

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2017

David Křehlík

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Desaturázy a elongázy, diagnostický význam a stanovení jejich aktivity

David Křehlík

Bakalářská práce

2017

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **David Křehlík**
Osobní číslo: **C14290**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Název tématu: **Desaturázy a elongázy, diagnostický význam a stanovení jejich aktivity**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

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

1. Seznamte se s literárními údaji o funkci desaturáz a elongáz u člověka. Prostudujte literární údaje o významu desaturáz a elongáz v metabolismu exogenních i endogenních mastných kyselin u člověka.
2. Popište strukturu a lokalizaci desaturáz a elongáz v buňce a popište regulaci jejich aktivity.
3. Vysvětlete souvislost aktivit těchto enzymů s výskytem hyperglykemie, dyslipidemie, inzulínovou rezistencí, metabolickým syndromem a diabetem typu 2.
4. Popište onemocnění orgánů a další fyziologické poruchy ke kterým dochází v průběhu progresu těchto nemocí.
5. Popište diagnostickou metodiku pro stanovení funkce a aktivity těchto enzymů, popište její experimentální dostupnost a specifikujte její účinnost a přesnost.
6. Informace přehledně zpracujte, použijte obrázky, schémata a grafy a ze získaných literárních údajů vyvoďte závěry o vzniku, vývoji a progresi poruch aktivity desaturáz a elongáz spojených se vznikem uvedených nemocí. Uveďte možnou farmakoterapii těchto enzymatických poruch a následných onemocnění.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

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

Konzultant bakalářské práce: **Ing. Martina Líbalová**
Katedra biologických a biochemických věd

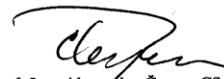
Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2015**

Termín odevzdání bakalářské práce: **3. července 2016**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 15. února 2016

Prohlášení autora

Prohlašuji:

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

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

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

V Pardubicích dne 3. 7. 2017

.....

David Křehlík

Poděkování:

Děkuji panu prof. Ing. Alexandru Čeganovi, CSc. a paní Ing. Martině Špryncové za vedení, cenné rady, trpělivost a čas, který mi věnovali při zpracování bakalářské práce.

Anotace:

Předložená bakalářská práce se zabývá významem desaturáz a elongáz v metabolismu mastných kyselin. Jsou zde popsány mechanismy regulace a rozdělení těchto enzymů. V práci se dále zabývám vybranými metabolickými poruchami, fyziologickými změnami, které provázejí tato onemocnění, farmakoterapií, a nakonec vlivem desaturáz a elongáz.

Klíčová slova: desaturázy, elongázy, mastné kyseliny, diabetes mellitus, metabolický syndrom

Annotation:

This bachelor thesis deals with the significance of desaturases and elongases in the metabolism of fatty acids. It describes the mechanism of regulation and distribution of these enzymes. The thesis also deals with metabolic disorders, their physiological manifestations, pharmacotherapy and activities of desaturases and elongases associated with the diseases.

Keywords: desaturases, elongases, fatty acids, diabetes mellitus, metabolic syndrome

Seznam obrázků a tabulek:

Obrázek 1: Metabolické přeměny nasycených a mononenasycených FA.....	16
Obrázek 2: Metabolické přeměny esenciálních FA	16
Obrázek 3: Desaturace steraroyl-CoA	17
Obrázek 4: Struktura a topologie myší SCD1	18
Obrázek 5: Transkripční regulace mastných kyselin desaturáz a elongáz.....	23
Obrázek 6: Mikrosomální elongace	36
Obrázek 7: Schéma syntézy PUFA.....	39
Obrázek 8: Zpětná vazba mezi β -buňkami a tkáněmi citlivými na inzulín.	41
Obrázek 9: Mechanismus inzulínové senzitivity a rezistence.	54
Tabulka 1: Regulace exprese SCD1 hormony	26
Tabulka 2: Regulace exprese SCD1 živinami	28
Tabulka 3: Diagnostická kritéria pro diagnostiku MS.....	50

Seznam použitých zkratk:

AA	kyselina arachidonová
ABCA1	ATP-vazebný cassette transporter, subrodina A, člen 1
ACP	přenašeč acylových skupin
AGE	pokročilé glykační konečné produkty
ALP	alkalická fosfatáza
ALT	alanintransferáza
BMI	index tělesné hmotnosti
CETP	cholesterol ester transfer protein
CLA	konjugovaná kyselina linolová
CRP	C-reaktivní protein
CVD	kardiovaskulární onemocnění
D5D	$\Delta 5$ desaturáza
D6D	$\Delta 6$ desaturáza
DAG	diacylglyceroly
DART	ionizační technika přímé analýzy v reálném čase
DESI	desorbční ionizace elektrosprejem
DGAT	diacylglycerol acyltransferáza
DGLA	kyselina dihomo- γ -linolenová
DHA	kyselina dokosahexaenová
DLP	dyslipidémie
DM2T	diabetes mellitus 2. typu
DN	diabetická nefropatie
DNL	de novo lipogeneze
ECM	extracelulární matrix
EFA	esenciální mastné kyseliny
ELOVL	elongázy mastných kyselin o velmi dlouhém řetězci
EPA	kyselina eikosapentaenová
ER	endoplazmatické retikulum
FA	mastné kyseliny
FADS	desaturázy mastných kyselin
FD	first desaturázy

FE	front-end desaturázy
FGF	fibroblastový růstový faktor
FXR	farnesoid X receptor
GC	plynová chromatografie
GGT	gamma glutamyltransferáza
GIP	glukóza-dependentní inzulintropní polypeptid
GL	galaktolipidy
GLA	kyselina γ -linolenová
GLP-1	glukagon-podobný peptid-1
HDL	lipoproteiny s vysokou hustotou
ChREBP	carbohydrate response element binding protein
ID	inzulinová deficiencie
IL	interleukiny
IR	inzulinová rezistence
LA	kyselina linolová
LCPUFA	polynenasycené mastné kyseliny s dlouhým řetězcem
LDL	lipoproteiny o nízké hustotě
LXR	jaterní X receptory
MAP	mitogenem aktivovaná proteinkináza
ME	methyl-end desaturázy
MGDG	monogalaktosyl diacylglycerol
MS	metabolický syndrom
MUFA	mononenasycené mastné kyseliny
NADPH	nikotinamidadeninfosfát
NAFLD	nealkoholické tukové onemocnění jater
NASH	nealkoholická steatohepatitida
PA	kyselina palmitová
PCSK9	proprotein konvertázy subtilisin-kexin 9
PI3K	fosfatidylinositol-3-kináza
PKC	protein kináza C
PL	fosfolipidy
POA	kyselina palmitoolejová
PPAP	peroxime proliferator activated receptors

PUFA	polynenasycené mastné kyseliny
ROS	volné kyslíkové radikály
RXR	retinový receptor
SAFA	nasycené mastné kyseliny
SCD	stearoyl-CoA desaturáza
SP	sfingolipidy
SREBP	sterol regulátory element binding protein
STAT3	signální transduktor a aktivátor transkripce 3
TAG	triacylglyceroly
TLC	tenkovrstvá chromatografie
TM	transmembránová šroubovice
ÚZIS	Ústav zdravotnických informací a statistiky
VLCFA	mastné kyseliny s velmi dlouhým řetězcem
VLDL	lipoproteiny s velmi nízkou hustotou

Obsah:

Úvod.....	13
1 Mastné kyseliny.....	14
2 Desaturázy.....	17
2.1 Stearoyl-CoA desaturázy.....	17
2.2 Izoformy SCD.....	18
2.3 Transkripční faktory.....	19
2.3.1 Sterol Regulatory Element Binding Protein.....	19
2.3.2 Jaterní X receptory.....	20
2.3.3 Peroxime Proliferator Activated Receptors.....	21
2.3.4 Carbohydrate Response Element Binding Protein.....	22
2.4 Hormonální regulace SCD1.....	24
2.4.1 Inzulín.....	24
2.4.2 Leptin.....	25
2.5 Nutriční regulace SCD1.....	27
2.5.1 Polynenasycené mastné kyseliny.....	27
2.5.2 Sacharidy.....	28
2.6 Role SCD1 v syntéze lipidů.....	29
2.7 Desaturázy mastných kyselin.....	30
2.8 Stanovení aktivity desaturáz.....	32
2.8.1 Tenkovrstvá chromatografie.....	33
2.8.2 Plynová chromatografie.....	33
3 Elongázy.....	35
3.1 Izoformy elongáz mastných kyselin o velmi dlouhém řetězci.....	36
4 Poruchy.....	40

