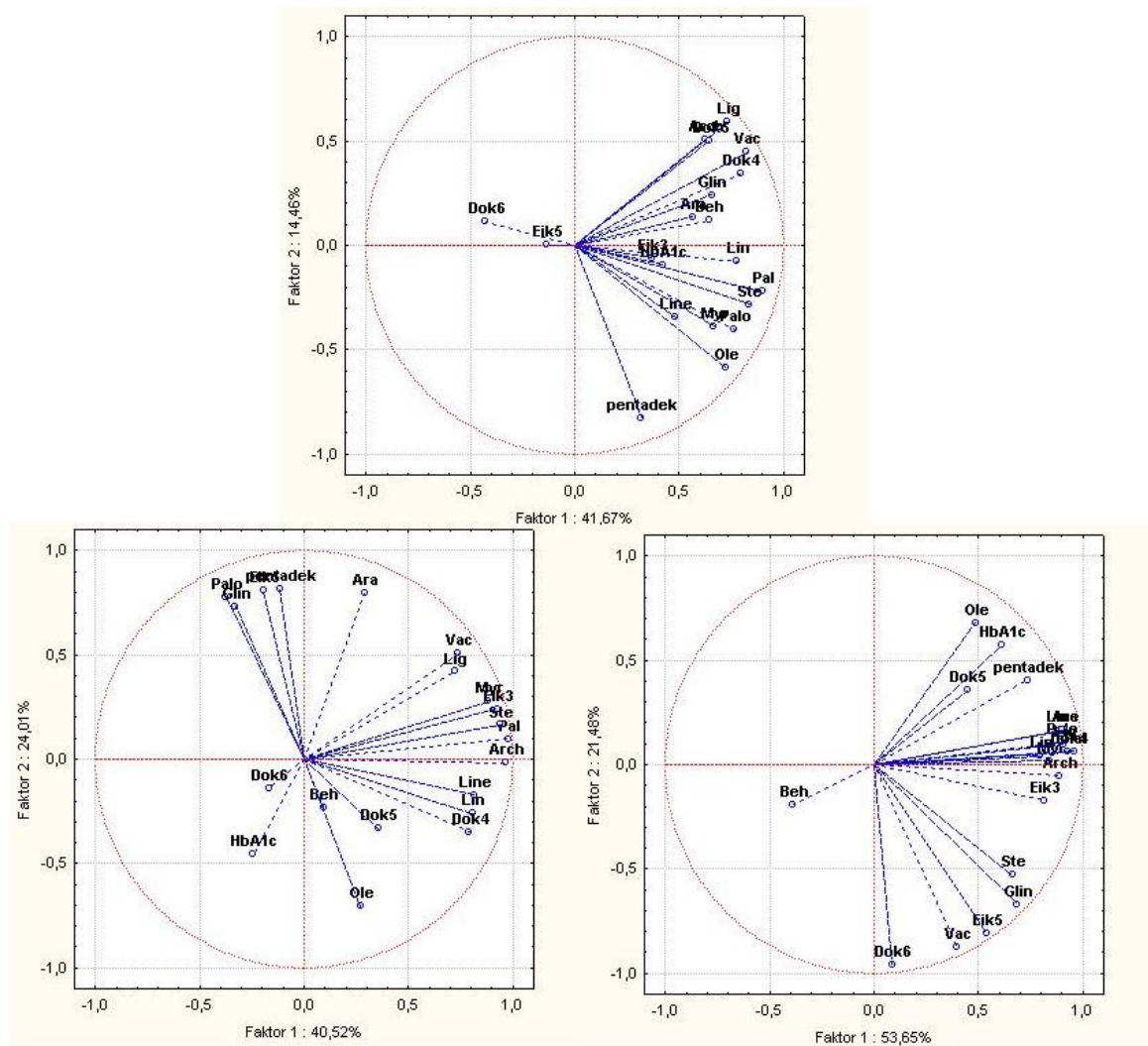


Graf 5. 15: Graf komponentních vah pro frakci VMK - zdraví (nahore), dostatečně (vlevo dole) a nedostatečně kompenzovaní (vpravo dole)

V grafech komponentních vah frakce volných mastných kyselin lze vidět u skupiny zdravých jedinců pozitivní korelaci mezi glykovaným hemoglobinem a kyselinami pentadekanovou, dokosapentaenovou a arachidonovou a negativní korelaci s kyselinami myristovou, eikosatrienovou, eikosapentaenovou, dokosahexaenovou, behenovou, arachovou, dokosatetraenovou a γ -linolenovou. U skupiny dostatečně kompenzovaných diabetiků glykovaný hemoglobin slabě pozitivně koreluje s kyselinami olejovou, dokosapentaenovou a dokosahexaenovou a negativně s kyselinami palmitovou, eikosatrienovou, lignocerovou, stearovou a vacenovou. U nedostatečně kompenzovaných je

glykovaný hemoglobin v pozitivní korelaci s kyselinami α -linolenovou, linolovou, palmitovou, arachovou, palmitolejovou, dokosatetraenovou, lignocerovou, pentadekanovou, myristovou, eikosatrienovou, arachidonovou a olejovou.

Grafy komponentních vah pro frakci TAG

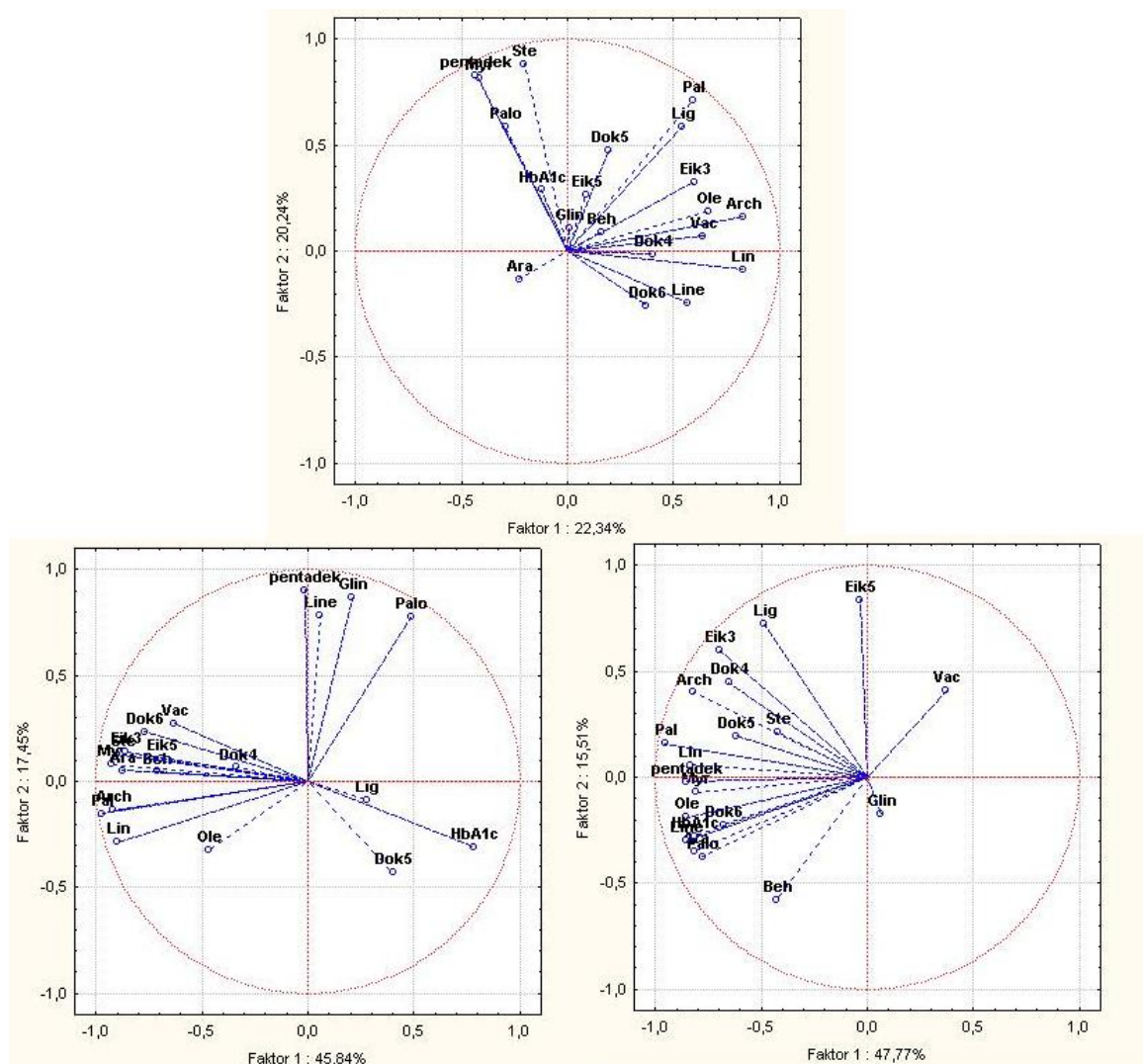


Graf 5.16: Graf komponentních vah pro frakci TAG - zdraví (nahore), dostatečně (vlevo dole) a nedostatečně kompenzovaní (vpravo dole)

V grafu triacylglycerolové frakce u zdravých lze nalézt pozitivní korelaci mezi glykovaným hemoglobinem a kyselinami olejovou, α -linolenovou, myristovou, palmitolejovou, stearovou, palmitovou, eikosatrienovou, linolovou, arachovou, behenovou, γ -linolenovou, dokosaheptaenovou a vacenovou.

V negativním vztahu ke glykovanému hemoglobinu jsou kyseliny dokosaheptaenová a eikosapentaenová. U skupiny dostatečně kompenzovaných je vztah mezi kyselinami a glykovaným hemoglobinem velmi jednoduchý, pozitivně koreluje s kyselinami dokosaheptaenovou, behenovou a olejovou, negativně koreluje s kyselinou arachovou a s ostatními mastnými kyselinami není v korelaci. U skupiny nedostatečně kompenzovaných lze nalézt pozitivní korelaci glykovaného hemoglobinu a kyseliny olejové, dokosaheptaenové a pentadekanové. V negativní korelaci je kyselina behenová.

Grafy komponentních vah pro frakci ECH

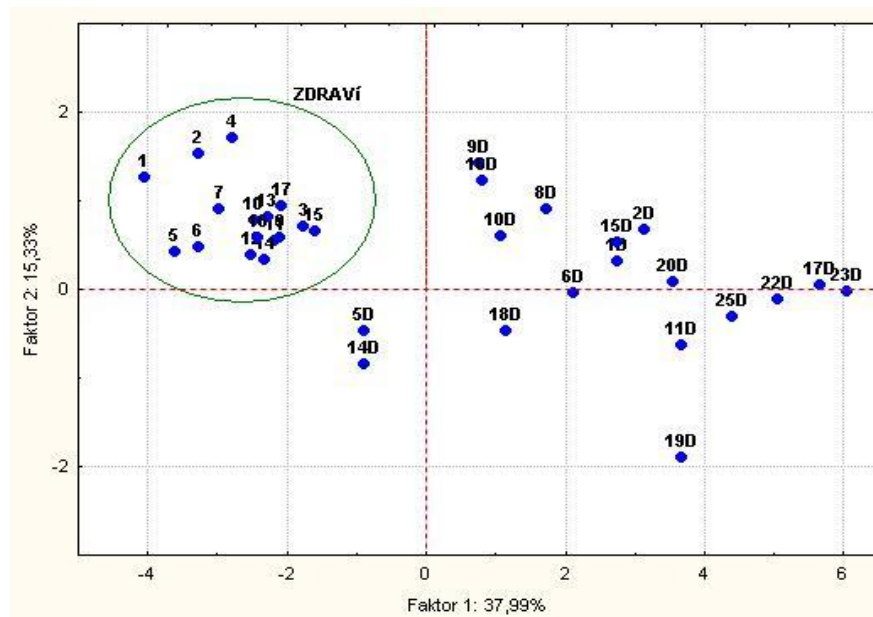


Graf 5. 17: Graf komponentních vah pro frakci ECH - zdraví (nahore), dostatečně (vpravo nahore) a nedostatečně kompenzovaní (vlevo dole)

Poslední je graf komponentního skóre pro frakci esterů cholesterolu. Zde je možné nalézt mezi glykovaným hemoglobinem pozitivní korelaci s kyselinami γ -linolenovou, eikosapentaenovou, dokosapentaenovou, palmitolejovou, stearovou, pentadekanovou, myristovou a negativní korelaci s dokosaheptaenovou a α -linolenovou kyselinou u zdravé skupiny. U skupiny dostatečně kompenzovaných diabetiků je vidět pozitivní korelace mezi glykovaným hemoglobinem a kyselinami lignocerou a dokosapentaenovou. V negativním vztahu jsou kyseliny dokosatetraenová, vacenová, dokosaheptaenová, eikosapentaenová, eikosatrienová, behenová, arachová a myristová ke glykovanému hemoglobinu. U skupiny nedostatečně kompenzovaných diabetiků lze nalézt pozitivní korelaci glykovaného hemoglobinu a kyseliny palmitolejové, arachové, α -linolenové, dokosaheptaenové, olejové a myristové. S kyselinou vacenovou je glykovaný hemoglobin v negativní korelaci. Ostatní mastné kyseliny jsou bez korelace ke glykovanému hemoglobinu.

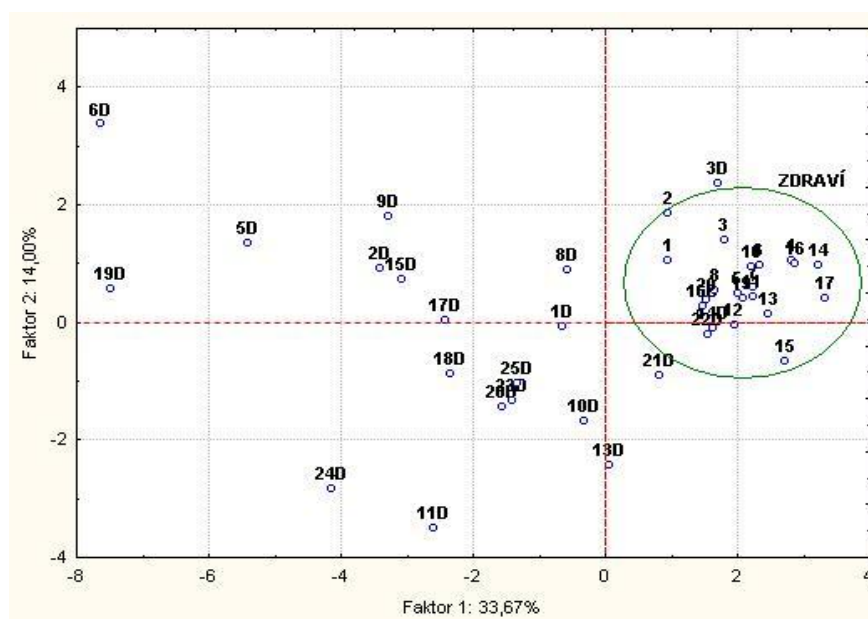
5. 2. 2. Zjištění podobnosti objektů

Podobnost objektů jsem posuzovala prostřednictvím grafů komponentního skóre. Graf komponentního skóre se používá k identifikaci odlehlých objektů, trendů, tříd a shluků objektů. Objekty ve shlucích jsou si podobné a jsou méně podobné či nepodobné objektům v ostatních shlucích. Izolované objekty mohou být odlehlé.



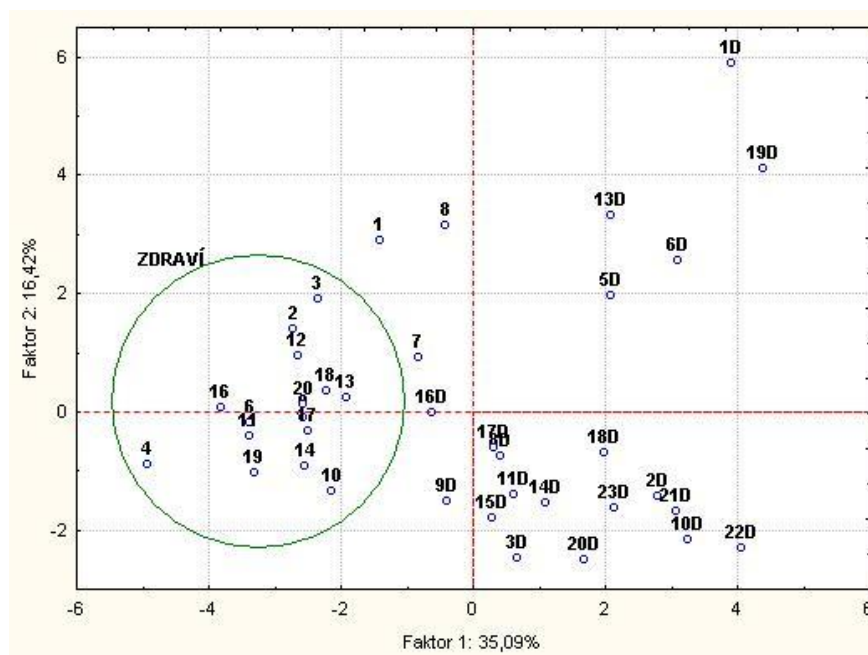
Graf 5. 18: Graf komponentního skóre pro frakci PL

U fosfolipidové frakce se body, znázorňující zdravé jedince, nacházejí ve shluku v levém horním kvadrantu. Body označující pacienty s diabetes mellitus 2. typu rozptýleny na pravé straně grafu a nelze je rozlišit na dvě skupiny podle stupně onemocnění.