4.1	Diabetes typu 2, hyperglykémie.....	40
4.1.1	Dysfunkce β -buněk	41
4.1.2	Nealkoholické tukové onemocnění jater.....	42
4.1.3	Diabetická nefropatie	43
4.1.4	Diabetická kardiomyopatie	44
4.1.5	Zánět	45
4.1.6	Mozek a střevo.....	45
4.1.7	Vliv aktivity desaturáz na diabetes mellitus 2. typu	47
4.1.8	Farmakoterapie diabetu mellitu 2. typu	47
4.2	Metabolický syndrom.....	48
4.2.1	Abdominální obezita.....	51
4.2.2	Hypertenze	51
4.2.3	Metabolický syndrom a lipidy	52
4.2.4	Vliv desaturáz na metabolický syndrom.....	52
4.3	Inzulinová rezistence.....	53
4.3.1	Vliv desaturáz a elongáz na inzulinovou rezistenci.....	55
4.4	Dyslipidémie	55
4.4.1	Diabetická dyslipidémie	55
4.4.2	Vliv desaturáz na dyslipidémii	57
4.4.3	Farmakoterapie dyslipidémie.....	58
5	Závěr.....	60
6	Použitá literatura.....	62

Úvod

Mastné kyseliny získané stravou jsou částečně odraženy v profilu mastných kyselin různých biologických médií včetně tukové tkáně (odráží příjem posledních měsíců a let), membrány erytrocytů a plazmy nebo séra (odráží příjem několika týdnů). Nicméně profil mastných kyselin biologických tkání je silně závislý na endogenním metabolismu mastných kyselin. Mnoho mastných kyselin může být syntetizováno, elongováno nebo desaturováno endogenně. Tyto tři procesy ovlivňují využití mastných kyselin jako biomarkerů spotřeby. Elongací existujících mastných kyselin o dva uhlíky dochází ke vzniku nových mastných kyselin. Další velká změna mastných kyselin probíhá prostřednictvím desaturace, která vede ke vzniku nové dvojně vazby. U lidí jsou známy tři desaturázy stearoyl-CoA desaturáza a $\Delta 6$ a $\Delta 5$ desaturázy. Savčí gen stearoyl-CoA desaturázy byl identifikován v polovině osmdesátých let. Komplementární klonování DNA a exprese $\Delta 6$ a $\Delta 5$ desaturáz byly poprvé popsány v roce 1999. Savci postrádají $\Delta 12$ desaturázu a to vede k zabránění konverze kyseliny olejové na linolenovou. $\Delta 15$ desaturáza u savců také chybí, a tím je zabráněno konverzi kyseliny linolenové na α -linolenovou. Rostliny mohou využít obou těchto konverzí. Většina mastných kyselin v lidské tkáni je neesenciální a jsou produkovány endogenně a přijímány potravou. Polynenasycené tuky jsou esenciální a nejsou endogenně produkovány. Jsou to prekurzory syntézy eikosanoidů a jejich role v lidské výživě byla popsána v roce 1929. Vzhledem k tomu, že esenciální polynenasycené tuky u lidí nelze syntetizovat de novo a hrají důležitou roli ve zdraví, jsou markery těchto biologicky aktivních mastných kyselin zvláště zajímavé.

1 Mastné kyseliny

Mastné kyseliny (FA) jsou strukturní součástí lipidů, které společně s bílkovinami a sacharidy představují základní stavební kameny živé hmoty. Jsou buď nasycené nebo nenasycené karboxylové kyseliny s uhlíkovým řetězcem dlouhým od 2 do 36 atomů. U vyšších živočichů a rostlin převažují FA se 16 a 18 uhlíkovými atomy, například kyselina palmitová, stearová, olejová a linolová. Kyseliny s řetězcem kratším než 14 a delším než 22 uhlíkových atomů představují menšinovou část. Většina FA má sudý počet atomů uhlíku, vzhledem k syntéze z dvouuhlíkatých jednotek. Kolem poloviny FA je nenasycených, s 1-6 dvojnými vazbami. Vícenasycené FA (polyunsaturated FA – PUFA) jsou specifické pentadienovým uspořádáním dvojných vazeb. (ŽÁK, 2011)

FA mají v živých organismech řadu funkcí. Jako součást fosfolipidů tvoří základní strukturu všech buněčných membrán, v triacylglycerolech slouží jako významný zdroj energie, v tukové tkáni představuje zásobu energie i tepelnou izolaci. (ŽÁK, 2011) V tukách a lipidech membrán jsou esterifikovány alkoholy. Malé množství FA zůstává neesterifikované, např. v krvi; označují se jako volné mastné kyseliny a jelikož mají výrazně amfipatickou povahu, váží se většinou na bílkoviny. (KOOLMAN, 2012). Bod tání mastných kyselin stoupá s rostoucí délkou řetězce a klesá s rostoucím počtem dvojných vazeb, které mají za normálních podmínek převážně *cis* konfiguraci. Stupeň nenasycenosti (počet dvojných vazeb v *cis* konfiguraci) má vliv na mikroviskozitu buněčných membrán, jejich tloušťku a následně také funkce proteinů asociovaných s membránami. (ŽÁK, 2011)

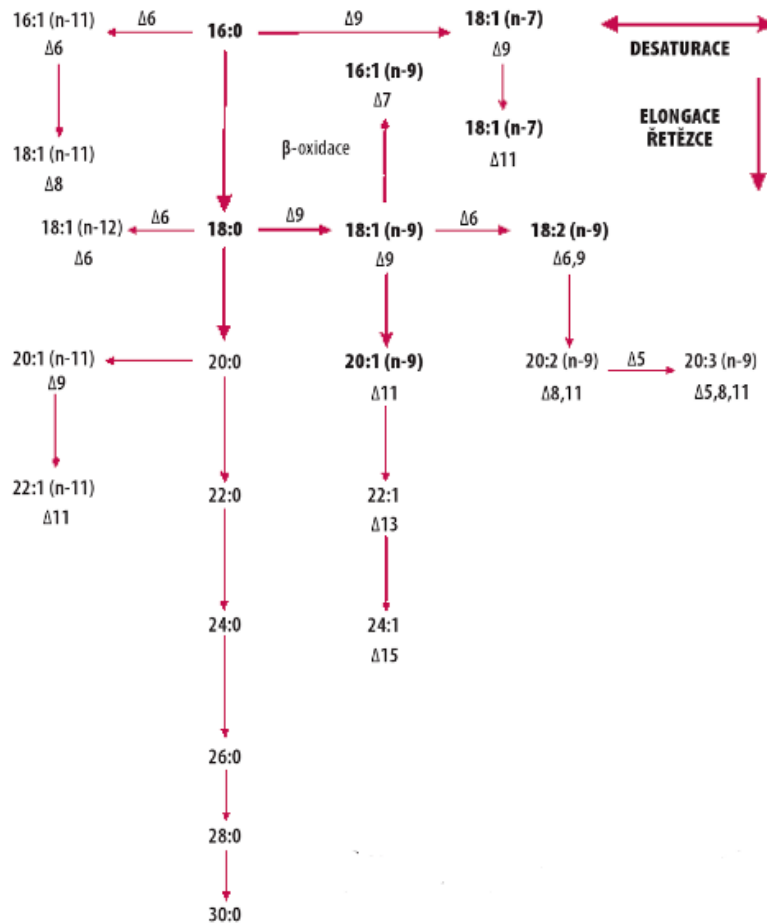
Nasycené mastné kyseliny nejsou jen zdroj energie, ale jsou též důležitou součástí buněčných membrán. Lidské tělo má na rozdíl od esenciálních polynenasycených mastných kyselin schopnost je syntetizovat. Jejich metabolické přeměny jsou znázorněny na obrázku 1. (SVAČINA, 2008)

Esenciální (nepostradatelné) mastné kyseliny je nutno přivádět potravou, neboť je lidské tělo nedokáže vytvořit. Jedná se o mastné kyseliny s několika dvojnými vazbami, zvláště pak o dvacetihlíkovou kyselinu arachidonovou (20:4;5,8,11,14) a obě C₁₈-kyseliny, kyseliny linolovou (18:2;9,12) a linolenovou (18:3;9,12,15). Živočichové využívají kyselinu arachidonovou pro syntézu eikosanoidů. Prodlužování mastných kyselin o dvouuhlíkaté jednotky je docela snadné, nicméně na konci řetězce (za C-9) není možné vnést dvojnou vazbu. Z toho důvodu musí být kyselina arachidonová součástí potravy, nebo musí být