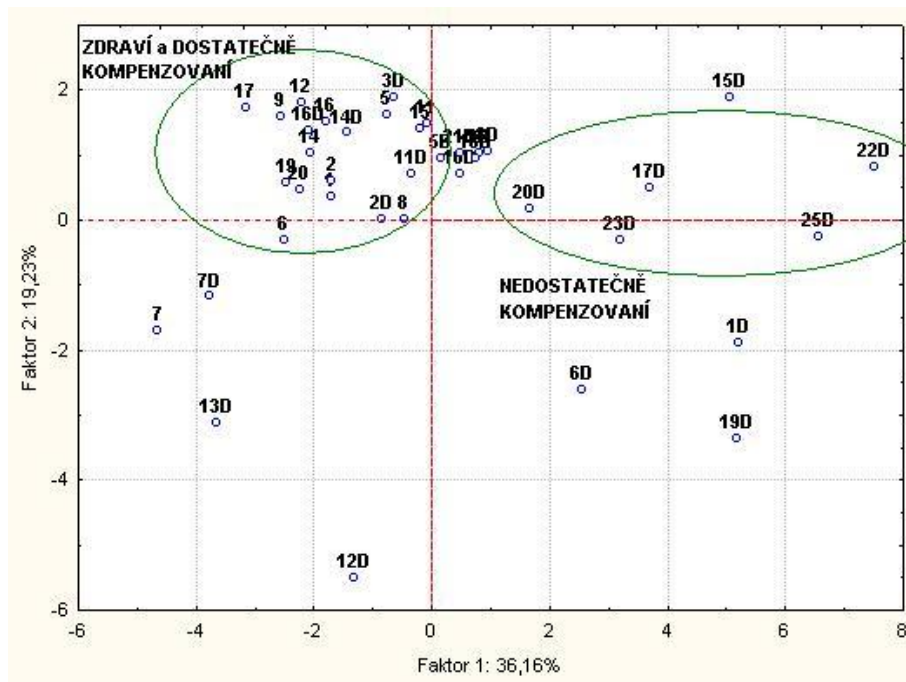
Graf 5. 19: Graf komponentního skóre pro frakci DG

Z grafu komponentního skóre pro frakci diacylglycerolů lze vyčíst, že se na pravé straně grafu nachází shluk bodů, který odpovídá zdravým jedincům. Pacienti s DM bez ohledu na stupeň onemocnění jsou rovnoměrně rozptýleni v levé části grafu.



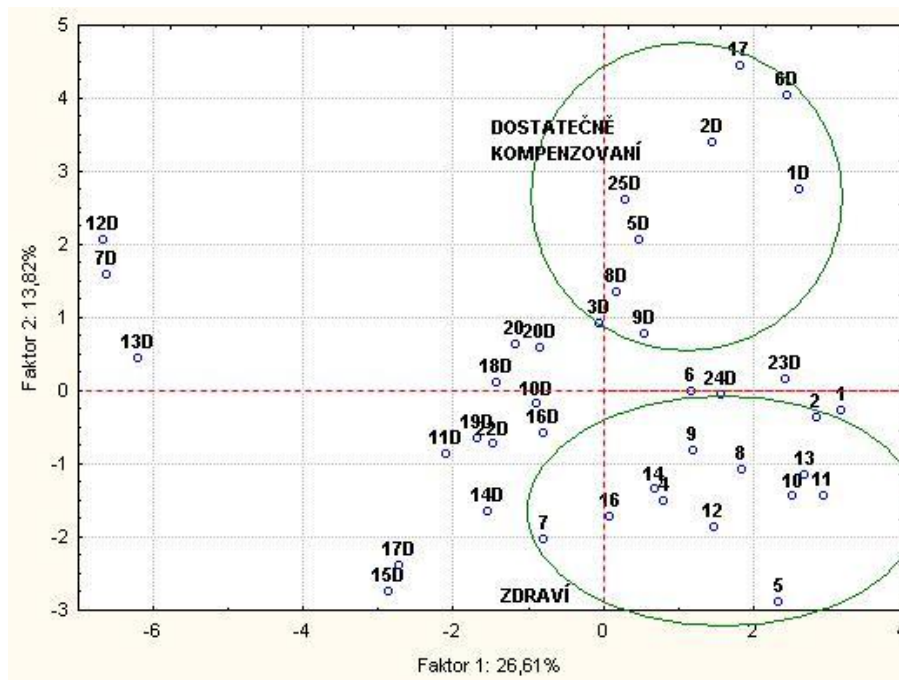
Graf 5. 20: Graf komponentního skóre pro frakci VMK

Ve frakci volných mastných kyselin se body odpovídající zdravým jedincům shlukují v levé části grafu. Body znázorňující pacienti s DM jsou rozptýleni v pravé části grafu. Stejně jako u předchozích dvou grafů je nelze rozlišit na dvě skupiny podle stupně onemocnění.



Graf 5. 21: Graf komponentního skóre pro frakci TAG

V grafu triacylglycerolové frakce jsou znázorněny dva shluky bodů. Shluk v levém horním kvadrantu je představován zdravými jedinci a dostatečně kompenzovanými pacienty s DM. Na opačné straně grafu, v levé části, je označena skupina bodů, která odpovídá několika jedincům patřících do skupiny nedostatečně kompenzovaných diabetiků.



Graf 5. 22: Graf komponentního skóre pro frakci ECH

V pravém dolním kvadrantu v grafu komponentního skóre pro frakci esterů cholesterolu se nachází shluk bodů, který odpovídá skupině zdravých jedinců. Nad tímto shlukem v pravém horním kvadrantu je označeno několik bodů, které znázorňují některé jedince ze skupiny dostatečně kompenzovaných diabetiků. V levé části grafu se pak nachází většina nedostatečně kompenzovaných diabetiků a někteří jedinci ze skupiny dostatečně kompenzovaných pacientů s diabetes mellitus 2. typu.

6. Diskuse

Cílem práce bylo zjistit, zda dochází ke změnám v obsahu mastných kyselin u jedinců trpících diabetes mellitus 2. typu a jak tyto změny souvisí s hladinou glukosy a glykovaného hemoglobinu. Toto bylo studováno pomocí tenkovrstevné a plynové chromatografie mastných kyselin získaných z krevní plazmy dárců.

Vzorky byly nejprve rozděleny na jednotlivé lipidické třídy za pomoci chromatografie na tenké vrstvě, následně byly ve všech frakcích změřeny methylestery mastných kyselin plynovým chromatografem od firmy Agilent Technologies s kolonou pro dělení methylesterů mastných kyselin. Ke statistickému zpracování dat byly použity programy MS Excel 2007 a Statistica 7.0.

V dnešní době je stále základem pro diagnostiku diabetu vyšetření hladiny plazmatické glukosy. Screening v podobě měření glykémie se u nerizikových osob provádí jednou za dva roky, u osob se zvýšeným rizikem (diabetes v rodinné anamnéze, věk nad 40 let, obezita, arteriální hypertenze, dyslipidémie či hyperlipoproteinémie, výskyt poruchy glukosové tolerance v anamnéze, gestační diabetes či porod plodu o hmotnosti nad 4 kg) se tak děje jednou ročně. Diabetes mellitus je diagnostikován při přítomnosti klinických symptomů provázených náhodnou glykemií převyšující 11 mmol/l a následně glykemií nalačno vyšší než 7 mmol/l (stačí jedno ověření). Dále je DM potvrzen při opakovaném vyšetření glykémie nalačno, které překračuje 7 mmol/l. Při hodnotách glykémie mezi 5,6 až 6,99 mmol/l se k určení diagnózy používá oGTT (Racek, 2006; ČDS).

S onemocněním diabetes mellitus 2. typu úzce souvisí metabolický syndrom, který je charakteristický výskytem abdominální obezity, inzulinorezistencí, hyperinzulinismem, hypertriacylglycerolémií, nízkým HDL cholesterolem a hypertenzí. Všechny tyto metabolické poruchy přispívají k rozvoji diabetu a kardiovaskulárních onemocnění (Svačina, 2006, Flowers, 2009). Současná diagnostika diabetu a metabolického syndromu je ale poměrně pozdní. Zvýšené hodnoty glykémie, glykovaného hemoglobinu, hypertenze, nebo

dyslipidémie jsou následkem déletrvajících enzymových poruch, které jsou primárně způsobeny poruchami v přenosu inzulínového signálu a vznikem inzulínové rezistence.

Prvním krokem naší analýzy bylo rozdělit vzorky diabetiků do dvou skupin, na dostatečně a nedostatečně kompenzované. Rozdělení bylo provedeno na základě hodnot glykovaného hemoglobinu. Dle nejmodernějších poznatků získaných z univerzity v Tübingenu, znázorněny na obr. 9. 1 a grafu 5. 1 lze považovat dostatečně kompenzované diabetiky za zdravé.

Z grafu celkových lipidů (grafy 5. 7 – 5. 12) je zřejmé, že u dostatečně i nedostatečně kompenzovaných diabetiků dochází k dyslipoproteinémii ve všech třídách lipidů, výjimkou jsou estery cholesterolu. Jaterní produkce PL a TAG je u dostatečně kompenzovaných pacientů dvojnásobná, u nedostatečně kompenzovaných trojnásobná. Tato zvýšená koncentrace kompenzuje zvýšenou koncentraci mastných kyselin ve frakci VMK, produkovaných tukovou tkání. Tato koncentrace VMK v krvi je u nemocných s diabetem více než dvojnásobná oproti zdravé skupině, což souvisí s jejich častou obezitou. Obsah mastných kyselin v ECH je spíše klesající, což je v souladu s klinickým nálezem o poklesu HDL cholesterolu u diabetiků.

Lupi (2002) ve svých pracích popisuje cytotoxický vliv nasycených mastných kyselin na pankreatické, svalové a jaterní buňky, tento cytotoxický efekt je považován za hlavní příčinu vzniku inzulínové rezistence s následným rozvojem diabetes mellitus 2. typu a dalšími komplikacemi, jako jsou kardiovaskulární choroby, nefropatie či různé záněty. V naší práci jsme rovněž zjistili, že koncentrace nasycených mastných kyselin má u obou skupin nemocných vzrůstající charakter. Ze zastoupení SFA lze vypočítat, že celková koncentrace kyseliny palmitové u nedostatečně kompenzovaných je více než dvojnásobná ($450 \pm 45 \mu\text{mol/l}$) oproti zdravé skupině ($200 \pm 20 \mu\text{mol/l}$). Protože SFA a hlavně kyselina palmitová jsou prokazatelně lipotoxické, domníváme se, že tento nález je pro patogenezi a léčbu diabetiků velmi významný. Více než dvojnásobná koncentrace kyseliny palmitové v cirkulaci je podle současného

názoru odborníků hlavní příčinou pokračujících obtíží nedostatečně, ale i dostatečně kompenzovaných diabetiků. Je známo, že praktičtí lékaři považují za rozhodující výsledek léčby normalizaci hladiny glykémie a glykovaného hemoglobinu, ale dyslipoproteinémie již nebývá pečlivě studována, případně normalizována. Současná antidiabetika komplexní léčbu zvýšené glykémie, zvýšeného glykovaného hemoglobinu a dyslipoproteinémie ani neumožňují (Perušičová, 2009). Naše výsledky dokazují, že i dobrá kompenzace glykémie není spojena se snížením obsahu mastných kyselin v cirkulaci.

Složení mastných kyselin se v závislosti na stavu onemocnění rovněž mění, zvyšuje se celkový obsah cytotoxických, nasycených mastných kyselin a jejich působení je nedostatečně kompenzováno zvýšeným obsahem protektivních, mononenasycených mastných kyselin (graf 5. 7.). Zajímavým nálezem je čtyř- až pětinasobné zvýšení koncentrace diacylglycerolů v krvi u diabetiků (graf 5. 9.). Tento nález je v souladu s celkově zvýšenou koncentrací mastných kyselin v krvi, ale pozorovaný několikanásobný nárůst diacylglycerolů nebyl doposud v odborné literatuře popsán. Diacylglycerolfosfáty jsou substrátem pro syntézu fosfolipidů a triacylglycerolů v játrech a zvýšená koncentrace diacylglycerolů v krvi může signalizovat sníženou aktivitu jaterní diacylglycerolacyltransferasy, způsobenou nadbytkem triacylglycerolů v játrech i v krvi. Obdobně působí nadbytek fosfolipidů na aktivitu monoacylglycerolfosfátacyltransferasy, která syntetizuje fosfolipidy (Hodson, 2008, Holeček, 2006). Diacylglyceroly jsou důležitými signálními molekulami, které aktivují proteinkinázu C, ta následně fosforyluje substrát inzulínového receptoru na tyrosinových a serinových hydroxylech. Tím je inhibována tyrosinkinasa, která je součástí inzulínového receptoru a přenos inzulínového signálu je narušen (Samuel, 2010). Objevuje se inzulínorezistence orgánových a později i jaterních buněk a tato inzulínorezistence je zřejmě hlavní příčinou dysregulace lipidového a později i glukosového metabolismu.

Tento nález je nový, prozatím nebyl v odborné literatuře popsán ani diskutován, a proto bude nutné provést jeho ověření na větším souboru a

zohlednit i věk, BMI, případně i skladbu stravy nemocných. Současně bude nutné odebírat krevní vzorky častěji v delším časovém intervalu, aby bylo možné specifikovat změny obsahu mastných kyselin v jednotlivých frakcích v delší časové závislosti.

7. Závěr

V této práci bylo analyzováno celkem 40 vzorků EDTA plazmy, které byly rozděleny do tří skupin podle koncentrace glykovaného hemoglobinu na dostatečně kompenzované (13 vzorků), nedostatečně kompenzované (9 vzorků) a zdravé (18 vzorků), jako kontrolní skupina. Všechny vzorky byly zpracovány stejným způsobem. Za pomoci tenkovrstevné chromatografie jsme získali z každého vzorku 5 lipidických tříd. Ty byly následně derivatizovány a ve formě methylesterů analyzovány pomocí plynové chromatografie, čímž jsme získali údaje o zastoupení mastných kyselin v jednotlivých třídách.

Získaná data, týkající se složení mastných kyselin v jednotlivých lipidických frakcích plazmy, byla statisticky zpracována pomocí vícerozměrných průzkumových technik, které byly doplněné grafy vytvořenými v Microsoft Office Excel 2007. Statistickými technikami byly sledovány signifikantní korelace, které by mohly přispět k rozšíření poznatků v problematice diagnózy diabetu 2. typu.

Bylo zjištěno, že dochází k dyslipoproteinémii téměř ve všech lipidických frakcích u dostatečně, ale i nedostatečně kompenzovaných diabetiků. Z toho je zřejmé, že dobrá kompenzace glykovaného hemoglobinu není spojena s normalizací lipidového metabolismu. Dále jsme zjistili, že má vzrůstající charakter koncentrace nasycených mastných kyselin, které jsou prokazatelně toxické a jsou příčinou pokračujících obtíží diabetiků. Významným nálezem je zvýšení koncentrace diacylglycerolů, které jsou důležitými signálními molekulami v přenosu inzulínového signálu. Jejich několikanásobně zvýšená koncentrace vede k poruše v přenosu tohoto signálu a následnému rozvoji inzulínové rezistence. Tento nález doposud nebyl v odborné literatuře popsán a bude třeba se jím dále zabývat.

8. Seznam literatury

1. Anděl, M., Diabetes mellitus a další poruchy metabolismu. Praha 2001, Galén, 1. vydání, ISBN 80-7262-047-9
2. Barthel A., Schmol D., Novel concepts in insulin regulativ of hepatic gluconeogenesis. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism (2003) vol. 285: E685-E692
3. Bělobrádková, J., Brázdová, L., Diabetes mellitus. Brno 2006, Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, 1. vydání, ISBN 80-7013-446-1
4. Cnop, M., Hannaert, J., C., Hoorens, A., Eizirik, D., L., Pipellers, D., G., Inverse relationship between cytotoxicity of free fatty acids in pancreatic islets cells and cellular triglyceride accumulation. Diabetes (2001) 50: 1771-1777
5. Čegan, A., Korecká, L., Biochemie pro bakalářské studium chemie a technické chemie. Pardubice 2008, Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, skripta
6. Česká diabetologická společnost: Doporučený postup péče o diabetes mellitus 2. typu.
7. Česká diabetologická společnost: Standardy péče o diabetes mellitus 1. typu.
8. Čůta, F., Instrumentální analýza. Praha 1986, Nakladatelství technické literatury, 1. vydání, ISBN 94-601-86
9. Debjyoti, D., Biochemistry. Kolkata 2005, Academic Publisher, ISBN 81-87504-82-X
10. Del Prato, S., Role of glucotoxicity and lipotoxicity in the pathophysiology of Type 2 diabetes mellitus and emerging treatment strategies. Diabetic medicine (2009) 26: 1185-1192
11. Flowers, M. T. The Δ^9 fatty acid desaturation index as a predictor of metabolic disease. Clinical Chemistry (2009) 55: 2071 – 2073

12. Garrett, R., H., Grisham, C., M., Biochemistry. Boston 2010, Cengage Learning, 4th edition, ISBN 978-0-495-10935-8
13. Goldemud, K., Obezita a metabolický syndrom. *Pediatric pro praxi* (2003) 1: 9-13
14. Harvey, R., A., Lippincott's illustrated reviews: Biochemistry. Philadelphia 2010, Lippincott Williams&Wilkins, 5th edition, ISBN 978-1-60831-412-6
15. Haugaard, S., B., Madsbad, S., Høy, C., E., Vaag, A., Dietary intervention increase n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in skeletal muscle membrane phospholipids of obese subject. Implications for insulin sensitivity. *Clinical Endocrinology* (2006) 64: 169-178
16. Helmrich S., P., Ragland, D., R., Leung, R., W., Pafanbarger, R., S., Physical activity and reduced occurrence of non – insulin – dependent diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine* (1991) vol. 325: 147 – 152
17. Hodson, L., Skeaff, C., M., Fielding, B., A., Fatty acids composition of adipose tissue and blood in humans and its use as a biomarker of dietary intake. *Progress in Lipid Research* (2008) 47: 348-380
18. Holeček, M., Regulace metabolismu cukrů, tuků, bílkovin a aminokyselin. Praha 2006, Grada Publishing a. s., 1. vydání, ISBN 80-247-1562-7
19. Howard, B., V., Lipoprotein metabolism in diabetes mellitus. *Journal of Lipid Research* (1987) vol. 27: 613-628
20. Hu, F., B., Manson, J., E., Stampfer, J., M., Colditz, G., Liu, S., Solomon, C., G., Willett, W., C., Diet, life styl and risk of type 2 diabetes mellitus in women. *New England Journal of Medicine* (2001) vol. 345: 790 – 797
21. Hu, F., B., van Dam, R., M., Liu, S., Diet and risk of type II diabetes: the role of type of fat and carbohydrate. *Diabetologia* (2001) vol. 44: 805 – 817
22. Churáček, J., Analytická separace látek. Praha 1990, Státní nakladatelství technické literatury, 1. vydání, ISBN 80-03-00559-8