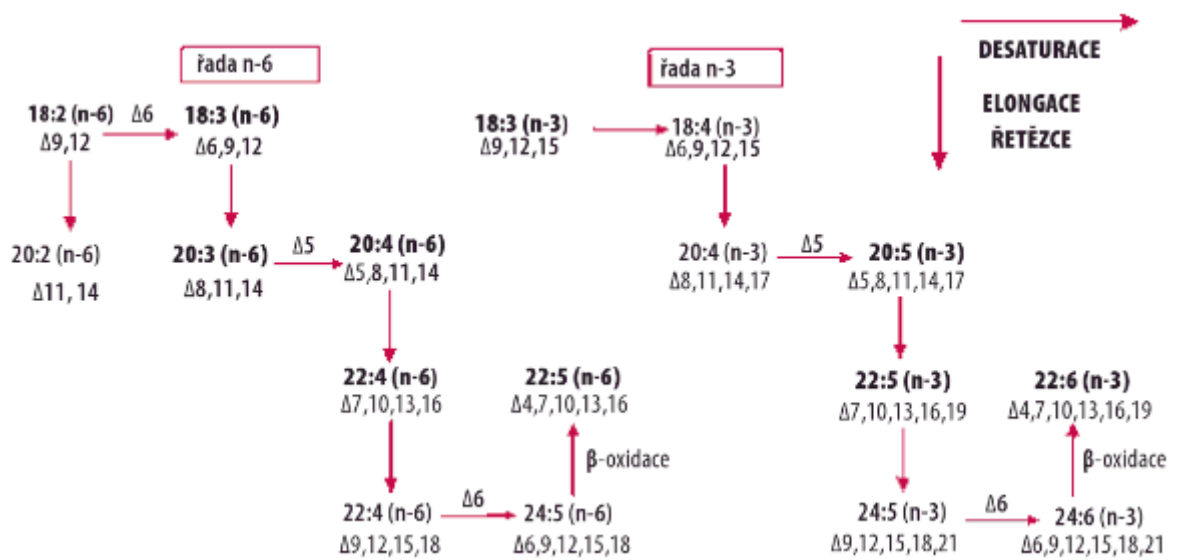
ve stravě nahrazena kyselinou linolovou či linolenovou, které je možné na kyselinu arachidonovou přeměnit. (KOOLMAN, 2012)

Mastné kyseliny se syntetizují z dvouuhlíkatých nebo tříuhlíkatých prekurzorů za účasti přenašeče acylových skupin (acyl carrier protein – ACP), redukované formy nikotinamidadeninfosfátu (NADPH) a acetyl-CoA karboxylázy. V mikrozomálním systému se účastní elongace malonyl-CoA, v mitochondriálním systému acetyl-CoA. Odbourávání je doprovázeno FA β -oxidací v mitochondriích je doprovázeno uvolněním energie. Lidské tkáně jsou syntetizují nasycené FA převážně se sudým počtem atomů uhlíku. Mononenasycené FA vznikají zavedením dvojné vazby do polohy $\Delta 9$ od uhlíkového atomu karboxylové skupiny. Reakce je katalyzována $\Delta 9$ desaturázou. Výsledkem desaturace kyseliny stearové (18:0) je kyselina olejová (18:1 n-9) a z kyseliny palmitové (16:0) vzniká kyselina palmitoolejová (16:1 n-7). Mononenasycené FA řady n-9 s délkou uhlíkatého řetězce 20-24 jsou produkty elongace kyseliny olejové, FA řady n-11 jsou desaturačními a elongačními produkty kyseliny arachové (20:0). Další desaturací a elongací kyseliny olejové vzniká Meadova kyselina (20:3 n-9), kterou lidský organismus produkuje pouze při nedostatku esenciálních FA (EFA) jako substrátu pro desaturaci, ve snaze zachovat fluiditu buněčných membrán. (ŽÁK, 2011)

Vícenenasycené FA obsahují 2-6 dvojných vazeb v pentadienovém uspořádání. Za esenciální FA jsou považovány PUFA s první dvojnou vazbou lokalizovanou na třetím (řada n-3) nebo šestém (řada n-6) uhlíkovém atomu od metylové skupiny. Tyto kyseliny není organismus schopen syntetizovat a je závislý na jejich přísunu z potravy. Základními prekurzory EFA (mateřské FA) jsou kyselina linolová (18:2, n-6) pro řadu n-6 a kyselina α -linolenová (18:3, n-3) pro řadu n-3 (Obrázek 2). Tyto kyseliny vznikají postupnou desaturací kyseliny olejové v endoplazmatickém retikulu a chloroplastu rostlin. Mastné kyseliny v jednotlivých metabolických řadách mají odlišnou afinitu k enzymům i schopnost inhibovat desaturázy (v poměru FA n-3 : FA n-6 : FA n-9 10:3:1). (ŽÁK, 2011)



Obrázek 1: Metabolické přeměny nasycených a mononenasyčených FA. (ŽÁK, 2011)



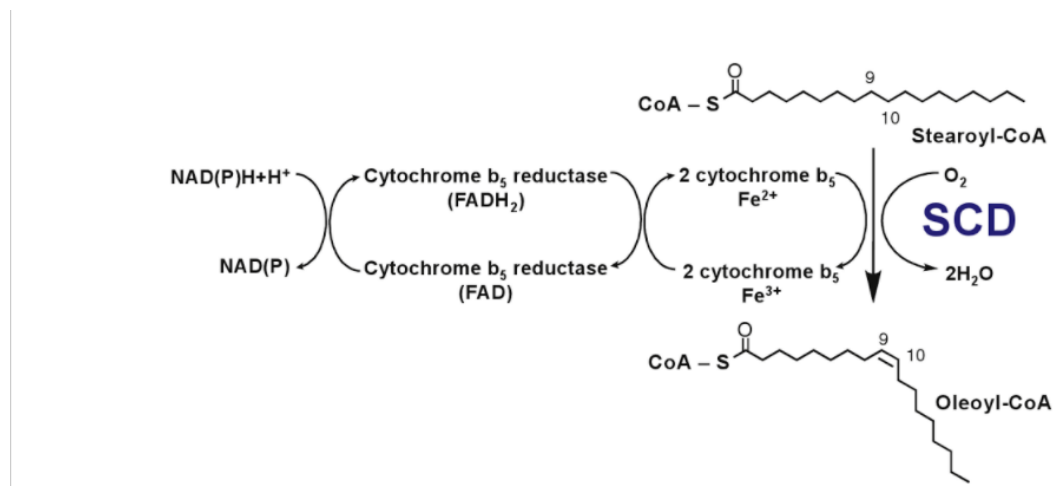
Obrázek 2: Metabolické přeměny esenciálních FA. (ŽÁK, 2011)

2 Desaturázy

Acyl-CoA desaturázy zavádějí dvojnou vazbu do konkrétní polohy na acylovém řetězci mastných kyselin s dlouhým řetězcem, čímž ovlivňuje klíčové biologické vlastnosti mastné kyseliny samotné a složitější lipidy obsahující tento acylový řetězec. Buňky savců exprimují $\Delta 9$, $\Delta 6$ a $\Delta 5$ desaturázu aktivitu, kde Δ číslo označuje místo zavedení dvojně vazby. Tyto desaturázy mohou být rozděleny do dvou skupin: stearoyl-CoA desaturázy (SCD) a desaturázy mastných kyselin (FADS). (GUILLOU, 2010)

2.1 Stearoyl-CoA desaturázy

SCD je $\Delta 9$ desaturáza připoutaná k membráně endoplazmatického retikula přes čtyři transmembránové domény. (SAMPATH, 2014) Společně s NAPH, cytochromem b_5 reduktázou a cytochromem b_5 , SCD1 zavádí dvojnou vazbu na pozici $\Delta 9$ (Obrázek 3). Hlavními substráty jsou kyselina palmitová (C16:0) a kyselina stearová (C18:0). Produkty kyselina palmitoolejová (C16:1) a olejová (C18:1) jsou hlavní mastné kyseliny přítomné v triglyceridech, esterech cholesterolu a membránových fosfolipidech. Poločas rozpadu SCD1 je pouze 3-5 hodin a jeho degradace probíhá v mikrozomech. Jeho gen obsahuje několik vazebných míst pro transkripční faktory, které regulují jeho expresi. Mezi hlavní transkripční faktory patří SREBP-1c, LXR a PPAR. (POLONI, 2015)

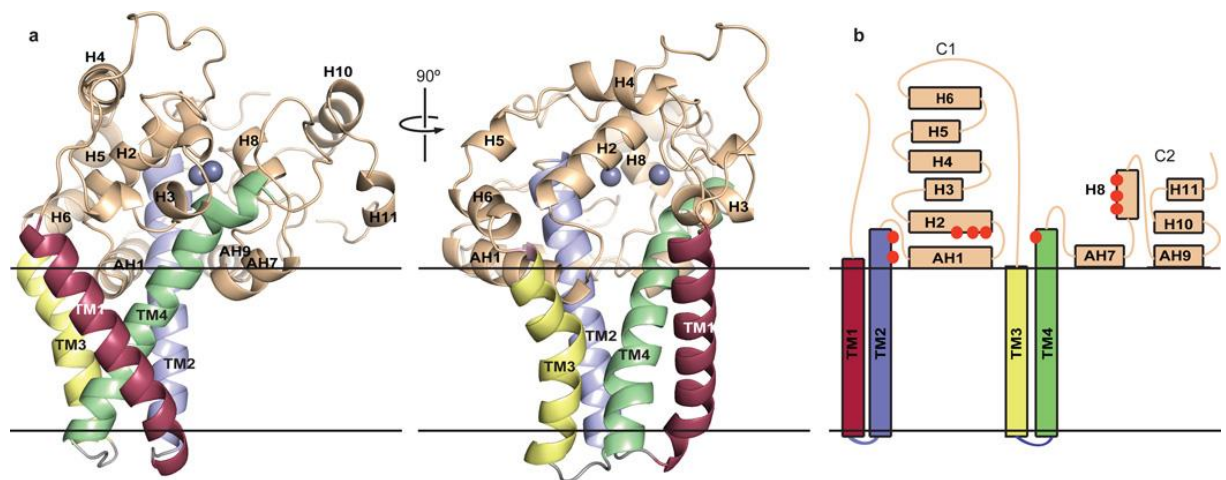


Obrázek 3: Desaturace stearoyl-CoA. (BOND, 2015)

U lidí byl použit poměr produktů/prekurzorů v plazmě nebo séru k odhadu aktivity SCD1. Populační studie našly silné spojení mezi indexy 16:1n-7/16:0, 18:1n-9/18:0 a markery obezity, jako je index tělesné hmotnosti (BMI) a obvod pasu. Další faktory kardiovaskulárního rizika jsou taky spojeny s indexy SCD1. Ve studii se 134 zdravými muži

byly plazmatické hladiny kyseliny palmitoolejové, jeden z hlavních produktů SCD1, silně a nezávisle spojeny s triglyceridemií. V jiné studii byla zjištěna vysoká SCD1 aktivita jako prediktor vývoje metabolického syndromu v pozorované skupině 1558 mužů středního věku. Podobné spojení bylo pozorováno při vývoji hyperglykémie. Vývoj dalších chorob jako je rakovina, fraktura kostí a jaterní cirhóza byl také spojen s expresí SCD1. (POLONI, 2015)

SCD1 má čtyři transmembránové šroubovice (TM1-TM4), uspořádané ve tvaru kužele s TM4 vloženým mezi TM1 a TM2 (Obrázek 4). Zbytky v membránové oblasti jsou většinou hydrofobní, s výjimkou konzervovaného argininu umístěného na TM4 ve středu kužele. Biochemickou analýzou bylo stanoveno, že N- a C-konce jsou na cytosolové straně membrány. Na cytosolové straně, vyčnívají ven z membrány tři spirály TM2 a TM4. Cytosolová doména obsahuje 93 zbytků mezi TM2 a TM3 (C1) a 90-zbytkovým C-koncem (C2). Domény C1 a C2 obsahují šest a pět α -helixů. Tři z α -helixů (AH1 na C1, AH7 a AH9 na C2) jsou amfipatické a pravděpodobně poskytují interakce mezi cytosolovou doménou a lipidovou dvojrůstvou. Tyto amfipatické helixy a umístění hydrofobních zbytků indikují přibližnou polohu lipidové dvojrůstvy. V krystalové mřížce je vzájemné působení mezi sousedními povrchy molekul malá. (BAI, 2015)



Obrázek 4: Struktura a topologie myši SCD1. (BAI, 2015)

2.2 Izoformy SCD

U myši byly identifikovány čtyři izoformy SCD. Všechny se nacházejí v oblasti 200 kb na chromozomu 19 a kódují 350-360 aminokyselinových proteinů s více než 80 % podobností aminokyselinové sekvence. SCD1 je všudypřítomně exprimován, s výraznou expresí v dospělých játrech, kde je výrazně indukován sacharidy ze stravy a nasycenými tuky. Dále je exprimován v mazových žlázách v kůži a je důležitý pro vývoj sebocytů. Kožní exprese SCD1 hraje nejen roli v udržování integrity kůže, ale také v celotělové energetické

rovnováze. SCD2 sdílí významnou sekvenční homologii s SCD1, je také všudypřítomně exprimován, hlavně v myším mozku a především během myelinizace u novorozenců. V játrech je exprese SCD2 vzájemně regulována expresí SCD1. Myši, které postrádají SCD2 se narodí se zhoršenou kožní bariérou, což vede ke smrti v důsledku ztráty vody přes kůži během několika hodin po narození u většiny zvířat. Myši SCD3 je exprimován v Harderově žláze a diferenciovaných sebocytech v kůži. SCD3 je jediná izoforma, která preferuje palmitát před stearátem, jako substrát. SCD4 je hlavně exprimován v myším srdci. U člověka byly identifikovány dvě SCD izoformy, obě jsou mikrosomální proteiny. hSCD1 je vysoce homologní k myší SCD1 a je exprimována v tukové tkáni, játrech, plicích, mozku, srdci, pankreatu a kosterních svalech. Druhá lidská SCD izoforma se nazývá SCD5, jejíž exprese probíhá převážně v mozku a pankreatu. Ačkoliv MUFA produkty SCD jsou ve velkém množství ve stravě, SCD1 je vysoce regulovaná, což naznačuje významnou roli pro endogenně syntetizované MUFA. Scd1 gen je pozitivně regulována stravovacími a buněčnými faktory jako je glukóza, fruktóza, nasycené mastné kyseliny, transkripční faktory SREBP-1c a LXR. Naopak negativní regulaci podporují leptin a polynenasycené mastné kyseliny. Dále je protein SCD1 degradován proteázami proteosomální drahou. (SAMPATH, 2014)

2.3 Transkripční faktory

2.3.1 Sterol Regulatory Element Binding Protein

SREBP patří mezi helix-loop-helix zipper (bHLH) transkripční faktory. U savců jsou známy tři izoformy SREBP-1a, SREBP-1c a SREBP-2, které jsou kódované geny *srebf1* a *srebf2*. (DONG, 2014) *Srebf1* produkuje dvě překrývající se mRNA, které se liší pouze 5'-koncovými exony, kde se z exonů 1a a 1c vytvářejí identické proteiny SREBP-1a a SREBP-1c s výjimkou jejich jedinečných aminokonců aktivovaných doménami. *Srebf2* produkuje SREBP-2 se silnou aktivační doménou podobné SREBP-1a. V kultivovaných buňkách nízká hladina cholesterolu vede k uvolnění SREBP-2 z membrány, zatímco nízké hladiny cholesterolu a mastných kyselin uvolňují SREBP-1. (SEO, 2009) SREBP jsou aktivovány jako inaktivní prekurzory a navázány na SREBF štěpící aktivační protein (SCAP) v endoplazmatickém retikulu. (RU, 2016) SREBP-1a aktivuje všechny SREBP zaměřující geny v cholesterolu a metabolismu mastných kyselin, zatímco SREBP-2 aktivuje převážně transkripci genů zapojených v syntéze cholesterolu. SREBP-1c je hlavní izoformou v játrech

a převážně kontroluje geny de novo lipogeneze jako jsou $\Delta 5$, $\Delta 6$, $\Delta 9$ desaturázy a ELOVL6. SREBP-1c je aktivován inzulinem a přítomností určitých mastných kyselin. (BOND, 2015)

Nasyčené mastné kyseliny s dlouhým řetězcem regulují jaterní lipogenní efekt prostřednictvím SREBP-1c a PGC-1 β . SREBP-1c je velmi slabý transkripční aktivátor, proto je potřeba asistence koaktivátoru. S ohledem na indukci SREBP-1c prostřednictvím 18:0. Ntambi a kol. zjistili, že de novo konverze 18:0 na 18:1n9, přes SCD, je potřebný pro indukci PGC-1 β . V kontrastu s FA s dlouhým řetězcem, PUFA a FA s krátkým řetězcem jsou zapojeny jako anti-lipogenní. Jeden nebo dva steroly jsou presentovány jako promotory *Scd1*, *Scd2*, *D6d*, *D5d* a *Elovl6* genů. Mnohé studie prokázaly, že SREBP-1c je zapojený v PUFA zprostředkované represi transkripce desaturáz a *Elovl6* probíhajících v játrech. Mnohé mechanismy PUFA represi SREBP-1c zahrnují, například blokování proteolytického zpracování SREBP-1c, redukcí stability SREBP-1c mRNA a působení jako antagonisty jaterních X receptorů (LXR), které aktivují SREBP-1c transkripci. Speciálně, n-3 PUFA potlačuje inzulinové vyvolání SREBP-1c transkripce redukcí transaktivující kapacity LXR α . (BOND, 2015)