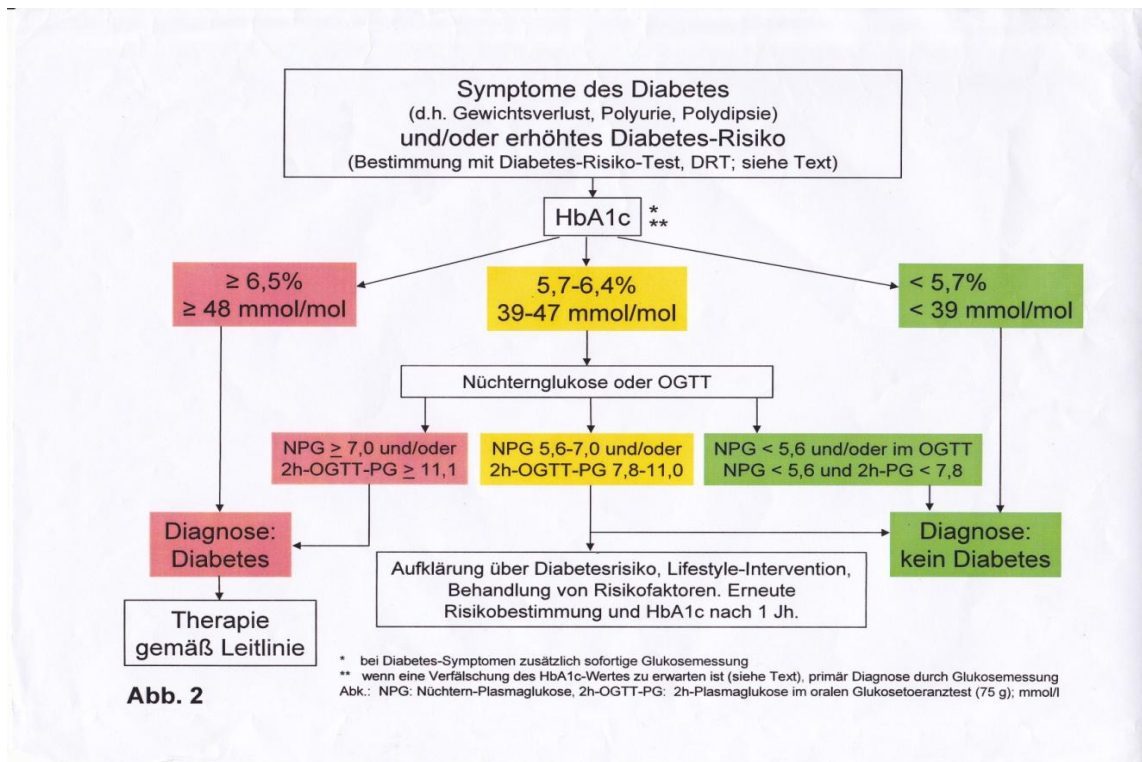
23. Kahn, B., B., Flier, J., S., Obesity and insulin resistance. *The Journal of Clinical Investigation* (2000) vol. 106: 473-481
24. Kittnar, O., *Lékařská fyziologie*. Praha 2011, Grada Publishing a. s., 1. vydání, ISBN 978-80-247-3068-4
25. Klener, P., *Vnitřní lékařství*. Praha 2006, Galén, 3. přepracované a rozšířené vydání, ISBN 80-7262-430-X
26. Klouda, P., *Moderní analytické metody*. Ostrava 2003, nakladatelství Pavel Klouda, 2. upravené a doplněné vydání, ISBN 80-86369-07-2
27. Koolman, J., Roehm, K. H., *Color atlas of biochemistry*. Stuttgart 2005, Georg Thieme Verlag, ISBN 3-13-100372-3
28. Krauss, R., M., Lipids and lipoproteins in patients with type 2 diabetes. *Diabetes care* (2004) vol. 27: 1496-1504
29. Ledvina, M., Stoklasová, A., Cerman, J., *Biochemie pro studující medicíny*. Praha 2004, Karolinum, 1. vydání, 2 svazky, ISBN 80-246-0849-9 80-246-0850-2
30. Lupi, R., Del Guera, S., Fierabracci, V., Marselli, L., Novelli, M., Patané, G., Boggi, U., Mosca, F., Piro, S., Del Prato, S., Marchetti, P., Lipotoxicity in human pancreatic islets and the protective effect of metformin. *Diabetes* (2002) 51: 134-137
31. Lupi, R., Dotta, F., Marselli, L., Del Guera, S., Masini, M., Santangelo, C., Patané, G., Boggi, U., Piro, S., Anello, M., Bergamini, E., Mosca, F., Di Mario, U., Del Prato, S., Marchetti, P., Prolonged exposure to free fatty acids has cytostatic and pro-apoptotic effect on human pancreatic islets. *Diabetes* (2002) vol. 51: 1437-1442
32. Matouš, B., *Základy lékařské chemie a biochemie*. Praha 2010, Galén, 1. vydání, ISBN 978-80-7262-702-8
33. Mayfield, J., Diagnosis and classification of diabetes mellitus: New criteria. *American Academy of Family Physicians* (1998) 58: 1355-1362
34. McGarry, J., D., Dobbins, R., L., Fatty acids, lipotoxicity and insulin secretion. *Diabetologia* (1999) 42: 128-138

35. Metzler, D., E., Biochemistry – The chemical reactions of living cells. San Diego 2003, Elsevier Science, ISBN 0-12-492543-X
36. Murray, R., K., Harperova biochemie. Jinočany 2002, H&H, 4. české vydání, ISBN 80-7319-013-3
37. Musil, J., Molekulové základy klinické biochemie. Praha 1994, Grada Avicenum, ISBN 80-7169-056-2
38. Navrátil, L., Vnitřní lékařství pro nelékařské fakulty. Praha 2003, Manus, 1. vydání, ISBN 80-86571-02-5
39. Nečas, E., Patologická fyziologie orgánových systémů – 2. část. Praha 2006, Karolinum, 1. vydání, ISBN 80-246-0674-7
40. Numa, S., Fatty acid metabolism and its regulation. Amsterdam 1984, Elsevier Science Publishers B. V., ISBN 0444 80303 3
41. O’Rahilly, S., Non-insulin dependent diabetes mellitus: the gathering storm. British Medical Journal (1997) vol. 314: 955-959
42. Páv, J., Klinická diabetologie. Praha 1988, Avicenum – zdravotnické nakladatelství, 1. vydání, ISBN 08-005-88
43. Pelikánová, T., Bartoš, V., Diabetes mellitus – minimum pro praxi. Praha 1999, Triton, 1. vydání, ISBN 80-7254-020-3
44. Pelikánová, T., Bartoš, V., Praktická diabetologie. Praha 2010, Maxdorf, 4. rozšířené vydání, ISBN 978-80-7345-216-2
45. Perušičová, J., Češka, R., Kardiabetes – kardiovaskulární choroby & diabetes mellitus. Brno 2009, Facta Medica, 1. vydání, ISBN 978-80-904260-1-6
46. Piřhová, P., Štechová, K., Léčba inzulinovou pumpou pro praxi. Semily 2009, GEUM, 1. vydání, ISBN 978-80-86256-64-1
47. Poudyal, H., Panchal, S., K., Diwan, V., Brown, L., Omega-3 fatty acids and metabolic syndrome: Effect and emerging mechanisms of action. Progres in Lipid Research (2011) 50: 372-387
48. Racek, J., Klinická biochemie. Praha 1999, Galén, 1. vydání, ISBN 80-7262-023-1

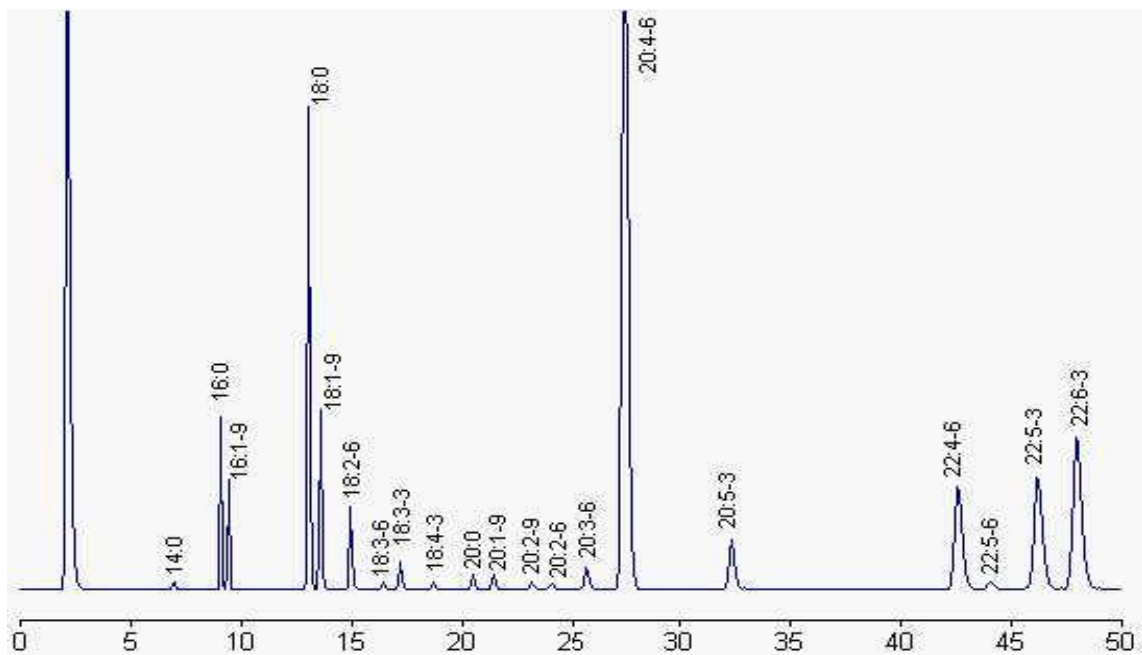
49. Ríos, M., S., Fuentes, J., A., G., Type 2 diabetes mellitus. Barcelona 2010, Elsevier España, ISBN 978-84-8086-683-5
50. Roche, H., M., Unsaturated fatty acids. Proceedings of the Nutrition Society (1999) 58: 397-401
51. Rybka, J., Diabetes mellitus – komplikace a přidružená onemocnění. Praha 2007, Grada Publishing a. s., 1. vydání, ISBN 978-80-247-1671-8
52. Řezáčová, M., Stoklasová A., Základy biochemie lidského organismu. Praha 2008, Karolinum, 1. vydání, ISBN 978-80-246-1510-3
53. Samuel, V., T., Petersen K., F., Shulman, G., I., Lipid-induced insulin resistance: unravelling the mechanism. Department of Internal Medicine (2010) 375: 2267-2277
54. Seino, S., Bell, G., I., Pancreatic beta cell in health and disease. Hong Kong 2010, Springer, ISBN 978-4-431-75451-0
55. Simopoulos, A., P., Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. The American Journal of Clinical Nutrition (1991) 54: 438-463
56. Simopoulos, A., P., Essential fatty acids in health and chronic disease. The American Journal of Clinical Nutrition (1999) 70: 560-569
57. Soška, V., Léčba dyslipidemie u diabetiků. Interní medicína pro praxi, (2007) 4: 163 - 166
58. Svačina, Š., Metabolický syndrom. Praha 2006, Triton, 3. rozšířené a přepracované vydání, ISBN 80-7254-782-8
59. Šálek, T., Laboratorní diagnostika diabetes mellitus a diabetické nefropatie. Interní medicína pro praxi (2007) 4: 369-370
60. Štern, P., Obecná a klinická biochemie pro bakalářské obory studia. Praha 2005, Karolinum, 1. vydání, ISBN 80-246-1025-6
61. Tvrzická, E., Staňková, B., Vecka, M., Žák, A., Mastné kyseliny – Výskyt a biologický význam. Časopis lékařů českých (2009) 148: 16-24

62. Tvrzická, E., Staňková, B., Vecka, M., Žák, A., Mastné kyseliny – Fyziologický a klinický význam. Časopis lékařů českých (2009) 148: 116 - 123
63. Valentine, V., Biermann, J., Toohley, B., Diabetes type 2 and what to do. Lowell House, 1994, 2nd edition, ISBN 1-56565-865-5
64. Voet, D., Voet, J. G., Biochemie. Praha 1995, Victoria Publishing, ISBN 80-85605-44-9
65. Vokurka, M., Patofyziologie pro nelékařské směry. Praha 2005, Karolinum, 1. vydání, ISBN 80-246-0896-0
66. Zenobi, P., D., Jaegii-Grosman, S., E., Riesen, W., F., Roder, M., E., Froesch, E., R., Insulin-like growth factor-I improves glukose and lipid metabolism in type 2 diabetes mellitus. The Journal of Clinical Investigation (1992) 90: 2234-2241
67. Zima, T., Laboratorní diagnostika. Praha 2007, Galén, 2. doplněné a přepracované vydání, ISBN 978-80-7262-372-3

9. Přílohy



Obr. 9. 1: Schéma diagnostiky diabetes mellitus dle nejnovějších poznatků (získáno z univerzity v Tübingenu)



Obr. 9. 2: Ukázkový chromatogram mastných kyselin

PL	Zdraví	Dostatečně kompenzovaní	Nedostatečně kompenzovaní
SFA	86,36 41,89 – 152,34	193,92 101,79 – 364,71	220,78 102,73 – 308,51
C14:0	3,43 1,71 - 6,16	8,65 1,48 – 11,98	14,81 7,21 – 32,92
C15:0	1,57 0,37 – 3,17	5,91 0,32 – 19,19	6,81 5,09 – 9,25
C16:0	202,39 115,94 – 283,38	300,70 197,63 – 412,09	408,90 282,94 – 544,63
C18:0	183,89 107,40 – 252,53	300,75 189,17 – 407,15	400,99 302,56 – 537,23
C20:0	7,19 1,83 – 11,93	5,59 2,03 – 21,08	6,07 2,55 – 11,39
C22:0	35,05 2,02 – 68,29	83,94 24,59 – 161,18	103,17 63,87 – 156,70
C 24:0	8,99 1,62 – 17,60	40,24 22,41 – 65,39	45,18 29,41 – 57,53
MUFA	124,34 71,53 – 186,38	284,83 163,27 – 555,89	309,84 174,69 – 412,28
C16:1 N7	10,21 3,34 – 22,64	26,55 14,94 -33,83	30,10 12,23 – 49,26
C18:1 N9	85,82 47,02-124,56	209,30 142,63 – 287,15	240,61 153,60 – 359,86
C18:1 N7	28,52 15,82 – 41,10	10,97 1,15 – 16,86	16,13 8,86 – 19,15
EFA	208,41 135,21 – 260,60	275,99 120,12 – 376,38	451,84 257,57 – 946,83
C18:2 N6	25,37 14,94 – 32,11	32,12 21,61 – 44,05	51,06 49,79 – 77,58
C18:3 N6	0,93 0,53 – 2,00	6,39 2,31 – 10,81	7,72 6,39 – 8,59
C18:3 N3	0,84 0,28 – 3,32	3,62 2,23 -5,31	4,82 4,01 – 7,36
C20:3 N6	21,80 13,63 – 29,90	24,00 12,57 – 43,47	30,91 21,26 – 43,69
C20:4 N6	110,66 60,56 – 146,32	154,61 93,04 – 262,49	212,30 149,71 – 304,73
C20:5 N3	19,46 12,97 – 26,29	25,19 17,31 – 42,41	32,21 25,18 – 45,86
C22:4 N6	7,45 4,31 – 10,26	13,66 6,76 – 20,01	19,43 11,19 – 23,47
C22:5 N3	20,70 10,55 – 44,24	4,07 0,86 - 27,64	31,32 5,94 – 90,24
C22:6 N3	1,20 0,63 – 1,99	2,80 0,90 – 13,02	2,08 0,54 – 4,85
lipidy celkem	783,40 460,55 – 1061,45	1340,90 918,05 – 1697,97	1761,14 1137,31 - 2426,93
glukosa	4,5 3,6 – 5,6	9,95 6, 0 – 14,7	13,4 10,2 – 18,8
Glyk. Hb	3,69 2,8 – 4,7	5,78 4,8 – 6,9	8,58 7,2 – 11,8

Tab. 9. 1: Průměrná koncentrace (μmol/l) mastných kyselin ve frakci PL, ve druhém řádku uvedeny naměřené minimální a maximální hodnoty

DG	Zdraví	Dostatečně kompenzovaní	Nedostatečně kompenzovaní
SFA	32,79 19,50 – 44,61	83,35 32,92 – 239,26	76,99 28,04 – 185,05
C14:0	1,58 0,41 – 2,91	4,46 1,85 – 8,02	7,07 1,75 – 19,57
C15:0	1,02 0,26 – 1,92	1,87 0,34 – 4,51	2,06 0,74 – 3,84
C16:0	9,09 2,98 – 16,20	20,56 4,49 – 47,19	20,49 6,56 – 40,63
C18:0	12,17 5,65 – 24,65	18,70 9,93 – 46,53	17,30 5,99 – 39,19
C20:0	1,24 0,47 – 3, 12	1,31 0,29 – 2,40	1,67 0,51 – 6,76
C22:0	2,08 0,45 – 3,04	4,01 3,08 – 7,55	4,36 0,62 – 8,81
C 24:0	1,28 0,82 – 1,92	5,53 1,74 – 10,51	4,31 0,79 – 7,53
MUFA	12,41 5,12 – 21,03	87,81 28,69 – 235,61	64,72 18,74 – 162,37
C16:1 N7	2,63 0,85 – 4,91	11,13 3,48 -28,27	11,10 1,15 – 30,47
C18:1 N9	8,15 2,73 – 13,52	40,28 6,40 – 100,44	41,50 14,25 – 98,74
C18:1 N7	1,63 0,29 – 4,34	1,20 0,64 – 2,51	1,42 0,49 – 2,85
EFA	11,12 5,55 – 18,30	109,63 29,90 – 171,54	68,13 16,41 – 126,14
C18:2 N6	0,92 0,54 – 1,65	1,86 0,59 – 4,42	1,57 0,53 – 2,35
C18:3 N6	0,31 0,14 – 0,81	0,83 0,38 – 1,77	0,71 0,38 – 1,37
C18:3 N3	0,54 0,22 – 1,38	1,96 0,43 – 2,98	1,28 0,45 – 2,37
C20:3 N6	0,50 0,17 – 1,21	2,19 0,13 – 5,12	1,28 0,45 – 2,70
C20:4 N6	2,08 0,97 – 2, 99	4,69 0,42 -16,88	3,37 0,76 – 5,52
C20:5 N3	1,82 0,86 – 2,97	2,56 0,70 – 7,00	2,39 0,78 – 7,99
C22:4 N6	1,34 0,61 – 1,89	0,97 0,37 – 2,43	2,40 1,86 – 2,97
C22:5 N3	1,83 0,51 – 4,22	17,50 1,12 – 37,78	33,29 1,45 – 106,88
C22:6 N3	1,79 0,56 – 2,81	1,08 0,31 – 2,81	1,84 0,51 – 4,87
lipidy celkem	56,33 34,72 – 79,80	280,79 102,27 – 615,70	209,85 76,29 – 288,51
glukosa	4,5 3,6 – 5,6	9,95 6, 0 – 14,7	13,4 10,2 – 18,8
Glyk. Hb	3,69 2,8 – 4,7	5,78 4,8 – 6,9	8,58 7,2 – 11,8

Tab. 9. 2: Průměrná koncentrace (μmol/l) mastných kyselin ve frakci DG, ve druhém řádku uvedeny naměřené minimální a maximální hodnoty

VMK	Zdraví	Dostatečně kompenzovaní	Nedostatečně kompenzovaní
SFA	86,36 41,89 – 152,34	193,92 101,79 – 364,71	220,78 102,73 – 308,51
C14:0	4,33 1,53 – 7,00	15,23 3,31 – 28,77	14,13 6,41 – 45,27
C15:0	1,18 0,40 – 1,56	3,45 3,03 – 5,73	3,88 2,69 – 7,61
C16:0	30,79 12,87 – 55,42	70,72 47,37 – 115,81	89,97 40,42 – 165,13
C18:0	36,21 18,05 – 62,89	53,37 40,51 – 95,24	69,08 39,49 – 102,66
C20:0	1,89 0,41 – 4,80	2,10 0,80 – 7,56	2,03 0,61 – 3,75
C22:0	2,82 0,85 – 5,29	6,66 1,84 – 20,02	4,20 1,78 – 13,98
C 24:0	3,53 1,09 – 6,10	2,26 0,54 – 16,41	1,40 0,36 – 3,03
MUFA	53,24 15,68 – 109,23	262,44 128,90 – 479,89	244,72 106,74 – 422,24
C16:1 N7	6,81 2,31 – 15,59	40,04 22,23 – 60,57	36,79 11,80 – 71,45
C18:1 N9	37,49 7,37 – 68,58	121,49 33,45 – 309,05	191,60 92,58 – 342,36
C18:1 N7	8,94 1,14 – 15,94	5,92 3,02 – 8,35	6,63 2,35 – 10,67
EFA	15,18 7,30 – 26,89	26,29 18,40 – 41,03	22,84 18,32 – 47,33
C18:2 N6	2,30 0,75 – 3,93	5,92 2,73 – 8,44	7,10 3,31 – 12,84
C18:3 N6	0,41 0,20 – 1,37	1,19 0,73 – 2,57	1,15 0,74 – 1,97
C18:3 N3	1,95 0,21 – 4,92	6,03 3,90 – 8,44	6,66 2,06 – 16,96
C20:3 N6	0,65 0,10 – 2,04	0,99 0,30 – 3,86	1,22 0,75 – 2,16
C20:4 N6	1,85 0,81 – 4,46	2,47 0,56 – 5,20	3,85 1,75 – 6,51
C20:5 N3	2,01 0,73 – 6,14	4,11 0,49 – 15,15	3,28 0,44 – 18,62
C22:4 N6	1,76 0,39 – 3,32	1,28 0,30 – 2,68	2,32 0,94 – 6,18
C22:5 N3	2,36 0,42 – 3,98	2,16 0,44 – 10,40	1,01 0,16 – 2,81
C22:6 N3	1,89 0,34 – 4,17	2,13 0,34 – 11,27	1,60 0,30 – 3,96
lipidy celkem	154,78 94,48 – 268,41	482,65 252,50 – 885,63	470,42 227,99 – 604,08
glukosa	4,5 3,6 – 5,6	9,95 6,0 – 14,7	13,4 10,2 – 18,8
Glyk. Hb	3,69 2,8 – 4,7	5,78 4,8 – 6,9	8,58 7,2 – 11,8

Tab. 9. 3: Průměrná koncentrace ($\mu\text{mol/l}$) mastných kyselin ve frakci VMK, ve druhém řádku uvedeny naměřené minimální a maximální hodnoty

TAG	Zdraví	Dostatečně kompenzovaní	Nedostatečně kompenzovaní
SFA	271,83 82,71 – 433,44	556,94 163,48 – 1046,26	856,97 475,83 – 1318,70
C14:0	20,95 5,31 – 55,08	44,13 12,76 – 11,74	79,22 10,81 – 155,27
C15:0	2,15 0,74 – 5,25	10,20 0,32 – 27,61	11,64 4,81 – 24,06
C16:0	159,52 31,13 – 258,06	251,83 22,11 – 465,35	525,01 110,05 – 828,50
C18:0	45,39 19,02 – 86,17	74,56 12,54 – 135,24	151,27 32,99 – 293,31
C20:0	8,00 2,50 – 18,96	19,71 4,20 – 42,67	28,88 8,24 – 54,02
C22:0	9,28 1,75 – 21,93	12,02 3,43 – 36,40	12,75 4,24 – 37,75
C 24:0	12,56 8,06 – 27,36	4,75 1,05 – 19,79	8,88 6,33 – 15,59
MUFA	366,53 51,87 – 687,32	887,67 186,44 – 1480,42	1279,13 312,29 – 2033,62
C16:1 N7	50,41 12,18 – 91,86	125,14 41,95 – 213,57	185,06 106,38 – 346,70
C18:1 N9	253,14 102,95 – 481,00	477,80 16,30 – 775,29	985,48 45,70 – 1759,09
C18:1 N7	62,97 9,96 – 114,45	93,74 6,03 – 498,99	108,59 19,32 – 544,98
EFA	61,98 29,33 – 97,94	90,90 26,42 – 288,01	124,07 41,42 – 233,09
C18:2 N6	16,66 4,84 – 37,88	28,16 0,47 – 115,56	43,46 14,32 – 84,09
C18:3 N6	0,74 0,15 – 1,58	3,58 1,20 – 11,92	3,43 0,62 – 8,86
C18:3 N3	9,84 1,07 – 20,27	18,94 1,36 – 31,003	25,95 8,63 – 50,12
C20:3 N6	2,26 0,98 – 5,40	3,40 1,17 – 11,34	4,59 1,00 – 9,15
C20:4 N6	13,60 5,24 – 27,74	16,69 0,81 – 51,70	27,37 9,11 – 45,63
C20:5 N3	3,12 1,80 – 6,90	5,56 1,04 – 22,24	2,83 0,49 – 9,01
C22:4 N6	4,40 1,85 – 9,05	5,46 0,31 – 16,17	8,14 2,89 – 14,86
C22:5 N3	4,42 0,61 – 12,72	5,59 0,71 – 6,71	5,00 0,44 – 7,63
C22:6 N3	6,94 0,79 – 10,96	3,52 0,48 – 11,08	3,30 0,43 – 10,38
lipidy celkem	700,34 190,44 – 1218,70	1535,52 367,10 – 2791,45	2260,16 550,55 – 3466,59
glukosa	4,5 3,6 – 5,6	9,95 6,0 – 14,7	13,4 10,2 – 18,8
Glyk. Hb	3,69 2,8 – 4,7	5,78 4,8 – 6,9	8,58 7,2 – 11,8

Tab. 9. 4: Průměrná koncentrace ($\mu\text{mol/l}$) mastných kyselin ve frakci TAG, ve druhém řádku uvedeny naměřené minimální a maximální hodnoty

ECH	Zdraví	Dostatečně kompenzovaní	Nedostatečně kompenzovaní
SFA	271,56 174,49 – 453,54	341,81 85,85 – 633,75	244,28 88,17 – 446,68
C14:0	17,79 7,05 – 51,46	19,21 4,36 – 38,53	15,98 4,45 – 29,26
C15:0	5,13 1,65 – 15,35	6,25 3,93 – 11,73	4,64 1,55 – 6,78
C16:0	151,45 110,13 – 195,44	90,16 11,34 – 160,84	109,24 53,78 – 168,52
C18:0	26,75 14,53 – 88,10	25,55 6,52 – 59,26	21,75 9,46 – 35,12
C20:0	20,99 9,87 – 28,09	31,91 7,99 – 58,39	39,08 22,30 – 85,13
C22:0	10,24 2,08 – 20,59	10,10 3,57 – 23,24	7,27 2,63 – 21,53
C 24:0	15,25 5,02 – 24,58	1,21 0,33 – 4,85	19,02 0,50 – 160,73
MUFA	378,08 268,91 – 496,26	516,58 138,38 – 1356,88	371,34 194,39 – 555,63
C16:1 N7	72,95 41,53 – 119,01	229,33 32,90 – 577,17	79,63 27,57 – 172,12
C18:1 N9	236,91 170,60 – 355,89	245,01 15,54 – 610,32	272,67 161,42 – 470,92
C18:1 N7	68,23 48,65 – 108,53	42,24 3,33 – 251,01	19,04 5,37 – 109,50
EFA	283,33 136,90 – 452,53	170,09 28,98 – 343,52	208,28 93,54 – 323,57
C18:2 N6	104,91 52,66 – 164,75	53,59 2,58 – 92,41	71,73 38,81 – 137,09
C18:3 N6	2,23 0,97 – 3,85	2,02 0,41 – 3,29	1,88 0,85 – 5,95
C18:3 N3	8,65 2,82 – 18,54	10,28 3,46 – 20,04	7,05 2,42 – 12,18
C20:3 N6	6,81 2,03 – 12,37	5,20 0,20 – 13,73	4,99 1,28 – 10,90
C20:4 N6	107,44 71,42 – 154,38	66,37 27,49 – 163,33	82,24 31,83 – 142,40
C20:5 N3	5,75 0,76 – 6,98	4,59 2,09 – 16,72	3,05 0,65 – 9,03
C22:4 N6	3,37 1,45 – 6,78	1,18 0,63 – 2,36	1,22 0,32 – 2,92
C22:5 N3	7,42 1,90 – 13,88	1,51 0,61 – 3,45	5,19 0,47 – 11,08
C22:6 N3	36,75 8,78 – 54,89	25,36 6,72 – 61,72	30,93 10,88 – 44,79
lipidy celkem	932,97 580,31 – 1150,74	1028,48 303,34 – 2147,71	823,90 376,10 – 1267,47
glukosa	4,5 3,6 – 5,6	9,95 6,0 – 14,7	13,4 10,2 – 18,8
Glyk. Hb	3,69 2,8 – 4,7	5,78 4,8 – 6,9	8,58 7,2 – 11,8

Tab. 9. 5: Průměrná koncentrace ($\mu\text{mol/l}$) mastných kyselin ve frakci ECH, ve druhém řádku uvedeny naměřené minimální a maximální hodnoty

	Myr	Penta	Pal	Palo	Ste	Ole	Vac	Lin	Ara	Glin	Line	Eik3	Beh	Arch	Eik5	Lig	Dok4	Dok5	Dok6	HbA1c
Myr	1,00	0,69	0,58	0,38	0,36	0,34	0,22	0,25	-0,16	0,60	0,21	0,24	0,53	0,26	-0,02	0,28	0,17	0,58	-0,33	-0,26
Penta	0,69	1,00	0,54	0,48	0,52	0,41	0,27	0,44	-0,07	0,39	0,02	0,30	0,42	0,56	0,18	0,24	0,09	0,50	-0,51	-0,51
Pal	0,58	0,54	1,00	0,51	0,47	0,56	0,56	0,55	-0,04	0,63	0,55	0,17	0,65	0,74	0,24	0,40	0,25	0,40	-0,40	-0,04
Palo	0,38	0,48	0,51	1,00	0,31	0,25	0,09	0,11	0,52	0,70	0,63	0,22	0,22	0,38	0,09	0,06	0,10	0,23	-0,07	-0,30
Ste	0,36	0,52	0,47	0,31	1,00	0,42	0,03	0,60	-0,08	0,35	0,26	0,43	0,41	0,19	0,42	-0,14	0,15	0,06	-0,45	-0,48
Ole	0,34	0,41	0,56	0,25	0,42	1,00	0,77	0,27	-0,13	0,31	0,45	-0,09	0,15	0,35	0,26	0,41	0,36	0,15	-0,41	-0,05
Vac	0,22	0,27	0,56	0,09	0,03	0,77	1,00	0,23	-0,11	0,08	0,26	-0,26	0,19	0,53	0,30	0,36	0,35	0,14	-0,50	0,28
Lin	0,25	0,44	0,55	0,11	0,60	0,27	0,23	1,00	-0,04	0,03	0,17	0,04	0,77	0,33	0,38	0,05	-0,01	-0,25	-0,53	-0,08
Ara	-0,16	-0,07	-0,04	0,52	-0,08	-0,13	-0,11	-0,04	1,00	-0,07	0,40	-0,22	-0,21	0,05	-0,08	-0,54	0,41	-0,36	0,28	0,07
Glin	0,60	0,39	0,63	0,70	0,35	0,31	0,08	0,03	-0,07	1,00	0,56	0,28	0,41	0,32	-0,04	0,39	-0,03	0,59	0,06	-0,42
Line	0,21	0,02	0,55	0,63	0,26	0,45	0,26	0,17	0,40	0,56	1,00	0,22	0,16	0,08	0,02	0,17	0,36	-0,04	0,04	0,12
Eik3	0,24	0,30	0,17	0,22	0,43	-0,09	-0,26	0,04	-0,22	0,28	0,22	1,00	0,04	-0,10	0,21	0,04	-0,00	0,28	-0,18	-0,28
Beh	0,53	0,42	0,65	0,22	0,41	0,15	0,19	0,77	-0,21	0,41	0,16	0,04	1,00	0,38	0,34	0,21	-0,26	0,15	-0,41	-0,09
Arch	0,26	0,56	0,74	0,38	0,19	0,35	0,53	0,33	0,05	0,32	0,08	-0,10	0,38	1,00	0,17	0,27	0,17	0,48	-0,30	-0,07
Eik5	-0,02	0,18	0,24	0,09	0,42	0,26	0,30	0,38	-0,08	-0,04	0,02	0,21	0,34	0,17	1,00	-0,04	-0,10	-0,21	-0,45	-0,07
Lig	0,28	0,24	0,40	0,06	-0,14	0,41	0,36	0,05	-0,54	0,39	0,17	0,04	0,21	0,27	-0,04	1,00	-0,30	0,39	-0,15	0,11
Dok4	0,17	0,09	0,25	0,10	0,15	0,36	0,35	-0,01	0,41	-0,03	0,36	-0,00	-0,26	0,17	-0,10	-0,30	1,00	-0,03	0,14	-0,01
Dok5	0,58	0,50	0,40	0,23	0,06	0,15	0,14	-0,25	-0,36	0,59	-0,04	0,28	0,15	0,48	-0,21	0,39	-0,03	1,00	-0,05	-0,19
Dok6	-0,33	-0,51	-0,40	-0,07	-0,45	-0,41	-0,50	-0,53	0,28	0,06	0,04	-0,18	-0,41	-0,30	-0,45	-0,15	0,14	-0,05	1,00	-0,09
HbA1c	-0,26	-0,51	-0,04	-0,30	-0,48	-0,05	0,28	-0,08	0,07	-0,42	0,12	-0,28	-0,09	-0,07	-0,07	0,11	-0,01	-0,19	-0,09	1,00

Tab. 9. 6: Matice korelačních koeficientů ve frakci PL - skupina zdravých

Myr – kyselina myristová, penta – kyselina pentadekanová, pal – kyselina palmitová, palo – kyselina palmitolejová, ole – kyselina olejová, vac – kyselina vacenová, lin – kyselina linolová, ara – kyselina arachová, glin – kyselina γ -linolenová, line – kyselina α -linolenová, eik3 – kyselina eikosatrienová, beh – kyselina behenová, arch – kyselina arachidonová, eik5 – kyselina eikosapentaenová, lig – kyselina lignocerová, dok4 – kyselina dokosatetraenová, dok5 – kyselina dokosapentaenová, dok6 – kyselina dokosaheptaenová, HbA1c – glykovaný hemoglobin