2.3.2 Jaterní X receptory

Jaterní X receptory patří mezi nukleární receptory transkripčních faktorů a hrají důležitou roli v lipidovém metabolismu a protizánětlivé signalizaci. Tyto receptory se vyskytují ve dvou izoformách LX α a LX β a fungují jako ligand aktivované transkripční faktory. Nedávné studie naznačují, že intracelulární cholesterol aktivuje LXR v několika buňkách. Aktivovaný LXR se podílí na absorpci cholesterolu, jeho transportu, efluxu a vylučování, také modulují imunitní a zánětlivou odpověď. Syntetičtí antagonisté LXR podporují eflux cholesterolu a inhibují zánět in vivo a rozvoj aterosklerózy u zvířecích modelů. LXR jsou proto považovány za atraktivní cíle u lidských metabolických onemocnění, zaměřené na integraci lipidové metabolické a zánětlivé signální intervence. (BAI, 2014) Syntetický LXR antagonist T0901317 byl vyvinutý jako anti-aterogenní činidlo díky své schopnosti zvýšit úroveň lipoproteinu s vysokou hustotou. LXRs reguluje jaterní biosyntézu mastných kyselin v obou SREBP-1c-závislým a -nezávislým způsobem. Akumulací lipidů a zvýšením lipogeneze T0901317 jsou primárně vysvětleny zvýšením exprese SREBP-1c, jehož promotor obsahuje dva LXR reakční prvky (LXRE). SREBP-1c cílových genů zahrnuje biosyntetické geny mastných kyselin *Acc*, *Fasn* a *Scd1*, které obsahují LXREs a mohou být přímo regulovány LXR. (BOND, 2015)

Expresí LXR v játrech je aktivována inzulínem, a naopak zvyšuje nadbytek mRNA SREBP-1c a ChREBP. Navíc byla u zkoumaných myší lipogenní genová exprese zrušena po vstříknutí inzulínu LXR α/β double knockout myší. Mechanismus inzulínové aktivace LXR exprese je neznámý, ale může zahrnovat endogenní ligand pro LXR α/β nebo posttranskripční modifikaci. PUFA potlačuje LXR transkripční aktivitu inhibicí vazby oxysterolu. Jako reakční sloučeniny LXR se pravděpodobně vyskytují v promotorech *D6d*, *D5d* a *Elovl6*. Snížená exprese SREBP-1c a jeho cílových genů, jako jsou *Fasn* a *Scd1*, jsou detekovány u *Lxra*^{-/-} a *Lxra*^{-/-}/*Lxrβ*^{-/-} myší, ale ne u *Lxrβ*^{-/-} myší. Mezitím, antagonist LXR T0901317 podporuje jaterní expresi *Srebp1c*, *Fasn* a *Scd1* u divokého typu a *Lxrβ*^{-/-} myší, ale ne u *Lxra*^{-/-}/*Lxrβ*^{-/-} a *Lxra*^{-/-} myší, což je v souladu s kritickou rolí LXR α . (BOND, 2015)

2.3.3 Peroxime Proliferator Activated Receptors

PPAR jsou transkripční faktory patřící do super rodiny nukleárních receptorů. U savců byly identifikovány tři izoformy PPAR: PPAR α (NR1C1), PPAR β/δ (NR1C2) a PPAR γ (NR1C3) (AHMADIAN, Maryam, et al., 2013). Ačkoliv jsou si strukturně podobné a vykazují vysokou homologii v aminokyselinové sekvenci, jsou tyto tři izoformy rozdílně exprimovány mezi tkáněmi. PPAR α se bohatě vyskytuje v játrech, hnědé tukové tkáni, srdci a ledvinách. PPAR β/δ exprese probíhá v celém těle a PPAR γ exprese probíhá hlavně v tukové tkáni. (CHEN, 2014)

PPAR vykazují svou transkripční aktivitu, po heterodimerizaci s retinovým receptorem (RXR), vazbou DNA prostřednictvím interakce mezi DNA vazebnou doménou a cílovou sekvencí nazývanou PPAR reakční sloučeniny (PPRE). (BARQUISSAU, 2016) PPRE jsou přítomné na promotorech *SCD1* a *D6D*. (BOND, 2015) Aktivita PPAR-RXR heterodimeru reprezentuje permissivní transkripční model, kde ligandy kteréhokoliv receptoru aktivují transkripce cílových genů se synergickým účinkem, vyplývající z vazby ligandů na oba receptory. Transkripční aktivita PPAR je také regulována několika kofaktory (PGC-1 α) a koreceptory (NCoR). Posttranskripční modifikace jako jsou fosforylace, ubiquitylace a sumoylace ovlivňují aktivitu PPAR. Aktivita PPAR je vysoce závislá na komplexu mezi hladinou exprese PPAR izotypů, afinitou promotoru, ligandové a kofaktorové dostupnosti a vstupu signálních drah. (BARQUISSAU, 2016)

Indukce *SCD1* syntetickým PPAR α antagonistou Wy14643 byl maskován v játrech PPAR α nula myší. PUFA jsou považovány za jednoho z endogenních PPAR α ligandů. Nicméně, PUFA exprese lipogenních genů zahrnující *Scd1*, probíhající v játrech *Ppara*^{-/-} myší

demonstruje, že PUFA represe desaturáz není zprostředkována PPAR α . PPAR α také silně aktivuje D6D genovou expresi a má důležitou roli ve zpětné vazbě regulace syntézy vysoce nenasycených mastných kyselin. D6D mRNA nadbytek není zvýšen v játrech PPAR α nula myši, krmené stravou postrádající esenciální mastné kyseliny, ačkoliv nukleární SREBP-1c je zvýšený u *Ppara*^{-/-} a divokého typu myši. Role, kterou PPAR α má v regulaci elongáz nebyla ještě zjištěna. (BOND, 2015)

PPAR γ kontroluje expresi genů potřebných k udržování fenotypu zralých adipocytů, proto ztráta aktivity nebo exprese PPAR γ vede ke ztrátě funkce adipocytů. Inhibice adipocytů způsobená vypotřebením SCD2 byla spojena se snížením PPAR γ mRNA a proteinu. Nicméně, ve zralých adipocytech ztráta SCD2 jenom sníží úroveň PPAR γ proteinu. Nezdá se, že by SCD2 regulovala produkci PPAR γ ligandu, jelikož inhibice adipogeneze vypotřebením SCD2 nelze obnovit přidáním specifického ligandu pro PPAR γ . (BOND, 2015)

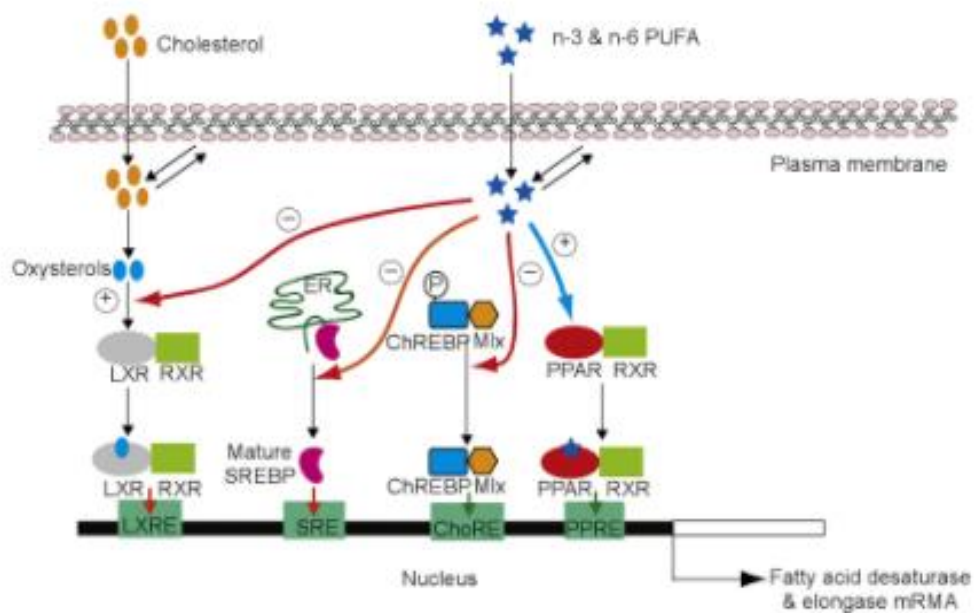
2.3.4 Carbohydrate Response Element Binding Protein