	Myr	Penta	Pal	Palo	Ste	Ole	Vac	Lin	Ara	Glin	Line	Eik3	Beh	Arch	Eik5	Lig	Dok4	Dok5	Dok6	HbA1c
Myr	1,00	0,26	0,50	0,00	0,45	0,41	0,43	0,15	0,06	0,63	-0,03	0,37	0,18	0,48	0,58	0,38	0,76	0,35	-0,61	-0,26
Penta	0,26	1,00	-0,15	0,88	-0,15	-0,37	-0,41	-0,48	0,12	-0,14	0,89	-0,30	-0,29	-0,39	-0,23	0,39	-0,02	0,04	-0,37	-0,07
Pal	0,50	-0,15	1,00	-0,42	0,96	0,73	0,91	0,81	0,54	0,58	-0,44	0,68	0,37	0,83	0,90	0,59	0,83	0,35	-0,44	0,16
Palo	0,00	0,88	-0,42	1,00	-0,44	-0,66	-0,69	-0,67	0,04	-0,45	1,00	-0,49	-0,41	-0,64	-0,54	0,17	-0,37	-0,12	0,00	-0,12
Ste	0,45	-0,15	0,96	-0,44	1,00	0,81	0,91	0,76	0,42	0,63	-0,46	0,62	0,53	0,89	0,82	0,48	0,77	0,32	-0,39	-0,03
Ole	0,41	-0,37	0,73	-0,66	0,81	1,00	0,87	0,63	0,11	0,74	-0,68	0,60	0,48	0,86	0,72	0,14	0,68	0,18	-0,36	-0,23
Vac	0,43	-0,41	0,91	-0,69	0,91	0,87	1,00	0,86	0,41	0,63	-0,70	0,59	0,52	0,88	0,86	0,37	0,77	0,35	-0,38	0,11
Lin	0,15	-0,48	0,81	-0,67	0,76	0,63	0,86	1,00	0,62	0,32	-0,67	0,57	0,40	0,60	0,80	0,40	0,56	0,28	-0,20	0,37
Ara	0,06	0,12	0,54	0,04	0,42	0,11	0,41	0,62	1,00	-0,18	0,04	0,18	-0,12	0,05	0,43	0,43	0,24	-0,13	-0,20	0,46
Glin	0,63	-0,14	0,58	-0,45	0,63	0,74	0,63	0,32	-0,18	1,00	-0,47	0,64	0,40	0,78	0,68	0,32	0,77	0,34	-0,58	-0,22
Line	-0,03	0,89	-0,44	1,00	-0,46	-0,68	-0,70	-0,67	0,04	-0,47	1,00	-0,49	-0,43	-0,67	-0,55	0,17	-0,38	-0,13	-0,01	-0,09
Eik3	0,37	-0,30	0,68	-0,49	0,62	0,60	0,59	0,57	0,18	0,64	-0,49	1,00	-0,05	0,64	0,84	0,22	0,75	0,02	-0,50	0,01
Beh	0,18	-0,29	0,37	-0,41	0,53	0,48	0,52	0,40	-0,12	0,40	-0,43	-0,05	1,00	0,54	0,18	0,19	0,17	0,55	0,18	-0,28
Arch	0,48	-0,39	0,83	-0,64	0,89	0,86	0,88	0,60	0,05	0,78	-0,67	0,64	0,54	1,00	0,77	0,24	0,77	0,32	-0,32	-0,14
Eik5	0,58	-0,23	0,90	-0,54	0,82	0,72	0,86	0,80	0,43	0,68	-0,55	0,84	0,18	0,77	1,00	0,49	0,92	0,29	-0,63	0,23
Lig	0,38	0,39	0,59	0,17	0,48	0,14	0,37	0,40	0,43	0,32	0,17	0,22	0,19	0,24	0,49	1,00	0,50	0,67	-0,44	0,46
Dok4	0,76	-0,02	0,83	-0,37	0,77	0,68	0,77	0,56	0,24	0,77	-0,38	0,75	0,17	0,77	0,92	0,50	1,00	0,40	-0,78	0,08
Dok5	0,35	0,04	0,35	-0,12	0,32	0,18	0,35	0,28	-0,13	0,34	-0,13	0,02	0,55	0,32	0,29	0,67	0,40	1,00	-0,22	0,22
Dok6	-0,61	-0,37	-0,44	0,00	-0,39	-0,36	-0,38	-0,20	-0,20	-0,58	-0,01	-0,50	0,18	-0,32	-0,63	-0,44	-0,78	-0,22	1,00	-0,17
HbA1c	-0,26	-0,07	0,16	-0,12	-0,03	-0,23	0,11	0,37	0,46	-0,22	-0,09	0,01	-0,28	-0,14	0,23	0,46	0,08	0,22	-0,17	1,00

Tab. 9. 7: Matice korelačních koeficientů ve frakci PL - skupina dostatečně kompenzovaných

	Myr	Penta	Pal	Palo	Ste	Ole	Vac	Lin	Ara	Glin	Line	Eik3	Beh	Arch	Eik5	Lig	Dok4	Dok5	Dok6	HbA1c
Myr	1,00	0,31	0,29	0,82	0,39	-0,54	0,92	0,20	0,35	0,09	0,49	-0,33	0,54	0,25	0,10	0,31	-0,27	-0,28	0,74	0,09
Penta	0,31	1,00	0,59	0,54	0,39	0,31	-0,02	0,20	0,65	-0,23	0,61	0,59	0,44	0,62	0,42	0,02	-0,46	-0,36	0,38	0,75
Pal	0,29	0,59	1,00	0,46	0,84	0,59	0,02	0,87	0,42	0,42	0,66	0,04	0,78	0,64	0,46	-0,02	0,31	0,35	0,00	0,54
Palo	0,82	0,54	0,46	1,00	0,39	-0,16	0,63	0,24	0,80	0,09	0,62	-0,16	0,73	0,34	0,17	0,52	-0,28	-0,25	0,41	0,46
Ste	0,39	0,39	0,84	0,39	1,00	0,41	0,24	0,89	0,11	0,54	0,58	-0,07	0,47	0,74	0,01	-0,36	0,47	0,53	0,14	0,11
Ole	-0,54	0,31	0,59	-0,16	0,41	1,00	-0,75	0,51	0,20	0,33	0,32	0,25	0,23	0,39	0,17	-0,28	0,39	0,45	-0,68	0,42
Vac	0,92	-0,02	0,02	0,63	0,24	-0,75	1,00	0,09	0,09	0,07	0,17	-0,42	0,28	0,06	-0,09	0,27	-0,13	-0,16	0,74	-0,23
Lin	0,20	0,20	0,87	0,24	0,89	0,51	0,09	1,00	0,09	0,49	0,43	-0,16	0,58	0,44	0,18	-0,20	0,70	0,73	-0,07	0,22
Ara	0,35	0,65	0,42	0,80	0,11	0,20	0,09	0,09	1,00	-0,16	0,51	0,14	0,70	0,17	0,33	0,63	-0,34	-0,30	0,04	0,81
Glin	0,09	-0,23	0,42	0,09	0,54	0,33	0,07	0,49	-0,16	1,00	0,27	-0,52	0,30	0,47	0,04	-0,09	0,41	0,39	-0,38	-0,36
Line	0,49	0,61	0,66	0,62	0,58	0,32	0,17	0,43	0,51	0,27	1,00	-0,22	0,68	0,44	0,07	-0,08	-0,14	-0,08	0,11	0,53
Eik3	-0,33	0,59	0,04	-0,16	-0,07	0,25	-0,42	-0,16	0,14	-0,52	-0,22	1,00	-0,30	0,35	0,26	-0,18	-0,32	-0,24	0,19	0,34
Beh	0,54	0,44	0,78	0,73	0,47	0,23	0,28	0,58	0,70	0,30	0,68	-0,30	1,00	0,23	0,54	0,52	0,04	0,02	0,05	0,65
Arch	0,25	0,62	0,64	0,34	0,74	0,39	0,06	0,44	0,17	0,47	0,44	0,35	0,23	1,00	0,20	-0,29	-0,05	0,03	0,19	0,08
Eik5	0,10	0,42	0,46	0,17	0,01	0,17	-0,09	0,18	0,33	0,04	0,07	0,26	0,54	0,20	1,00	0,50	-0,27	-0,32	0,10	0,50
Lig	0,31	0,02	-0,02	0,52	-0,36	-0,28	0,27	-0,20	0,63	-0,09	-0,08	-0,18	0,52	-0,29	0,50	1,00	-0,32	-0,39	0,02	0,36
Dok4	-0,27	-0,46	0,31	-0,28	0,47	0,39	-0,13	0,70	-0,34	0,41	-0,14	-0,32	0,04	-0,05	-0,27	-0,32	1,00	0,99	-0,43	-0,25
Dok5	-0,28	-0,36	0,35	-0,25	0,53	0,45	-0,16	0,73	-0,30	0,39	-0,08	-0,24	0,02	0,03	-0,32	-0,39	0,99	1,00	-0,42	-0,21
Dok6	0,74	0,38	0,00	0,41	0,14	-0,68	0,74	-0,07	0,04	-0,38	0,11	0,19	0,05	0,19	0,10	0,02	-0,43	-0,42	1,00	0,00
HbA1c	0,09	0,75	0,54	0,46	0,11	0,42	-0,23	0,22	0,81	-0,36	0,53	0,34	0,65	0,08	0,50	0,36	-0,25	-0,21	0,00	1,00

Tab. 9. 8: Matice korelačních koeficientů ve frakci PL - skupina nedostatečně kompenzovaných

	Myr	Penta	Pal	Palo	Ste	Ole	Vac	Lin	Ara	Glin	Line	Eik3	Beh	Arch	Eik5	Lig	Dok4	Dok5	Dok6	HbA1c
Myr	1,00	0,38	0,69	0,81	0,34	0,21	0,29	0,13	-0,15	-0,23	-0,23	0,56	0,06	0,28	0,18	0,37	-0,00	0,02	0,11	0,04
Penta	0,38	1,00	0,20	0,46	-0,12	0,14	0,04	0,20	0,13	0,16	0,24	0,36	0,17	0,15	-0,07	-0,02	0,51	0,18	0,16	0,09
Pal	0,69	0,20	1,00	0,64	0,57	0,46	0,30	0,68	-0,15	-0,29	-0,29	0,59	0,42	0,73	0,38	0,47	0,26	0,16	0,32	-0,16
Palo	0,81	0,46	0,64	1,00	0,28	0,52	0,35	0,28	-0,23	-0,33	-0,07	0,41	-0,12	0,13	0,04	0,46	0,01	0,28	0,02	-0,04
Ste	0,34	-0,12	0,57	0,28	1,00	0,16	0,07	0,11	0,52	0,31	-0,22	0,15	0,08	0,19	0,43	0,63	0,22	0,22	0,63	-0,25
Ole	0,21	0,14	0,46	0,52	0,16	1,00	0,17	0,63	-0,35	-0,31	0,24	0,08	0,06	0,23	-0,09	0,35	0,28	0,56	0,26	0,14
Vac	0,29	0,04	0,30	0,35	0,07	0,17	1,00	0,39	-0,29	-0,29	-0,17	0,15	-0,09	0,09	0,07	0,46	-0,31	-0,28	-0,37	-0,15
Lin	0,13	0,20	0,68	0,28	0,11	0,63	0,39	1,00	-0,34	-0,31	0,01	0,33	0,59	0,76	0,12	0,26	0,33	0,22	0,17	-0,02
Ara	-0,15	0,13	-0,15	-0,23	0,52	-0,35	-0,29	-0,34	1,00	0,81	0,18	-0,22	-0,07	-0,24	-0,00	0,10	0,18	0,11	0,54	-0,04
Glin	-0,23	0,16	-0,29	-0,33	0,31	-0,31	-0,29	-0,31	0,81	1,00	0,14	-0,13	0,11	-0,15	0,06	0,08	0,33	-0,06	0,54	0,05
Line	-0,23	0,24	-0,29	-0,07	-0,22	0,24	-0,17	0,01	0,18	0,14	1,00	-0,38	-0,09	-0,29	-0,18	-0,05	0,14	0,66	0,26	0,45
Eik3	0,56	0,36	0,59	0,41	0,15	0,08	0,15	0,33	-0,22	-0,13	-0,38	1,00	0,26	0,55	0,20	0,13	0,27	-0,23	0,05	-0,22
Beh	0,06	0,17	0,42	-0,12	0,08	0,06	-0,09	0,59	-0,07	0,11	-0,09	0,26	1,00	0,84	0,33	0,12	0,48	0,00	0,45	0,22
Arch	0,28	0,15	0,73	0,13	0,19	0,23	0,09	0,76	-0,24	-0,15	-0,29	0,55	0,84	1,00	0,39	0,14	0,42	-0,11	0,29	-0,06
Eik5	0,18	-0,07	0,38	0,04	0,43	-0,09	0,07	0,12	-0,00	0,06	-0,18	0,20	0,33	0,39	1,00	0,39	0,44	0,01	0,36	-0,39
Lig	0,37	-0,02	0,47	0,46	0,63	0,35	0,46	0,26	0,10	0,08	-0,05	0,13	0,12	0,14	0,39	1,00	0,17	0,21	0,42	0,06
Dok4	-0,00	0,51	0,26	0,01	0,22	0,28	-0,31	0,33	0,18	0,33	0,14	0,27	0,48	0,42	0,44	0,17	1,00	0,33	0,68	-0,01
Dok5	0,02	0,18	0,16	0,28	0,22	0,56	-0,28	0,22	0,11	-0,06	0,66	-0,23	0,00	-0,11	0,01	0,21	0,33	1,00	0,49	0,33
Dok6	0,11	0,16	0,32	0,02	0,63	0,26	-0,37	0,17	0,54	0,54	0,26	0,05	0,45	0,29	0,36	0,42	0,68	0,49	1,00	0,12
HbA1c	0,04	0,09	-0,16	-0,04	-0,25	0,14	-0,15	-0,02	-0,04	0,05	0,45	-0,22	0,22	-0,06	-0,39	0,06	-0,01	0,33	0,12	1,00

Tab. 9. 9: Matice korelačních koeficientů ve frakci DG - skupina zdravých

	Myr	Penta	Pal	Palo	Ste	Ole	Vac	Lin	Ara	Glin	Line	Eik3	Beh	Arch	Eik5	Lig	Dok4	Dok5	Dok6	HbA1c
Myr	1,00	0,42	0,52	-0,27	0,52	0,71	0,28	0,43	-0,07	0,19	-0,22	0,51	-0,06	0,43	0,30	0,67	0,28	0,05	-0,01	0,01
Penta	0,42	1,00	-0,15	0,66	-0,09	0,01	0,04	-0,24	0,43	0,30	0,71	-0,02	-0,45	-0,20	-0,12	0,08	0,20	0,04	0,04	0,06
Pal	0,52	-0,15	1,00	-0,35	0,99	0,79	0,13	0,96	-0,08	0,17	-0,37	0,95	0,47	0,98	0,71	0,62	-0,14	-0,23	-0,00	-0,37
Palo	-0,27	0,66	-0,35	1,00	-0,30	-0,35	-0,16	-0,36	0,51	0,07	0,99	-0,24	-0,25	-0,32	-0,31	-0,44	-0,14	-0,21	-0,02	-0,10
Ste	0,52	-0,09	0,99	-0,30	1,00	0,77	0,17	0,93	-0,07	0,20	-0,31	0,93	0,43	0,96	0,67	0,56	-0,16	-0,23	-0,02	-0,46
Ole	0,71	0,01	0,79	-0,35	0,77	1,00	-0,18	0,72	-0,04	0,12	-0,36	0,78	0,26	0,78	0,47	0,58	0,18	0,01	-0,06	-0,22
Vac	0,28	0,04	0,13	-0,16	0,17	-0,18	1,00	0,12	-0,27	-0,13	-0,15	0,01	-0,09	0,01	0,05	0,02	-0,16	-0,17	-0,18	-0,22
Lin	0,43	-0,24	0,96	-0,36	0,93	0,72	0,12	1,00	-0,14	0,01	-0,37	0,88	0,51	0,94	0,81	0,68	-0,23	-0,31	-0,00	-0,27
Ara	-0,07	0,43	-0,08	0,51	-0,07	-0,04	-0,27	-0,14	1,00	-0,16	0,49	-0,07	0,20	-0,11	-0,21	-0,08	0,35	0,45	0,68	0,16
Glin	0,19	0,30	0,17	0,07	0,20	0,12	-0,13	0,01	-0,16	1,00	0,15	0,38	-0,24	0,25	0,03	0,09	-0,22	-0,31	-0,27	-0,11
Line	-0,22	0,71	-0,37	0,99	-0,31	-0,36	-0,15	-0,37	0,49	0,15	1,00	-0,24	-0,27	-0,33	-0,29	-0,37	-0,18	-0,26	-0,01	-0,02
Eik3	0,51	-0,02	0,95	-0,24	0,93	0,78	0,01	0,88	-0,07	0,38	-0,24	1,00	0,25	0,95	0,73	0,62	-0,09	-0,22	-0,11	-0,28
Beh	-0,06	-0,45	0,47	-0,25	0,43	0,26	-0,09	0,51	0,20	-0,24	-0,27	0,25	1,00	0,49	0,11	0,16	-0,21	-0,16	0,56	-0,33
Arch	0,43	-0,20	0,98	-0,32	0,96	0,78	0,01	0,94	-0,11	0,25	-0,33	0,95	0,49	1,00	0,69	0,56	-0,24	-0,32	-0,07	-0,37
Eik5	0,30	-0,12	0,71	-0,31	0,67	0,47	0,05	0,81	-0,21	0,03	-0,29	0,73	0,11	0,69	1,00	0,77	-0,20	-0,22	-0,12	0,10
Lig	0,67	0,08	0,62	-0,44	0,56	0,58	0,02	0,68	-0,08	0,09	-0,37	0,62	0,16	0,56	0,77	1,00	0,13	0,01	0,22	0,35
Dok4	0,28	0,20	-0,14	-0,14	-0,16	0,18	-0,16	-0,23	0,35	-0,22	-0,18	-0,09	-0,21	-0,24	-0,20	0,13	1,00	0,88	0,41	0,21
Dok5	0,05	0,04	-0,23	-0,21	-0,23	0,01	-0,17	-0,31	0,45	-0,31	-0,26	-0,22	-0,16	-0,32	-0,22	0,01	0,88	1,00	0,49	0,28
Dok6	-0,01	0,04	-0,00	-0,02	-0,02	-0,06	-0,18	-0,00	0,68	-0,27	-0,01	-0,11	0,56	-0,07	-0,12	0,22	0,41	0,49	1,00	0,19
HbA1c	0,01	0,06	-0,37	-0,10	-0,46	-0,22	-0,22	-0,27	0,16	-0,11	-0,02	-0,28	-0,33	-0,37	0,10	0,35	0,21	0,28	0,19	1,00

Tab. 9. 10: Matice korelačních koeficientů ve frakci DG - skupina dostatečně kompenzovaných

	Myr	Penta	Pal	Palo	Ste	Ole	Vac	Lin	Ara	Glin	Line	Eik3	Beh	Arch	Eik5	Lig	Dok4	Dok5	Dok6	HbA1c
Myr	1,00	0,72	0,88	0,94	0,51	0,26	0,83	0,93	0,30	0,71	0,86	0,77	0,85	0,82	0,80	0,07	-0,15	-0,29	0,51	-0,13
Penta	0,72	1,00	0,80	0,55	0,79	0,36	0,34	0,52	0,69	0,40	0,60	0,56	0,55	0,36	0,41	0,30	-0,02	-0,22	0,34	0,26
Pal	0,88	0,80	1,00	0,70	0,80	0,23	0,57	0,78	0,63	0,60	0,84	0,64	0,78	0,70	0,64	0,18	-0,35	-0,25	0,60	-0,08
Palo	0,94	0,55	0,70	1,00	0,23	0,36	0,84	0,92	0,01	0,78	0,86	0,71	0,84	0,79	0,76	-0,03	0,03	-0,24	0,37	-0,22
Ste	0,51	0,79	0,80	0,23	1,00	0,14	0,14	0,32	0,95	0,06	0,39	0,36	0,30	0,23	0,24	0,29	-0,35	-0,35	0,46	0,22
Ole	0,26	0,36	0,23	0,36	0,14	1,00	-0,17	0,18	0,18	0,32	0,47	-0,02	0,20	-0,07	-0,26	-0,03	0,39	0,11	0,01	-0,25
Vac	0,83	0,34	0,57	0,84	0,14	-0,17	1,00	0,86	-0,12	0,57	0,56	0,73	0,69	0,88	0,94	-0,11	-0,21	-0,32	0,37	-0,19
Lin	0,93	0,52	0,78	0,92	0,32	0,18	0,86	1,00	0,06	0,77	0,83	0,86	0,79	0,95	0,88	0,13	-0,22	-0,30	0,67	-0,32
Ara	0,30	0,69	0,63	0,01	0,95	0,18	-0,12	0,06	1,00	-0,12	0,24	0,13	0,13	-0,05	-0,05	0,27	-0,23	-0,24	0,30	0,35
Glin	0,71	0,40	0,60	0,78	0,06	0,32	0,57	0,77	-0,12	1,00	0,89	0,53	0,91	0,72	0,59	0,13	-0,15	0,11	0,39	-0,34
Line	0,86	0,60	0,84	0,86	0,39	0,47	0,56	0,83	0,24	0,89	1,00	0,58	0,92	0,71	0,57	0,09	-0,10	-0,03	0,48	-0,24
Eik3	0,77	0,56	0,64	0,71	0,36	-0,02	0,73	0,86	0,13	0,53	0,58	1,00	0,54	0,81	0,83	0,47	-0,11	-0,44	0,76	0,06
Beh	0,85	0,55	0,78	0,84	0,30	0,20	0,69	0,79	0,13	0,91	0,92	0,54	1,00	0,74	0,68	-0,02	-0,18	0,07	0,32	-0,16
Arch	0,82	0,36	0,70	0,79	0,23	-0,07	0,88	0,95	-0,05	0,72	0,71	0,81	0,74	1,00	0,93	0,06	-0,38	-0,23	0,66	-0,40
Eik5	0,80	0,41	0,64	0,76	0,24	-0,26	0,94	0,88	-0,05	0,59	0,57	0,83	0,68	0,93	1,00	0,08	-0,30	-0,36	0,52	-0,15
Lig	0,07	0,30	0,18	-0,03	0,29	-0,03	-0,11	0,13	0,27	0,13	0,09	0,47	-0,02	0,06	0,08	1,00	-0,22	-0,48	0,61	0,34
Dok4	-0,15	-0,02	-0,35	0,03	-0,35	0,39	-0,21	-0,22	-0,23	-0,15	-0,10	-0,11	-0,18	-0,38	-0,30	-0,22	1,00	0,20	-0,52	0,44
Dok5	-0,29	-0,22	-0,25	-0,24	-0,35	0,11	-0,32	-0,30	-0,24	0,11	-0,03	-0,44	0,07	-0,23	-0,36	-0,48	0,20	1,00	-0,39	-0,16
Dok6	0,51	0,34	0,60	0,37	0,46	0,01	0,37	0,67	0,30	0,39	0,48	0,76	0,32	0,66	0,52	0,61	-0,52	-0,39	1,00	-0,22
HbA1c	-0,13	0,26	-0,08	-0,22	0,22	-0,25	-0,19	-0,32	0,35	-0,34	-0,24	0,06	-0,16	-0,40	-0,15	0,34	0,44	-0,16	-0,22	1,00

Tab. 9. 11: Matice korelačních koeficientů ve frakci DG - skupina nedostatečně kompenzovaných

	Myr	Penta	Pal	Palo	Ste	Ole	Vac	Lin	Ara	Glin	Line	Eik3	Beh	Arch	Eik5	Lig	Dok4	Dok5	Dok6	HbA1c
Myr	1,00	0,04	0,66	0,61	0,54	0,44	0,24	0,42	0,65	0,45	0,16	0,49	0,24	-0,18	0,17	0,25	0,28	-0,25	0,02	-0,19
Penta	0,04	1,00	-0,17	0,03	-0,35	0,03	-0,16	0,15	-0,12	-0,13	-0,16	-0,05	-0,15	-0,13	-0,17	-0,19	-0,23	0,00	-0,17	-0,08
Pal	0,66	-0,17	1,00	0,69	0,78	0,80	0,74	0,82	0,30	-0,06	0,63	0,50	0,10	0,04	0,28	0,66	0,20	-0,01	0,13	0,02
Palo	0,61	0,03	0,69	1,00	0,41	0,68	0,34	0,47	0,46	0,01	0,50	0,77	0,19	0,17	0,38	0,24	0,30	0,18	0,25	-0,17
Ste	0,54	-0,35	0,78	0,41	1,00	0,44	0,39	0,42	0,19	0,08	0,33	0,37	0,12	-0,12	0,35	0,61	0,34	-0,08	0,19	0,08
Ole	0,44	0,03	0,80	0,68	0,44	1,00	0,64	0,84	0,07	-0,05	0,63	0,38	-0,07	0,14	0,04	0,47	-0,05	0,33	0,16	0,01
Vac	0,24	-0,16	0,74	0,34	0,39	0,64	1,00	0,85	0,16	-0,28	0,60	0,14	0,04	0,07	-0,03	0,82	0,08	-0,04	0,23	-0,15
Lin	0,42	0,15	0,82	0,47	0,42	0,84	0,85	1,00	0,14	-0,15	0,63	0,24	-0,03	-0,01	0,03	0,68	-0,01	0,04	0,15	-0,14
Ara	0,65	-0,12	0,30	0,46	0,19	0,07	0,16	0,14	1,00	0,65	0,08	0,49	0,40	-0,19	0,09	0,13	0,62	-0,31	0,35	-0,38
Glin	0,45	-0,13	-0,06	0,01	0,08	-0,05	-0,28	-0,15	0,65	1,00	-0,21	0,17	0,23	-0,28	-0,09	-0,10	0,33	-0,04	0,24	-0,15
Line	0,16	-0,16	0,63	0,50	0,33	0,63	0,60	0,63	0,08	-0,21	1,00	0,66	0,47	0,39	0,55	0,52	0,16	0,18	0,38	0,03
Eik3	0,49	-0,05	0,50	0,77	0,37	0,38	0,14	0,24	0,49	0,17	0,66	1,00	0,66	0,30	0,76	0,24	0,48	0,11	0,31	-0,07
Beh	0,24	-0,15	0,10	0,19	0,12	-0,07	0,04	-0,03	0,40	0,23	0,47	0,66	1,00	0,44	0,54	0,26	0,54	-0,14	0,30	-0,24
Arch	-0,18	-0,13	0,04	0,17	-0,12	0,14	0,07	-0,01	-0,19	-0,28	0,39	0,30	0,44	1,00	0,19	0,07	-0,15	0,28	-0,07	0,01
Eik5	0,17	-0,17	0,28	0,38	0,35	0,04	-0,03	0,03	0,09	-0,09	0,55	0,76	0,54	0,19	1,00	0,18	0,30	0,01	0,24	0,09
Lig	0,25	-0,19	0,66	0,24	0,61	0,47	0,82	0,68	0,13	-0,10	0,52	0,24	0,26	0,07	0,18	1,00	0,23	0,03	0,39	-0,26
Dok4	0,28	-0,23	0,20	0,30	0,34	-0,05	0,08	-0,01	0,62	0,33	0,16	0,48	0,54	-0,15	0,30	0,23	1,00	-0,11	0,37	-0,37
Dok5	-0,25	0,00	-0,01	0,18	-0,08	0,33	-0,04	0,04	-0,31	-0,04	0,18	0,11	-0,14	0,28	0,01	0,03	-0,11	1,00	0,27	0,04
Dok6	0,02	-0,17	0,13	0,25	0,19	0,16	0,23	0,15	0,35	0,24	0,38	0,31	0,30	-0,07	0,24	0,39	0,37	0,27	1,00	-0,33
HbA1c	-0,19	-0,08	0,02	-0,17	0,08	0,01	-0,15	-0,14	-0,38	-0,15	0,03	-0,07	-0,24	0,01	0,09	-0,26	-0,37	0,04	-0,33	1,00

Tab. 9. 12: Matice korelačních koeficientů ve frakci VMK - skupina zdravých

	Myr	Penta	Pal	Palo	Ste	Ole	Vac	Lin	Ara	Glin	Line	Eik3	Beh	Arch	Eik5	Lig	Dok4	Dok5	Dok6	HbA1c
Myr	1,00	0,30	0,15	-0,06	0,60	-0,46	0,84	0,24	-0,09	0,77	-0,05	0,33	0,78	-0,23	0,11	0,51	-0,16	0,11	-0,23	-0,65
Penta	0,30	1,00	0,46	0,55	0,61	-0,37	0,40	0,09	0,55	0,47	0,27	0,50	0,40	0,06	0,46	0,39	0,21	0,12	0,32	-0,05
Pal	0,15	0,46	1,00	0,03	0,62	0,18	0,25	0,59	0,05	0,19	0,71	0,44	0,25	0,45	-0,13	0,33	0,20	0,22	-0,10	-0,16
Palo	-0,06	0,55	0,03	1,00	0,04	-0,14	-0,08	-0,53	0,99	0,17	-0,15	-0,10	-0,01	-0,42	0,92	-0,06	-0,32	0,21	0,94	0,31
Ste	0,60	0,61	0,62	0,04	1,00	-0,38	0,66	0,28	0,05	0,78	0,14	0,87	0,47	0,29	0,01	0,88	0,40	0,04	-0,12	-0,48
Ole	-0,46	-0,37	0,18	-0,14	-0,38	1,00	-0,68	0,11	-0,07	-0,46	0,27	-0,26	-0,62	0,17	-0,24	-0,34	0,05	0,08	-0,13	0,02
Vac	0,84	0,40	0,25	-0,08	0,66	-0,68	1,00	0,42	-0,12	0,73	0,12	0,38	0,94	0,02	0,09	0,46	-0,15	-0,12	-0,26	-0,48
Lin	0,24	0,09	0,59	-0,53	0,28	0,11	0,42	1,00	-0,54	0,10	0,75	0,23	0,45	0,52	-0,50	0,11	0,15	-0,07	-0,68	-0,26
Ara	-0,09	0,55	0,05	0,99	0,05	-0,07	-0,12	-0,54	1,00	0,18	-0,14	-0,07	-0,06	-0,43	0,91	-0,04	-0,31	0,16	0,91	0,24
Glin	0,77	0,47	0,19	0,17	0,78	-0,46	0,73	0,10	0,18	1,00	-0,18	0,68	0,53	-0,19	0,34	0,81	0,08	-0,00	-0,04	-0,61
Line	-0,05	0,27	0,71	-0,15	0,14	0,27	0,12	0,75	-0,14	-0,18	1,00	0,04	0,30	0,34	-0,26	-0,14	-0,03	-0,01	-0,25	-0,13
Eik3	0,33	0,50	0,44	-0,10	0,87	-0,26	0,38	0,23	-0,07	0,68	0,04	1,00	0,12	0,38	-0,15	0,95	0,72	-0,10	-0,23	-0,45
Beh	0,78	0,40	0,25	-0,01	0,47	-0,62	0,94	0,45	-0,06	0,53	0,30	0,12	1,00	-0,08	0,14	0,19	-0,36	-0,07	-0,17	-0,39
Arch	-0,23	0,06	0,45	-0,42	0,29	0,17	0,02	0,52	-0,43	-0,19	0,34	0,38	-0,08	1,00	-0,62	0,15	0,65	-0,27	-0,44	0,16
Eik5	0,11	0,46	-0,13	0,92	0,01	-0,24	0,09	-0,50	0,91	0,34	-0,26	-0,15	0,14	-0,62	1,00	-0,05	-0,50	0,24	0,82	0,18
Lig	0,51	0,39	0,33	-0,06	0,88	-0,34	0,46	0,11	-0,04	0,81	-0,14	0,95	0,19	0,15	-0,05	1,00	0,57	0,01	-0,18	-0,52
Dok4	-0,16	0,21	0,20	-0,32	0,40	0,05	-0,15	0,15	-0,31	0,08	-0,03	0,72	-0,36	0,65	-0,50	0,57	1,00	-0,07	-0,35	0,00
Dok5	0,11	0,12	0,22	0,21	0,04	0,08	-0,12	-0,07	0,16	-0,00	-0,01	-0,10	-0,07	-0,27	0,24	0,01	-0,07	1,00	0,21	0,34
Dok6	-0,23	0,32	-0,10	0,94	-0,12	-0,13	-0,26	-0,68	0,91	-0,04	-0,25	-0,23	-0,17	-0,44	0,82	-0,18	-0,35	0,21	1,00	0,44
HbA1c	-0,65	-0,05	-0,16	0,31	-0,48	0,02	-0,48	-0,26	0,24	-0,61	-0,13	-0,45	-0,39	0,16	0,18	-0,52	0,00	0,34	0,44	1,00

Tab. 9. 13: Matice korelačních koeficientů ve frakci VMK - skupina dostatečně kompenzovaných

	Myr	Penta	Pal	Palo	Ste	Ole	Vac	Lin	Ara	Glin	Line	Eik3	Beh	Arch	Eik5	Lig	Dok4	Dok5	Dok6	HbA1c
Myr	1,00	0,89	0,77	0,77	0,09	0,34	0,37	0,70	0,81	0,44	0,85	0,70	0,36	0,53	0,35	0,80	0,85	0,16	-0,16	0,73
Penta	0,89	1,00	0,70	0,59	0,16	0,38	0,06	0,55	0,78	0,43	0,81	0,40	0,10	0,17	0,10	0,84	0,72	0,08	-0,18	0,67
Pal	0,77	0,70	1,00	0,82	0,18	0,80	-0,02	0,88	0,87	0,08	0,90	0,62	-0,10	0,52	-0,09	0,68	0,83	-0,36	-0,56	0,82
Palo	0,77	0,59	0,82	1,00	-0,13	0,61	0,21	0,64	0,75	0,08	0,70	0,75	0,18	0,61	0,13	0,70	0,72	-0,23	-0,22	0,65
Ste	0,09	0,16	0,18	-0,13	1,00	-0,10	0,22	0,09	-0,06	0,60	-0,01	-0,07	0,15	0,11	0,19	-0,04	0,03	0,43	-0,54	-0,18
Ole	0,34	0,38	0,80	0,61	-0,10	1,00	-0,55	0,68	0,64	-0,46	0,70	0,29	-0,61	0,16	-0,62	0,45	0,55	-0,82	-0,60	0,73
Vac	0,37	0,06	-0,02	0,21	0,22	-0,55	1,00	0,03	0,05	0,71	-0,06	0,51	0,97	0,62	0,98	0,04	0,15	0,75	0,34	-0,19
Lin	0,70	0,55	0,88	0,64	0,09	0,68	0,03	1,00	0,80	-0,05	0,91	0,64	-0,06	0,48	-0,02	0,40	0,87	-0,33	-0,58	0,80
Ara	0,81	0,78	0,87	0,75	-0,06	0,64	0,05	0,80	1,00	0,18	0,92	0,53	-0,01	0,34	0,04	0,70	0,74	-0,32	-0,26	0,77
Glin	0,44	0,43	0,08	0,08	0,60	-0,46	0,71	-0,05	0,18	1,00	0,04	0,13	0,68	0,25	0,73	0,30	0,06	0,77	0,14	-0,16
Line	0,85	0,81	0,90	0,70	-0,01	0,70	-0,06	0,91	0,92	0,04	1,00	0,54	-0,11	0,33	-0,09	0,67	0,87	-0,31	-0,44	0,89
Eik3	0,70	0,40	0,62	0,75	-0,07	0,29	0,51	0,64	0,53	0,13	0,54	1,00	0,54	0,86	0,47	0,47	0,83	0,10	0,01	0,56
Beh	0,36	0,10	-0,10	0,18	0,15	-0,61	0,97	-0,06	-0,01	0,68	-0,11	0,54	1,00	0,57	0,98	0,08	0,17	0,81	0,47	-0,20
Arch	0,53	0,17	0,52	0,61	0,11	0,16	0,62	0,48	0,34	0,25	0,33	0,86	0,57	1,00	0,54	0,40	0,59	0,19	0,01	0,44
Eik5	0,35	0,10	-0,09	0,13	0,19	-0,62	0,98	-0,02	0,04	0,73	-0,09	0,47	0,98	0,54	1,00	0,04	0,13	0,80	0,43	-0,21
Lig	0,80	0,84	0,68	0,70	-0,04	0,45	0,04	0,40	0,70	0,30	0,67	0,47	0,08	0,40	0,04	1,00	0,64	-0,04	0,02	0,75
Dok4	0,85	0,72	0,83	0,72	0,03	0,55	0,15	0,87	0,74	0,06	0,87	0,83	0,17	0,59	0,13	0,64	1,00	-0,08	-0,30	0,84
Dok5	0,16	0,08	-0,36	-0,23	0,43	-0,82	0,75	-0,33	-0,32	0,77	-0,31	0,10	0,81	0,19	0,80	-0,04	-0,08	1,00	0,37	-0,40
Dok6	-0,16	-0,18	-0,56	-0,22	-0,54	-0,60	0,34	-0,58	-0,26	0,14	-0,44	0,01	0,47	0,01	0,43	0,02	-0,30	0,37	1,00	-0,29
HbA1c	0,73	0,67	0,82	0,65	-0,18	0,73	-0,19	0,80	0,77	-0,16	0,89	0,56	-0,20	0,44	-0,21	0,75	0,84	-0,40	-0,29	1,00

Tab. 9. 14: Matice korelačních koeficientů ve frakci VMK - skupina nedostatečně kompenzovaných