ChREBP patří mezi základní helix-loop-helix leucin zipper transkripční faktory a působí jako klíčový regulátor enzymů zapojených v syntéze mastných kyselin. V reakci na zvýšenou hladinu glukózy, ChREBP prochází defosforylačními krok, které umožňují translokaci z cytoplazmy do jádra, kde ve spojení s vazebným partnerem MLX (Max-like interacting protein) váže na uhlohydrát odpovídající skupiny lipogenních genů. (AIRLEY, 2014)

Byly identifikovány dvě izoformy ChREBP α a ChREBP β , které jsou přepsány z jednoho genu využitím alternativních promoterů. Aktivace ChREBP α vyvolává expresi silnějšího transkripčního faktoru ChREBP β . ChREBP je regulovaný na posttranskripční úrovni. Glukózový metabolismus stimuluje defosforylaci a následující nukleární translokaci ChREBP. ChREBP je také regulovaný na transkripční úrovni a je přímým cílem LXR a samotného ChREBP. Nicméně, aktivace zprostředkována glukózou je stále potřebná pro zvýšení genové exprese ChREBP k získání aktivního, nukleárního ChREBP. Ačkoli uhlohydrát s reakčními prvky (ChoRE) ještě nebyl identifikován v promotoru desaturáz a elongáz, SCD1 je pravděpodobný cíl ChREBP. U *Chrebp*^{-/-} myši je nadbytek SCD1 mRNA podstatně nižší než u divokého typu myši. Snížení exprese SCD1 se zdá být více přímým efektem ChREBP než SREBP-2, protože nebyl detekován žádný významný rozdíl v SREBP-1 nebo SREBP-2 expresi či zpracování. (BOND, 2015)

V poslední době se ukázalo, že PUFA potlačuje schopnost ChREBP aktivovat své cílové geny, jaterní pyruvát kinázu a syntázy mastných kyselin, snížením ChREBP mRNA stability a inhibicí ChREBP nukleární translokace. Dále, PUFA také snižuje expresi Max-like receptoru. Tato data ukazují, že nukleární hojnost ChREBP/Max-like receptorového komplexu pravděpodobně představuje PUFA zprostředkovanou represi desaturáz a elongáz. (BOND, 2015)

Ukázalo se, že inzulin také aktivuje ChREBP. ChREBP genový promotor zahrnuje Pit-1, Oct-1/Oct-2 a Unc-86 (POU) protein homeodomain navázaný v sekvenci (ATGCTAAT), v rámci proximální promotorové oblasti ChREBP genu. Navíc, aktivita promotoru ChREBP a endogenní ChREBP exprese jsou negativně regulovány POU protein homeodomanin octamer transkripční factor-1 (Oct-1). V kontrastu s touto negativní regulací se ukázalo, že inzulin stimuluje expresi ChREBP. Tento stimulační efekt inzulinu na ChREBP je závislý na přítomnosti POU vazebného místa pro protein v promotorové oblasti. Léčba inzulinem redukuje úroveň exprese Oct-1. (BOND, 2015) Přehled působení transkripčních faktorů je znázorněn v obrázku 5.



Obrázek 5: Transkripční regulace mastných kyselin desaturáz a elongáz. (BOND, 2015)

2.4 Hormonální regulace SCD1

2.4.1 Inzulín

Inzulín je silný aktivátor SCD1 transkripce. Sekvenční analýza SCD1 promotoru ukázala podobnost mezi kuřecí, myší a lidskou strukturou, odhalující přítomnost shodného vazebného místa pro transkripční faktory (SREBP-1c, C/EBP- α , NF-1 a NF-Y), které zprostředkovávají inzulínovou odpověď. Inzulínový efekt na SCD1 transkripci byl hlavně prostudován v tukové tkáni a jaterních buňkách. (MAUVOISIN, 2011)

3T3-L1 preadipocyt model byl použit pro studování regulace SCD1 exprese. 3T3-L1 může být diferencován do adipocytů 3-izobutyl-1-methylxantinem, dexamethasonem a silnou dávkou inzulínu. Zástava růstu preadipocytů byla poprvé popsána podle přechodného vzrůstu C/EBP- β exprese následovanou terminální diferenciací, kde transkripční faktory (C/EBP- α a SREBP-1c) jsou exprimovány. Jejich aktivace pak koordinuje expresi lipogenních genů, včetně SCD1, pro vytvoření a udržování fenotypu adipocytů. Na tomto systému Casimir a Ntambi ukázaly, že SCD1 exprese je vyvolaná v pozdní fázi tvorby adipocytů (když buňky začnou shromažďovat triglyceridy). V této pozdní fázi diferenciaci adipocytů, C/EBP- α může hrát důležitou roli v udržování inzulínové citlivosti. Ukázalo se, že slouží jako co-aktivátor transkripčního enzymu NF-1 na SCD1 promotor, který je nezbytný pro konstitutivní expresi SCD1 promotoru v těchto buňkách. Inzulín aktivuje transkripci mnoha genů pomocí transkripčního faktoru SREBP-1c. SREBP-1c je syntetizován jako prekurzor ukotvený v endoplazmatickém retikulu. Jeho export do Golgiho aparátu a štěpení vedou k uvolnění zralé formy, která je transportována do jádra, kde může přenášet signál inzulínu. Během 3T3-L1 buněčné diferenciaci, je SCD1 exprese zvýšena zřejmě jako reakce na inzulín. Tato transkripční aktivace požaduje přímé navázání SREBP-1c a NF-Y na SCD1 promotor. (MAUVOISIN, 2011)

Aktivace SCD1 exprese inzulínem probíhá také v játrech. Studie *in vivo* a co-transfekce ukázaly důležitost SREBP-1c v transkripční aktivaci SCD1 v této tkáni. Mauvoisin a kol. demonstrovali, že v hepatocytech kuřecího embrya a v HepG2 buňkách inzulín aktivuje SCD1 transkripci přes aktivaci PI3Kinasy (PI3K), Akt a mTOR dependentní signální dráhy, které se zaměřují na dva inzulínové reakční prvky (IREs) na SCD1 promotoru. Stejně jako v tukové tkáni, stimulace jaterních buněk inzulínem, vede ke zvýšení navázání transkripčních faktorů SREBP-1c a NF-Y na většinu 3' IRE. (MAUVOISIN, 2011)

2.4.2 Leptin

Leptin je hormon tukové buňky, který reguluje energetickou vyváženost *in vivo*. Studie ob/ob myši ukázala, že vstříknutí leptinu do centrálního nervového systému nebo podkoží vede k inhibici SCD1 exprese v játrech a tukové tkáni. Podobný efekt byl sledován při vstříknutí leptinu normální myši. Efekt leptinu vstříknutého do centrálního nervového systému naznačuje nepřímý hormonální efekt týkající se inhibice jaterní lipogeneze včetně SCD1 exprese. Nicméně v HepG2 buňkách, které exprimují leptinový receptor, bylo zjištěno snížení SCD1 exprese přímým snížením SCD1 genové transkripce, působením leptinu. Proto centrální a periferní akce leptinu mohou být komplementární s ohledem na SCD inhibici v játrech. Regulace SCD1 exprese leptinem je zvláště zajímavá, protože role inzulínu *in vivo* se zdá být podřízena leptinu. To můžeme vidět v játrech ob/ob myši, kde za přítomnosti inzulínu, leptin zachovává potlačující efekt SCD1 exprese, která byla nezávislá na SREBP-1c. V souladu s těmito poznatky, bylo zjištěno, že v HepG2 buňkách leptin inhibuje SCD1 transkripci zaměřením se na leptin reakční prvky (LepRE) na SCD1 promotoru. Tento LepRE je nezávislý na 3' IRE a je zaměřen Jak2-ERK1/2-p90RSK signální drahou. Leptin prostřednictvím této signalizační dráhy vede ke zvýšené vazbě transkripčních faktorů Sp1 a Ap-1 na LepRE. (MAUVOISIN, 2011)