	Myr	Penta	Pal	Palo	Ste	Ole	Vac	Lin	Ara	Glin	Line	Eik3	Beh	Arch	Eik5	Lig	Dok4	Dok5	Dok6	HbA1c
Myr	1,00	0,60	0,57	0,61	0,58	0,57	0,26	0,53	0,38	0,62	0,15	0,34	0,56	0,41	-0,26	0,17	0,21	0,11	-0,32	0,51
Penta	0,60	1,00	0,36	0,52	0,46	0,66	-0,18	0,33	0,08	0,12	0,33	0,03	0,09	-0,17	-0,09	-0,22	0,04	-0,18	-0,12	0,43
Pal	0,57	0,36	1,00	0,87	0,87	0,86	0,73	0,67	0,40	0,42	0,51	0,23	0,48	0,39	0,04	0,51	0,64	0,55	-0,46	0,33
Palo	0,61	0,52	0,87	1,00	0,77	0,84	0,43	0,51	0,42	0,29	0,40	0,22	0,28	0,18	-0,14	0,33	0,55	0,48	-0,23	0,39
Ste	0,58	0,46	0,87	0,77	1,00	0,76	0,60	0,58	0,36	0,44	0,51	0,30	0,54	0,33	0,08	0,48	0,67	0,30	-0,33	0,29
Ole	0,57	0,66	0,86	0,84	0,76	1,00	0,43	0,72	0,18	0,22	0,60	0,20	0,25	0,12	0,02	0,20	0,39	0,28	-0,39	0,30
Vac	0,26	-0,18	0,73	0,43	0,60	0,43	1,00	0,70	0,40	0,53	0,31	0,23	0,52	0,75	0,08	0,85	0,79	0,76	-0,38	0,20
Lin	0,53	0,33	0,67	0,51	0,58	0,72	0,70	1,00	0,31	0,35	0,45	0,26	0,34	0,53	0,04	0,53	0,54	0,50	-0,25	0,31
Ara	0,38	0,08	0,40	0,42	0,36	0,18	0,40	0,31	1,00	0,22	0,44	0,53	0,37	0,37	-0,05	0,49	0,52	0,46	0,10	0,28
Glin	0,62	0,12	0,42	0,29	0,44	0,22	0,53	0,35	0,22	1,00	-0,03	0,15	0,64	0,71	-0,34	0,57	0,47	0,37	-0,49	0,51
Line	0,15	0,33	0,51	0,40	0,51	0,60	0,31	0,45	0,44	-0,03	1,00	0,56	0,38	-0,06	0,11	0,26	0,34	0,07	-0,18	-0,22
Eik3	0,34	0,03	0,23	0,22	0,30	0,20	0,23	0,26	0,53	0,15	0,56	1,00	0,44	0,23	-0,03	0,24	0,11	0,03	-0,07	-0,28
Beh	0,56	0,09	0,48	0,28	0,54	0,25	0,52	0,34	0,37	0,64	0,38	0,44	1,00	0,45	-0,23	0,56	0,48	0,19	-0,38	-0,06
Arch	0,41	-0,17	0,39	0,18	0,33	0,12	0,75	0,53	0,37	0,71	-0,06	0,23	0,45	1,00	-0,08	0,60	0,51	0,53	-0,33	0,34
Eik5	-0,26	-0,09	0,04	-0,14	0,08	0,02	0,08	0,04	-0,05	-0,34	0,11	-0,03	-0,23	-0,08	1,00	-0,06	-0,12	-0,04	0,47	-0,19
Lig	0,17	-0,22	0,51	0,33	0,48	0,20	0,85	0,53	0,49	0,57	0,26	0,24	0,56	0,60	-0,06	1,00	0,88	0,82	-0,11	0,19
Dok4	0,21	0,04	0,64	0,55	0,67	0,39	0,79	0,54	0,52	0,47	0,34	0,11	0,48	0,51	-0,12	0,88	1,00	0,75	-0,15	0,27
Dok5	0,11	-0,18	0,55	0,48	0,30	0,28	0,76	0,50	0,46	0,37	0,07	0,03	0,19	0,53	-0,04	0,82	0,75	1,00	-0,06	0,38
Dok6	-0,32	-0,12	-0,46	-0,23	-0,33	-0,39	-0,38	-0,25	0,10	-0,49	-0,18	-0,07	-0,38	-0,33	0,47	-0,11	-0,15	-0,06	1,00	-0,22
HbA1c	0,51	0,43	0,33	0,39	0,29	0,30	0,20	0,31	0,28	0,51	-0,22	-0,28	-0,06	0,34	-0,19	0,19	0,27	0,38	-0,22	1,00

Tab. 9. 15: Matice korelačních koeficientů ve frakci TG - skupina zdravých

	Myr	Penta	Pal	Palo	Ste	Ole	Vac	Lin	Ara	Glin	Line	Eik3	Beh	Arch	Eik5	Lig	Dok4	Dok5	Dok6	HbA1c
Myr	1,00	-0,03	0,91	-0,20	0,88	0,05	0,86	0,52	0,50	-0,23	0,61	0,88	0,12	0,80	0,01	0,81	0,47	-0,02	-0,11	-0,51
Penta	-0,03	1,00	-0,07	0,80	-0,03	-0,53	0,20	-0,12	0,59	0,85	-0,06	0,14	-0,31	-0,11	0,82	0,04	-0,13	0,05	-0,09	-0,15
Pal	0,91	-0,07	1,00	-0,27	0,96	0,20	0,77	0,75	0,39	-0,26	0,76	0,94	0,05	0,94	-0,16	0,76	0,70	0,29	-0,07	-0,24
Palo	-0,20	0,80	-0,27	1,00	-0,16	-0,45	-0,06	-0,33	0,66	0,89	-0,34	-0,19	-0,25	-0,35	0,76	-0,12	-0,44	-0,12	0,06	-0,06
Ste	0,88	-0,03	0,96	-0,16	1,00	0,13	0,79	0,72	0,41	-0,16	0,65	0,88	0,08	0,94	-0,07	0,75	0,69	0,31	-0,15	-0,21
Ole	0,05	-0,53	0,20	-0,45	0,13	1,00	-0,41	0,53	-0,20	-0,49	0,52	0,04	0,10	0,24	-0,58	-0,30	0,48	0,46	0,05	0,11
Vac	0,86	0,20	0,77	-0,06	0,79	-0,41	1,00	0,32	0,45	-0,01	0,38	0,83	0,05	0,70	0,22	0,89	0,32	-0,11	-0,16	-0,45
Lin	0,52	-0,12	0,75	-0,33	0,72	0,53	0,32	1,00	0,09	-0,21	0,85	0,62	-0,04	0,82	-0,22	0,26	0,87	0,80	-0,03	0,11
Ara	0,50	0,59	0,39	0,66	0,41	-0,20	0,45	0,09	1,00	0,56	0,19	0,40	-0,13	0,26	0,53	0,47	-0,11	-0,13	-0,03	-0,51
Glin	-0,23	0,85	-0,26	0,89	-0,16	-0,49	-0,01	-0,21	0,56	1,00	-0,27	-0,15	-0,34	-0,27	0,70	-0,11	-0,33	0,06	0,11	0,05
Line	0,61	-0,06	0,76	-0,34	0,65	0,52	0,38	0,85	0,19	-0,27	1,00	0,73	0,08	0,72	-0,17	0,35	0,82	0,49	-0,01	-0,13
Eik3	0,88	0,14	0,94	-0,19	0,88	0,04	0,83	0,62	0,40	-0,15	0,73	1,00	0,01	0,87	-0,02	0,77	0,67	0,18	-0,12	-0,34
Beh	0,12	-0,31	0,05	-0,25	0,08	0,10	0,05	-0,04	-0,13	-0,34	0,08	0,01	1,00	0,07	-0,11	-0,00	0,18	-0,25	0,17	-0,02
Arch	0,80	-0,11	0,94	-0,35	0,94	0,24	0,70	0,82	0,26	-0,27	0,72	0,87	0,07	1,00	-0,23	0,71	0,80	0,46	-0,22	-0,13
Eik5	0,01	0,82	-0,16	0,76	-0,07	-0,58	0,22	-0,22	0,53	0,70	-0,17	-0,02	-0,11	-0,23	1,00	0,05	-0,27	-0,13	-0,18	-0,20
Lig	0,81	0,04	0,76	-0,12	0,75	-0,30	0,89	0,26	0,47	-0,11	0,35	0,77	-0,00	0,71	0,05	1,00	0,27	-0,19	-0,30	-0,41
Dok4	0,47	-0,13	0,70	-0,44	0,69	0,48	0,32	0,87	-0,11	-0,33	0,82	0,67	0,18	0,80	-0,27	0,27	1,00	0,68	-0,15	0,22
Dok5	-0,02	0,05	0,29	-0,12	0,31	0,46	-0,11	0,80	-0,13	0,06	0,49	0,18	-0,25	0,46	-0,13	-0,19	0,68	1,00	-0,04	0,48
Dok6	-0,11	-0,09	-0,07	0,06	-0,15	0,05	-0,16	-0,03	-0,03	0,11	-0,01	-0,12	0,17	-0,22	-0,18	-0,30	-0,15	-0,04	1,00	0,26
HbA1c	-0,51	-0,15	-0,24	-0,06	-0,21	0,11	-0,45	0,11	-0,51	0,05	-0,13	-0,34	-0,02	-0,13	-0,20	-0,41	0,22	0,48	0,26	1,00

Tab. 9. 16: Matice korelačních koeficientů ve frakci TG - skupina dostatečně kompenzovaných

	Myr	Penta	Pal	Palo	Ste	Ole	Vac	Lin	Ara	Glin	Line	Eik3	Beh	Arch	Eik5	Lig	Dok4	Dok5	Dok6	HbA1c
Myr	1,00	0,91	0,84	0,88	0,60	0,37	0,33	0,53	0,73	0,66	0,74	0,49	-0,14	0,56	0,43	0,73	0,73	0,07	0,08	0,76
Penta	0,91	1,00	0,74	0,81	0,27	0,54	-0,04	0,44	0,74	0,31	0,70	0,36	-0,20	0,44	0,09	0,64	0,67	0,20	-0,29	0,94
Pal	0,84	0,74	1,00	0,87	0,74	0,63	0,29	0,89	0,82	0,67	0,94	0,65	-0,31	0,78	0,42	0,83	0,84	0,37	0,03	0,59
Palo	0,88	0,81	0,87	1,00	0,54	0,51	0,26	0,63	0,88	0,55	0,73	0,61	-0,38	0,75	0,42	0,79	0,80	0,13	0,01	0,75
Ste	0,60	0,27	0,74	0,54	1,00	0,20	0,65	0,73	0,36	0,92	0,63	0,44	-0,09	0,49	0,70	0,46	0,45	-0,04	0,56	0,02
Ole	0,37	0,54	0,63	0,51	0,20	1,00	-0,53	0,70	0,48	-0,08	0,70	0,11	-0,27	0,36	-0,34	0,39	0,38	0,33	-0,55	0,51
Vac	0,33	-0,04	0,29	0,26	0,65	-0,53	1,00	0,18	0,22	0,86	0,14	0,55	-0,04	0,40	0,93	0,33	0,35	-0,05	0,82	-0,19
Lin	0,53	0,44	0,89	0,63	0,73	0,70	0,18	1,00	0,66	0,55	0,90	0,54	-0,31	0,68	0,36	0,60	0,67	0,43	0,06	0,28
Ara	0,73	0,74	0,82	0,88	0,36	0,48	0,22	0,66	1,00	0,42	0,78	0,77	-0,40	0,88	0,43	0,84	0,93	0,46	-0,03	0,70
Glin	0,66	0,31	0,67	0,55	0,92	-0,08	0,86	0,55	0,42	1,00	0,55	0,59	-0,10	0,53	0,87	0,52	0,53	0,00	0,67	0,07
Line	0,74	0,70	0,94	0,73	0,63	0,70	0,14	0,90	0,78	0,55	1,00	0,62	-0,23	0,75	0,31	0,78	0,82	0,52	-0,05	0,52
Eik3	0,49	0,36	0,65	0,61	0,44	0,11	0,55	0,54	0,77	0,59	0,62	1,00	-0,57	0,92	0,62	0,84	0,83	0,67	0,17	0,30
Beh	-0,14	-0,20	-0,31	-0,38	-0,09	-0,27	-0,04	-0,31	-0,40	-0,10	-0,23	-0,57	1,00	-0,47	-0,13	-0,30	-0,23	-0,44	0,24	-0,25
Arch	0,56	0,44	0,78	0,75	0,49	0,36	0,40	0,68	0,88	0,53	0,75	0,92	-0,47	1,00	0,54	0,90	0,90	0,57	0,13	0,37
Eik5	0,43	0,09	0,42	0,42	0,70	-0,34	0,93	0,36	0,43	0,87	0,31	0,62	-0,13	0,54	1,00	0,37	0,47	-0,04	0,85	-0,10
Lig	0,73	0,64	0,83	0,79	0,46	0,39	0,33	0,60	0,84	0,52	0,78	0,84	-0,30	0,90	0,37	1,00	0,95	0,58	-0,06	0,61
Dok4	0,73	0,67	0,84	0,80	0,45	0,38	0,35	0,67	0,93	0,53	0,82	0,83	-0,23	0,90	0,47	0,95	1,00	0,56	0,02	0,61
Dok5	0,07	0,20	0,37	0,13	-0,04	0,33	-0,05	0,43	0,46	0,00	0,52	0,67	-0,44	0,57	-0,04	0,58	0,56	1,00	-0,41	0,23
Dok6	0,08	-0,29	0,03	0,01	0,56	-0,55	0,82	0,06	-0,03	0,67	-0,05	0,17	0,24	0,13	0,85	-0,06	0,02	-0,41	1,00	-0,50
HbA1c	0,76	0,94	0,59	0,75	0,02	0,51	-0,19	0,28	0,70	0,07	0,52	0,30	-0,25	0,37	-0,10	0,61	0,61	0,23	-0,50	1,00

Tab. 9. 17: Matice korelačních koeficientů ve frakci TG - skupina nedostatečně kompenzovaných

	Myr	Penta	Pal	Palo	Ste	Ole	Vac	Lin	Ara	Glin	Line	Eik3	Beh	Arch	Eik5	Lig	Dok4	Dok5	Dok6	HbA1c
Myr	1,00	0,91	0,37	0,54	0,91	-0,10	-0,14	-0,30	0,06	0,10	-0,37	0,17	0,21	-0,30	-0,15	0,16	-0,29	0,05	-0,34	0,18
Penta	0,91	1,00	0,41	0,44	0,94	-0,24	-0,13	-0,30	-0,09	0,00	-0,43	0,01	0,08	-0,28	0,12	0,13	-0,32	0,25	-0,22	0,23
Pal	0,37	0,41	1,00	0,07	0,60	0,46	0,54	0,55	-0,26	0,03	0,05	0,51	0,15	0,61	0,19	0,55	0,19	0,36	0,19	0,27
Palo	0,54	0,44	0,07	1,00	0,39	0,06	-0,28	-0,54	0,19	0,33	-0,04	0,08	0,03	-0,15	0,05	0,37	-0,01	0,39	-0,28	0,15
Ste	0,91	0,94	0,60	0,39	1,00	-0,01	-0,01	-0,06	-0,08	-0,08	-0,36	0,23	0,21	-0,13	0,07	0,28	-0,22	0,15	-0,12	0,24
Ole	-0,10	-0,24	0,46	0,06	-0,01	1,00	0,06	0,48	0,23	-0,09	0,55	0,54	-0,01	0,61	0,11	0,61	0,23	0,06	-0,12	0,01
Vac	-0,14	-0,13	0,54	-0,28	-0,01	0,06	1,00	0,54	-0,66	0,44	0,13	0,34	0,04	0,49	-0,20	0,14	0,23	0,23	0,39	-0,21
Lin	-0,30	-0,30	0,55	-0,54	-0,06	0,48	0,54	1,00	-0,05	-0,25	0,39	0,53	0,35	0,65	-0,07	0,21	0,04	-0,15	0,54	-0,01
Ara	0,06	-0,09	-0,26	0,19	-0,08	0,23	-0,66	-0,05	1,00	-0,29	0,19	0,08	0,10	-0,10	-0,09	-0,18	-0,19	-0,39	-0,22	0,30
Glin	0,10	0,00	0,03	0,33	-0,08	-0,09	0,44	-0,25	-0,29	1,00	-0,06	-0,06	-0,30	0,08	-0,18	-0,04	0,26	0,34	-0,17	-0,29
Line	-0,37	-0,43	0,05	-0,04	-0,36	0,55	0,13	0,39	0,19	-0,06	1,00	0,34	0,05	0,38	-0,16	0,22	0,03	0,08	0,21	-0,29
Eik3	0,17	0,01	0,51	0,08	0,23	0,54	0,34	0,53	0,08	-0,06	0,34	1,00	0,45	0,32	-0,32	0,64	0,19	-0,10	-0,07	-0,32
Beh	0,21	0,08	0,15	0,03	0,21	-0,01	0,04	0,35	0,10	-0,30	0,05	0,45	1,00	0,03	-0,34	0,16	-0,21	-0,48	0,37	-0,05
Arch	-0,30	-0,28	0,61	-0,15	-0,13	0,61	0,49	0,65	-0,10	0,08	0,38	0,32	0,03	1,00	0,40	0,49	0,25	0,39	0,21	0,31
Eik5	-0,15	0,12	0,19	0,05	0,07	0,11	-0,20	-0,07	-0,09	-0,18	-0,16	-0,32	-0,34	0,40	1,00	0,32	0,19	0,62	-0,02	0,46
Lig	0,16	0,13	0,55	0,37	0,28	0,61	0,14	0,21	-0,18	-0,04	0,22	0,64	0,16	0,49	0,32	1,00	0,38	0,46	-0,22	-0,09
Dok4	-0,29	-0,32	0,19	-0,01	-0,22	0,23	0,23	0,04	-0,19	0,26	0,03	0,19	-0,21	0,25	0,19	0,38	1,00	0,22	0,00	-0,15
Dok5	0,05	0,25	0,36	0,39	0,15	0,06	0,23	-0,15	-0,39	0,34	0,08	-0,10	-0,48	0,39	0,62	0,46	0,22	1,00	-0,08	0,15
Dok6	-0,34	-0,22	0,19	-0,28	-0,12	-0,12	0,39	0,54	-0,22	-0,17	0,21	-0,07	0,37	0,21	-0,02	-0,22	0,00	-0,08	1,00	0,06
HbA1c	0,18	0,23	0,27	0,15	0,24	0,01	-0,21	-0,01	0,30	-0,29	-0,29	-0,32	-0,05	0,31	0,46	-0,09	-0,15	0,15	0,06	1,00