Leptin také ruší vyvolávací efekt inzulínu na SCD1 expresi, což ukazuje na propojení mezi jejich signálními drahami. Také může narušit schopnost inzulínu aktivovat SCD1 genovou expresi narušením prvního kroku inzulínové signální kaskády jako je autofosforylace inzulínového receptoru nebo tyrosinová fosforylace inzulínových receptorových substrátů. Dále může regulovat SCD1 expresi na posttranskripční úrovni. To je ukázáno na zvýšení stability TIMP-1 a MMP-1 mRNA leptinem přes aktivaci p38 MAPK dráhy. Na SCD1 může působit přímým ovlivněním stability proteinu. Leptin umí také aktivovat STAT3 fosforylaci v jaterních buňkách. Jako příklad je exprese SREBP-1c promotoru, která je negativně regulována STAT3 v hepatocytech. Takto může leptin aktivací STAT3 snížit hladinu SREBP-1c a tím inhibovat účinek na SCD1 genový promotor. Kromě toho vede stimulace STAT3 exprese ke snížení exprese lipogenních genů. Tyto mechanismy vysvětlují dominantní efekt leptinu v porovnání s inzulínem na SCD1 genovou transkripci. Další hormony ovlivňující regulaci SCD1 jsou znázorněny v tabulce 1. (MAUVOISIN, 2011)

Tabulka 1: Regulace exprese SCD1 hormonů. (MAUVOISIN, 2011)

Efektor	Vliv na SCD1	Mechanismus
Inzulin	Aktivace	<ul style="list-style-type: none"> ↑ SREBP-1c exprese ↑ NF-1 vazby ↑ PI3K-mTor dráhy ↑ NF-κB, SREBP-1c vazby
Leptin	Inhibice	<ul style="list-style-type: none"> ↑ Jak2-ERK1/2-p90RSK dráhy ↑ Sp1; AP-1 vazby
Leptin	Inhibice	<ul style="list-style-type: none"> ↓ Inzulinový efekt ↓ Inzulinová signalizace ↑ Jak2-STAT3 → ↓ SREBP-1c ↓ mRNA, stabilita proteinu
GH	Aktivace	<ul style="list-style-type: none"> ↑ SREBP-1c exprese
Růstové faktory (PDGF, EGF, KGF, FGF)	Aktivace	<ul style="list-style-type: none"> ↑ PI3K dráhy ↑ SREBP exprese a aktivace
TGF- β	Aktivace	Smad dráha
Androgen	Aktivace	
Ghrelin	Aktivace	
Estrogen	Inhibice	<ul style="list-style-type: none"> ↓ SREBP-1c (tuková tkáň) ↑ STAT3 (játra)
Glukagon	Inhibice	<ul style="list-style-type: none"> Transkripční efekt ↓ Inzulinový transkripční efekt
DHEA	Inhibice	
T3	Inhibice	Genomový efekt → cíl T3 response element
T3	Inhibice	Negenomový efekt → via ERK1/2 MAPK dráha
Amylin	Inhibice	Působí synergicky s leptínem

2.5 Nutriční regulace SCD1

2.5.1 Polynenasycené mastné kyseliny

Obě $n - 3$ a $n - 6$ řady byly popsány jako silný inhibitor SCD1 genové exprese. Tato regulace může být důležitá pro regulaci sekrece VLDL, protože většina mastných kyselin syntetizovaných *de novo* v játrech je přeměněna na triglyceridy, které jsou hlavní složkou VLDL. Kyselina dokosaheptaenová (DHA), arachidonová (AA), eikosapentaenová (EPA) a konjugovaná kyselina linolová (CLA) byly identifikovány jako inhibitory. Vliv CLA na SCD1 transkripci je odlišný při různých izomerech (trans-10, cis-12 vs. Cis-9, trans-11). Inkubací H2.35 buněk s cis-9 a trans-11 CLA izoformou nedojde ke zmenšení úrovně SCD1 mRNA, zatímco ve směsi obsahující obě izoformy dochází k velkému snížení SCD1 mRNA. CLA inhibuje SCD1 transkripci u myši a skotu. U člověka k tomuto efektu dochází hlavně posttranskripčně. Oblast zodpovědná za zprostředkovávání PUFA efektu byla nalezena na SCD1 promotoru. Tato oblast obsahuje IRE, který váže SREBP-1c, NF-Y a vazebné místo pro PPARs. Překvapivě byly PUFA popsány jako přírodní ligandy pro PPAR- α a PPAR- γ . Nicméně, Miller a Ntambi prokázali, že zatímco AA inhibuje SCD1 genovou expresi, klofibrát, antagonist PPAR- α , zvyšuje úroveň SCD1 mRNA. CLA a DHA aktivují ERK1/2 MAPK signální dráhu v tukové tkáni. PUFA v ostatních buňkách jako jsou Caco-2, MCF-7 a lidské T-buňky mají podobný efekt na ERK1/2 fosforylaci. Proto PUFA mohou inhibovat SCD1 gen transkripci přímou aktivací ERK1/2 MAPK signální dráhy. (MAUVOISIN, 2011)

PUFA také mohou modulovat SCD1 genovou expresi prostřednictvím přímého vlivu na SREBP-1c. Proto PUFA užívají několik molekulárních mechanismů pro snížení jaderného nadbytku SREBP-1c. Řady $n - 3$ a $n - 6$ snižují úroveň SREBP-1c mRNA inhibicí navázáním LXR transkripčního faktoru na SREBP-1c promotor. Tato inhibice zahrnuje aktivaci PPAR- α vedoucí k redukci tvorby LXR/RXR komplexu na SREBP-1c promotor. V játrech bylo prokázáno, že inzulin aktivuje SREBP-1 genovou expresi přes aktivaci PI3K-Akt signální dráhy. PUFA mohou inhibovat inzulinem vyvolanou Akt fosforylaci, což vede ke snížení SREBP-1 genové exprese. PUFA mohou snížit navázání NF-Y na SCD1 promotor, ale na rozdíl od SREBP-1c nemění jaderný obsah NF-Y. (MAUVOISIN, 2011)

LXR reakční sloučenina byla charakterizována studií myšičího SCD1 promotoru a transfekce provedené v HepG2 buňkách prokázala, že SCD1 promotor je přímý cíl pro LXR. Proto jak je popsáno pro SREBP-1c promotor, PUFA může soupeřit s LXR ligandy

vedoucí ke snížení navázání na SCD1 promotor. Z toho důvodu mohou inhibovat SCD1 transkripci. (MAUVOISIN, 2011)

2.5.2 Sacharidy

Mnoho sacharidů je zapojeno do aktivace SCD1 genové exprese. Krmením myši po dva dny stravou obsahující 55 % sacharózy dochází k dramatickému zvýšení SCD1 a SREBP-1 mRNA exprese. Nicméně krmení krys delší čas (jeden měsíc) stravou s velkým obsahem sacharózy neukázalo zvýšení SCD1 exprese. Překvapivě po osmi měsících stravy bohaté

na sacharózu, SCD1 mRNA exprese silně klesá, zatímco enzymatická aktivita syntázy mastných kyselin a malic enzymu stoupají. Účinek glukózy nebo fruktózy na SCD1 mRNA expresi u myši krmené dva až sedm dní těmito sacharidy se zdá být závislý, ale i nezávislý na SREBP-1c. Zatím ještě nebyl určen přesný molekulární mechanismus sacharidů ovlivňujících SCD1 genovou expresi, ale strava o vysokém obsahu sacharidů *in vivo* se projevuje jako silný aktivátor pro inzulínovou sekreci. Další živiny ovlivňující regulaci SCD1 jsou znázorněny v tabulce 2. (MAUVOISIN, 2011)

Tabulka 2: Regulace exprese SCD1 živinami. (MAUVOISIN, 2011)

Efektor	Vliv na SCD1	Mechanismus
ALA, DHA, AA, EPA, CLA (trans-10, cis-12)	Inhibice	↓ nSREBP-1c
AA, EPA (PUFA)	Inhibice	↓ NF-Y vazby
(PUFA)	Inhibice	↓ LXR vazby
(PUFA)	Inhibice	↑ ERK1/2 fosforylace
Glukóza, fruktóza	Aktivace	SREBP-1c závislý a nezávislý ChREBP
Sacharóza	Aktivace	
Sacharóza	Aktivace	↑ Inzulínový efekt (SREBP-1, NF-Y, LXR)
Nasyčené mastné kyseliny	Aktivace	↑ SREBP-1c exprese ↑ PGC-1 β exprese ↑ LXR α
Cholesterol	Aktivace	LXR α
PPAR	Aktivace	↑ LXR α → ↑ SREBP-1c
Vitamín A (kyselina retinová)	Aktivace	RAR/RXR