Tab. 9. 18: Matice korelačních koeficientů ve frakci ECH - skupina zdravých

	Myr	Penta	Pal	Palo	Ste	Ole	Vac	Lin	Ara	Glin	Line	Eik3	Beh	Arch	Eik5	Lig	Dok4	Dok5	Dok6	HbA1c
Myr	1,00	0,04	0,84	-0,36	0,90	0,50	0,63	0,75	0,75	-0,04	-0,03	0,68	0,91	0,75	0,78	-0,15	0,27	-0,34	0,58	-0,82
Penta	0,04	1,00	-0,10	0,56	0,17	-0,25	0,20	-0,25	0,02	0,72	0,68	0,23	-0,08	-0,11	-0,03	-0,12	0,14	-0,45	0,25	-0,28
Pal	0,84	-0,10	1,00	-0,59	0,85	0,48	0,57	0,96	0,86	-0,34	-0,16	0,89	0,60	0,94	0,56	-0,28	0,27	-0,33	0,78	-0,64
Palo	-0,36	0,56	-0,59	1,00	-0,32	-0,43	-0,13	-0,66	-0,37	0,78	0,66	-0,40	-0,22	-0,55	-0,15	0,12	-0,10	-0,09	-0,19	0,12
Ste	0,90	0,17	0,85	-0,32	1,00	0,48	0,55	0,74	0,76	0,02	0,03	0,77	0,74	0,70	0,56	-0,11	0,22	-0,27	0,62	-0,66
Ole	0,50	-0,25	0,48	-0,43	0,48	1,00	-0,34	0,52	0,43	-0,47	0,04	0,19	0,46	0,23	0,26	-0,23	0,43	-0,17	0,11	-0,41
Vac	0,63	0,20	0,57	-0,13	0,55	-0,34	1,00	0,45	0,48	0,25	-0,14	0,66	0,50	0,70	0,57	0,04	-0,07	-0,23	0,61	-0,46
Lin	0,75	-0,25	0,96	-0,66	0,74	0,52	0,45	1,00	0,85	-0,46	-0,16	0,83	0,54	0,87	0,42	-0,28	0,20	-0,25	0,67	-0,56
Ara	0,75	0,02	0,86	-0,37	0,76	0,43	0,48	0,85	1,00	-0,13	0,13	0,83	0,52	0,78	0,51	-0,27	0,36	-0,29	0,62	-0,72
Glin	-0,04	0,72	-0,34	0,78	0,02	-0,47	0,25	-0,46	-0,13	1,00	0,56	-0,09	0,07	-0,31	0,05	0,02	-0,28	-0,05	-0,08	-0,11
Line	-0,03	0,68	-0,16	0,66	0,03	0,04	-0,14	-0,16	0,13	0,56	1,00	0,07	-0,05	-0,28	-0,11	-0,16	0,10	-0,34	0,14	-0,24
Eik3	0,68	0,23	0,89	-0,40	0,77	0,19	0,66	0,83	0,83	-0,09	0,07	1,00	0,35	0,85	0,36	-0,26	0,24	-0,43	0,84	-0,55
Beh	0,91	-0,08	0,60	-0,22	0,74	0,46	0,50	0,54	0,52	0,07	-0,05	0,35	1,00	0,51	0,80	-0,05	0,04	-0,08	0,30	-0,75
Arch	0,75	-0,11	0,94	-0,55	0,70	0,23	0,70	0,87	0,78	-0,31	-0,28	0,85	0,51	1,00	0,61	-0,31	0,23	-0,31	0,83	-0,60
Eik5	0,78	-0,03	0,56	-0,15	0,56	0,26	0,57	0,42	0,51	0,05	-0,11	0,36	0,80	0,61	1,00	0,01	0,15	-0,13	0,47	-0,77
Lig	-0,15	-0,12	-0,28	0,12	-0,11	-0,23	0,04	-0,28	-0,27	0,02	-0,16	-0,26	-0,05	-0,31	0,01	1,00	-0,14	0,23	-0,35	0,22
Dok4	0,27	0,14	0,27	-0,10	0,22	0,43	-0,07	0,20	0,36	-0,28	0,10	0,24	0,04	0,23	0,15	-0,14	1,00	-0,66	0,23	-0,31
Dok5	-0,34	-0,45	-0,33	-0,09	-0,27	-0,17	-0,23	-0,25	-0,29	-0,05	-0,34	-0,43	-0,08	-0,31	-0,13	0,23	-0,66	1,00	-0,52	0,34
Dok6	0,58	0,25	0,78	-0,19	0,62	0,11	0,61	0,67	0,62	-0,08	0,14	0,84	0,30	0,83	0,47	-0,35	0,23	-0,52	1,00	-0,49
HbA1c	-0,82	-0,28	-0,64	0,12	-0,66	-0,41	-0,46	-0,56	-0,72	-0,11	-0,24	-0,55	-0,75	-0,60	-0,77	0,22	-0,31	0,34	-0,49	1,00

Tab. 9. 19: Matice korelačních koeficientů ve frakci ECH - skupina dostatečně kompenzovaných

	Myr	Penta	Pal	Palo	Ste	Ole	Vac	Lin	Ara	Glin	Line	Eik3	Beh	Arch	Eik5	Lig	Dok4	Dok5	Dok6	HbA1c
Myr	1,00	0,76	0,65	0,87	0,20	0,45	-0,03	0,42	0,81	-0,14	0,85	0,42	0,62	0,47	0,22	0,40	0,71	0,38	0,51	0,72
Penta	0,76	1,00	0,78	0,57	0,69	0,67	-0,34	0,59	0,64	-0,27	0,69	0,60	0,44	0,68	-0,09	0,32	0,63	0,34	0,74	0,56
Pal	0,65	0,78	1,00	0,59	0,53	0,86	-0,29	0,94	0,69	-0,08	0,73	0,78	0,26	0,89	0,09	0,50	0,59	0,72	0,57	0,76
Palo	0,87	0,57	0,59	1,00	-0,07	0,58	-0,28	0,47	0,93	0,03	0,87	0,28	0,65	0,41	-0,06	0,23	0,45	0,33	0,57	0,79
Ste	0,20	0,69	0,53	-0,07	1,00	0,34	0,03	0,46	0,19	-0,44	0,10	0,46	0,08	0,52	-0,08	0,00	0,25	0,24	0,37	0,14
Ole	0,45	0,67	0,86	0,58	0,34	1,00	-0,69	0,90	0,65	0,05	0,73	0,60	0,21	0,76	-0,34	0,28	0,28	0,52	0,72	0,67
Vac	-0,03	-0,34	-0,29	-0,28	0,03	-0,69	1,00	-0,34	-0,22	-0,20	-0,33	-0,16	-0,11	-0,29	0,61	-0,09	-0,04	-0,03	-0,59	-0,23
Lin	0,42	0,59	0,94	0,47	0,46	0,90	-0,34	1,00	0,61	0,00	0,64	0,67	0,14	0,82	-0,07	0,32	0,31	0,73	0,48	0,71
Ara	0,81	0,64	0,69	0,93	0,19	0,65	-0,22	0,61	1,00	-0,19	0,80	0,37	0,58	0,53	-0,15	0,11	0,34	0,32	0,63	0,75
Glin	-0,14	-0,27	-0,08	0,03	-0,44	0,05	-0,20	0,00	-0,19	1,00	0,11	-0,18	0,03	-0,09	-0,04	-0,00	-0,07	0,21	-0,07	0,14
Line	0,85	0,69	0,73	0,87	0,10	0,73	-0,33	0,64	0,80	0,11	1,00	0,38	0,53	0,50	-0,10	0,27	0,44	0,48	0,60	0,82
Eik3	0,42	0,60	0,78	0,28	0,46	0,60	-0,16	0,67	0,37	-0,18	0,38	1,00	-0,30	0,95	0,37	0,75	0,56	0,34	0,58	0,23
Beh	0,62	0,44	0,26	0,65	0,08	0,21	-0,11	0,14	0,58	0,03	0,53	-0,30	1,00	-0,11	-0,21	-0,20	0,36	0,38	0,10	0,74
Arch	0,47	0,68	0,89	0,41	0,52	0,76	-0,29	0,82	0,53	-0,09	0,50	0,95	-0,11	1,00	0,20	0,63	0,53	0,47	0,66	0,42
Eik5	0,22	-0,09	0,09	-0,06	-0,08	-0,34	0,61	-0,07	-0,15	-0,04	-0,10	0,37	-0,21	0,20	1,00	0,71	0,59	0,30	-0,38	-0,02
Lig	0,40	0,32	0,50	0,23	0,00	0,28	-0,09	0,32	0,11	-0,00	0,27	0,75	-0,20	0,63	0,71	1,00	0,80	0,40	0,17	0,21
Dok4	0,71	0,63	0,59	0,45	0,25	0,28	-0,04	0,31	0,34	-0,07	0,44	0,56	0,36	0,53	0,59	0,80	1,00	0,55	0,21	0,51
Dok5	0,38	0,34	0,72	0,33	0,24	0,52	-0,03	0,73	0,32	0,21	0,48	0,34	0,38	0,47	0,30	0,40	0,55	1,00	-0,09	0,80
Dok6	0,51	0,74	0,57	0,57	0,37	0,72	-0,59	0,48	0,63	-0,07	0,60	0,58	0,10	0,66	-0,38	0,17	0,21	-0,09	1,00	0,26
HbA1c	0,72	0,56	0,76	0,79	0,14	0,67	-0,23	0,71	0,75	0,14	0,82	0,23	0,74	0,42	-0,02	0,21	0,51	0,80	0,26	1,00

Tab. 9. 20: Matice korelačních koeficientů ve frakci ECH - skupina nedostatečně kompenzovaných

10. Seznam obrázků, grafů, tabulek a zkratk

Seznam obrázků

Obr. 3. 1: Schéma syntézy esenciálních polynenasycených mastných kyselin (Sayanova, O., V., Napier, J., A., Eicosapentaenoic acid: biosynthetic routes and the potential for synthesis in transgenic plants. *Phytochemistry* (2004) 65: 147-158)

Obr. 3. 2: Metabolismus lipoproteinů
(http://www.elu.sgu.ac.uk/rehash/guest/scorm/294/package/content/liver_lipoprotein.html)

Obr. 3. 3: Sekrece inzulinu (<http://stephanieschaefer.ca/2011/03/longtime-mystery-solved-the-mechanism-of-insulin-secretion/>)

Obr 3.4: Schéma výpočtu retenčního faktoru pro TLC
(http://wwwchem.uwimona.edu.jm/lab_manuals/c1901exp12.html)

Obr. 3. 5: Schéma plynového chromatografu
(<http://www.chromedia.org/chromedia?waxtrapp=yqegzCsHqnOxmOIIEcCzB&subNav=yarwnEsHqnOxmOIIEcCxBWT>)

Obr. 4. 1: Rozdělení lipidů na jednotlivé frakce pomocí TLC
(http://lipidlibrary.aocs.org/gc_lipid/02_prelim/index2.htm)

Obr. 9. 1: Schéma diagnostiky diabetes mellitus dle nejnovějších poznatků (získáno z univerzity v Tübingenu)

Obr. 9. 2: Ukázkový chromatogram mastných kyselin
(<http://www.cyberlipid.org/fattyt/fatt0003.htm>)

Seznam grafů

Graf 5.1: Závislost koncentrace glukosy (nahore) a glykovaného hemoglobinu (dole) na stupni onemocnění

Graf 5. 2. a: Závislost obsahu MK v procentech na stupni onemocnění ve frakci PL

Graf 5. 2. b: Závislost obsahu MK v procentech na stupni onemocnění ve frakci PL

Graf 5. 3. a: Závislost obsahu MK v procentech na stupni onemocnění ve frakci DG

Graf 5. 3. b: Závislost obsahu MK v procentech na stupni onemocnění ve frakci DG

Graf 5. 4. a: Závislost obsahu MK v procentech na stupni onemocnění ve frakci VMK

Graf 5. 4. b: Závislost obsahu MK v procentech na stupni onemocnění ve frakci VMK

Graf 5. 5. a: Závislost obsahu MK v procentech na stupni onemocnění ve frakci TAG

Graf 5. 5. b: Závislost obsahu MK v procentech na stupni onemocnění ve frakci TAG

Graf 5. 6. a: Závislost obsahu MK v procentech na stupni onemocnění ve frakci ECH

Graf 5. 6. b: Závislost obsahu MK v procentech na stupni onemocnění ve frakci ECH

Graf 5. 7: Závislost celkových lipidů ve všech frakcích na stupni onemocnění

Graf 5. 8: Celkové nasycené, mononenasyčené a esenciální MK ve frakci PL

Graf 5. 9: Celkové nasycené, mononenasyčené a esenciální MK ve frakci DG

Graf 5. 10: Celkové nasycené, mononenasyčené a esenciální MK ve frakci VMK

Graf 5. 11: Celkové nasycené, mononenasyčené a polynenasycené MK ve frakci TAG

Graf 5. 12: Celkové nasycené, mononenasyčené a polynenasycené MK ($\mu\text{mol/l}$) ve frakci ECH

Graf 5. 13: Graf komponentních vah pro frakci PL - zdraví (nahore), dostatečně (vlevo dole) a nedostatečně kompenzování (vpravo dole)

Graf 5. 14: Graf komponentních vah pro frakci DG - zdraví (vlevo nahore), dostatečně (vpravo nahore) a nedostatečně kompenzování (vlevo dole)

Graf 5. 15: Graf komponentních vah pro frakci VMK - zdraví (vlevo nahoře), dostatečně (vpravo nahoře) a nedostatečně kompenzovaní (vlevo dole)

Graf 5.16: Graf komponentních vah pro frakci TAG - zdraví (vlevo nahoře), dostatečně (vpravo nahoře) a nedostatečně kompenzovaní (vlevo dole)

Graf 5. 17: Graf komponentních vah pro frakci ECH - zdraví (vlevo nahoře), dostatečně (vpravo nahoře) a nedostatečně kompenzovaní (vlevo dole)

Graf 5. 18: Graf komponentního skóre pro frakci PL

Graf 5. 19: Graf komponentního skóre pro frakci DG

Graf 5. 20: Graf komponentního skóre pro frakci VMK

Graf 5. 21: Graf komponentního skóre pro frakci TAG

Graf 5. 22: Graf komponentního skóre pro frakci ECH

Seznam tabulek

Tab. 4. 1: Rozdělení vzorků na tři skupiny

Tab. 9. 1: Koncentrace ($\mu\text{mol/l}$) mastných kyselin ve frakci PL, ve druhém řádku uvedeny naměřené minimální a maximální hodnoty

Tab. 9. 2: Koncentrace ($\mu\text{mol/l}$) mastných kyselin ve frakci DG, ve druhém řádku uvedeny naměřené minimální a maximální hodnoty

Tab. 9. 3: Koncentrace ($\mu\text{mol/l}$) mastných kyselin ve frakci VMK, ve druhém řádku uvedeny naměřené minimální a maximální hodnoty

Tab. 9. 4: Koncentrace ($\mu\text{mol/l}$) mastných kyselin ve frakci TAG, ve druhém řádku uvedeny naměřené minimální a maximální hodnoty

Tab. 9. 5: Koncentrace ($\mu\text{mol/l}$) mastných kyselin ve frakci ECH, ve druhém řádku uvedeny naměřené minimální a maximální hodnoty

Tab. 9. 6: Matice korelačních koeficientů ve frakci PL - skupina zdravých

Tab. 9. 7: Matice korelačních koeficientů ve frakci PL - skupina dostatečně kompenzovaných

Tab. 9. 8: Matice korelačních koeficientů ve frakci PL - skupina nedostatečně kompenzovaných

Tab. 9. 9: Matice korelačních koeficientů ve frakci DG - skupina zdravých

Tab. 9. 10: Matice korelačních koeficientů ve frakci DG - skupina dostatečně kompenzovaných

Tab. 9. 11: Matice korelačních koeficientů ve frakci DG - skupina nedostatečně kompenzovaných

Tab. 9. 12: Matice korelačních koeficientů ve frakci VMK - skupina zdravých

Tab. 9. 13: Matice korelačních koeficientů ve frakci VMK - skupina dostatečně kompenzovaných

Tab. 9. 14: Matice korelačních koeficientů ve frakci VMK - skupina nedostatečně kompenzovaných

Tab. 9. 15: Matice korelačních koeficientů ve frakci TAG- skupina zdravých

Tab. 9. 16: Matice korelačních koeficientů ve frakci TAG - skupina dostatečně kompenzovaných

Tab. 9. 17: Matice korelačních koeficientů ve frakci TAG - skupina nedostatečně kompenzovaných

Tab. 9. 18: Matice korelačních koeficientů ve frakci ECH - skupina zdravých

Tab. 9. 19: Matice korelačních koeficientů ve frakci ECH - skupina dostatečně kompenzovaných

Tab. 9. 20: Matice korelačních koeficientů ve frakci ECH - skupina nedostatečně kompenzovaných

Seznam zkratk

AA	arachidonová kyselina
AGE	produkty pozdní glykace (advanced glycation end-product)
ALA	α -linolenová kyselina
ATP	adenosintrifosfát
BMI	body mass index
CETP	cholesterol-ester transfer protein
DG	diacylglyceroly
DHA	dokosaheptaenová kyselina
DM	diabetes mellitus

EFA	esenciální mastné kyseliny (essential fatty acids)
ECH	estery cholesterolu
EPA	eikosapentaenová kyselina
FID	plamenový ionizační detektor (flame ionization detector)
GC	plynová chromatografie (gas chromatography)
GIT	gastro-intestinální trakt
HbA1c	glykovaný hemoglobin
HDL	lipoproteiny o vysoké hustotě (high-density lipoproteins)
IDDM	diabetes mellitus závislý na inzulinu (inzulin dependent diabetes mellitus)
IDL	lipoproteiny o střední hustotě (intermediate-density lipoproteins)
IR	inzulinová rezistence
LA	linolová kyselina
LCAT	lecitin-cholesterolacyl transferasa
MF	mobilní fáze
MK	mastné kyseliny
MUFA	mononenasycené mastné kyseliny (mono-unsaturated fatty acids)
NIDDM	diabetes mellitus nezávislý na inzulinu (non-inzulin dependent diabetes mellitus)
oGTT	orální glukosový toleranční test
PL	fosfolipidy
PUFA	vícenenasycené mastné kyseliny (polyunsaturated fatty acids)
SF	stacionární fáze
SFA	nasycené mastné kyseliny (saturated fatty acids)
TAG	triacylglyceroly
TLC	tenkovrtevná chromatografie (thin layer chromatography)
VLDL	lipoproteiny o velmi nízké hustotě (very low density lipoproteins)
VMK	volné mastné kyseliny