2.6 Role SCD1 v syntéze lipidů

De novo lipogeneze (DNL) a aktivita SCD se zdají být úzce propojeny. SFA, substráty pro SCD, jsou endogenně syntetizovány (DNL) nebo jsou přijímány stravou. Jsou důkazy, které naznačují, že mastné kyseliny odvozené od DNL jsou přednostně směřovány do drah elongace a desaturace v adipocytech a hepatocytech. Kromě toho dochází k paralelní pozitivní regulaci exprese genů zapojených do DNL, elongace a desaturace mastných kyselin, což naznačuje koordinovanou kontrolu exprese. Paralelní aktivace hepatické DNL a desaturace mastných kyselin byla zjištěna po stravě obsahující velké množství sacharidů. V experimentálním prostředí byla pěti mužům podávána strava, která měla přibližně 2,5krát vyšší denní energetickou spotřebu po dobu čtyř dní a byla složena z 90 % sacharidů. Výsledkem byla zvýšená rychlost VLDL-TAG sekrece de novo syntetizovaných 16:0 z 3,2 na 150 $\mu\text{mol/kg/den}$. Přestože syntéza de novo 16:1 n-7 nebyla měřena, poměr VLDL-TAG se zvýšil z výchozí hodnoty 3,8 % na 10 % během čtyř dnů. (HODSON, 2013)

Bylo prokázáno, že myši s cílenou poruchou SCD1 genu, mají nízkou hladinu VLDL, která není obnovena podáváním MUFA. Na základě těchto zjištění bylo navrženo, že de novo syntetizované MUFA jsou nezbytné pro produkci TAG. Nicméně v lidském modelu, kde byly MUFA ve velkém množství v potravě, endogenní syntéza nemusí být tak kritická. Předpokládá se tedy, že SCD přímo neovlivňuje produkci TAG, ale spíše působí nepřímo regulací syntézy mastných kyselin. SCD tedy nepřímo ovlivňuje sekreci lipoproteinu regulováním množství a typu mastných kyselin dostupných pro syntézu TAG. (HODSON, 2013)

Konečným krokem v syntéze TAG je přidání třetího acylového řetězce k diacylglycerolu (DAG), který je katalyzován acyl-koenzym A: diacylglycerol acyltransferázou (DGAT). Existují dva DGAT geny, DGAT1 a DGAT2, které na základě jejich předpokládané subcelulární lokalizace je DGAT2 především zaměřena na ER. Na základě tohoto poznatku Man a kol. použili HeLa a primární jaterní buňky z myši, k demonstraci toho, že SCD1 a DGAT byly přítomny v mitochondriální membránové oblasti ER. Nadměrná exprese SCD1, DGAT2 nebo obou, zvýšila akumulaci TAG, která byla největší v buňkách koexpresujících jak SCD1, tak DGAT2. Imunofluorescenční konfokální mikroskopie ukázala rozsáhlou ko-lokalizaci SCD1 a DGAT2, která poskytuje důkaz o těsné blízkosti v ER. Palmitát a stearát ze stravy nebo syntetizovaný de novo jsou desaturovány SCD1 a směřovány do DGAT pro konečný krok v syntéze TAG v ER, toto úzké propojení zvyšuje efektivitu syntézy TAG. (HODSON, 2013)

2.7 Desaturázy mastných kyselin

Pravděpodobně nejzákladnější klasifikace desaturáz mastných kyselin je založena na subcelulárním umístění, které dělí desaturázy mastných kyselin do dvou skupin: rozpustné desaturázy a desaturázy navázané na membránu, které spolu fylogeneticky nesouvisejí. Pouze rozpustná desaturáza je acyl-acylový proteinový nosič (ACP) nebo stearoyl-ACP desaturáza, nacházející se jenom na stromě rostlinných plastidů, která zodpovídá za produkci kyseliny olejové (18:1 n-9) z kyseliny stearové (18:0). Naproti tomu desaturázy navázané na membránu jsou všudypřítomné v eukaryotech a bakteriích a jsou charakteristické třemi histidinovými boxy, které obsahují osm histidinových zbytků. (CASTRO, 2016)

Na základě jejich regiosektivity a sekvenční homologie se membránové desaturázy dělí na další skupiny. Front-end (FE) desaturázy jsou schopny zavést uhlík-uhlík dvojnou vazbu do nenasycených lipidových substrátů na pozici mezi existující dvojnou vazbu a terminální karboxylovou skupinu. Bylo zjištěno, že různá substrátová preference front-end desaturáz je základní příčinou substrátové dichotomie úzkého úseku v dráze biosyntézy ω 3 LCPUFA. To je způsobeno tím, že některé Δ 6 desaturázy používají acyl-PC substráty, zatímco elongázy v dalším kroku využívají acyl-CoA. Proto pro acyl-PC specifické Δ 6 desaturázy se produkt Δ 6 desaturace převádí na acyl-CoA molekulu acyltransferázou, která omezuje metabolický tok v rekombinantní dráze biosyntézy ω 3-LCPUFA u rostlin. First desaturázy (FD) katalyzují tvorbu první C=C vazby v poloze Δ 9 acylové skupiny. Předpokládalo se, že Δ 9 desaturázy jsou nejstarší desaturázy z těchto tří skupin kvůli jejich všeobecné distribuci v organismu. FD využívají acyl-CoA substráty, výjimkou jsou FD rostlinných plastid. Methyl-end (ME) desaturázy jsou zodpovědné za zavedení C=C vazby mezi existující C=C a methylový konec acylové skupiny. ME využívají PL substráty. Δ 4 sfingolipidové desaturázy (Δ 4-SPs) jsou důležité pro buněčnou signalizaci. (LI, 2016)

Membránové FADS jsou různorodou proteinovou rodinou, která zahrnuje řadu lipidových substrátů včetně acyl-CoA, sfingolipidů (SP), fosfolipidů (PL) a galaktolipidů (GL). Acylové řetězce těchto substrátů mohou být podobné, ale head-groups těchto lipidů se liší a přispívají k různým fyziologickým rolím například acyl-ACP jsou důležitými meziprodukty pro řadu různých metabolických drah jako je biosyntéza lipidů, kde PL a GL nejsou jen důležitými strukturálními lipidy, ale také mají nezbytnou roli v různých buněčných signálních drah. Monogalaktosyl diacylglycerol (MGDG) je typ bez fosforového strukturálního glycerolipidu, který se hojně vyskytuje v buněčných membránách fotosyntetických organismů. Podobně, SP jsou strukturální lipidy, jejichž role v regulaci

buněčných procesů, jako je apoptóza, buněčná migrace a tolerance vůči nízké teplotě, činí tuto třídu lipidů zvláště důležitou. Acyl-CoA substráty často působí na lipid-modifikující enzymy jako jsou desaturázy, elongázy a acyltransferázy. Acyl-CoA substráty jsou zejména důležité pro produkci neobvyklých lipidů (kyseliny dokosahexaenová a eikosapentaénová. (LI, 2016).

Substrátová selektivita a regioselektivita (pozice dvojná vazba) membránových FADS je z velké části určena interakcí mezi enzymy a lipidovými head-group. Struktura stearyl-CoA desaturáz odhaluje interakci mezi lipidovými substráty a membránovými FADS. Hydrofilní head-group substrátu CoA vytváří elektrostatické interakce a vodíkové vazby se zbytky v cytoplazmatické doméně a transmembránové šroubovici (TM) 1 desaturáz a orientuje acylovou skupinu do dlouhého hydrofobního tunelu s cílovým uhlíkem přítomným na di-metal aktivním místě. Acylová skupina je obklopena hydrofobními zbytky v dutině vázající substrát zahrnující W262 na TM4, který drží substrát v místě pro $\Delta 9$ desaturaci. Nicméně substrát vázající mechanismy desaturáz, které nejsou specifické pro acyl-CoA jsou stále nejasně popsány. Studie výměny domén (domain-swapping) mezi acyl-fosfatidylcholin specifickou $\Delta 6$ desaturázou a sfingolipidovou $\Delta 8$ desaturázou získanou z *Borage officinalis* zjistila, že TM šroubovice desaturáz hraje nezbytnou roli v rozlišení head-groups. Neexistuje však dostatek strukturálních dat pro identifikaci specifických rolí pro funkčně důležité zbytky ve vazbě substrátů nebo k popisu přesného mechanismu pro vazbu substrátu acyl-PC specifický a sfingolipid specifický FADS. (LI, 2016).

Savci exprimují desaturázy $\Delta 6$ a $\Delta 5$ se schopností desaturovat na $\Delta 6$ a $\Delta 5$ pozicích substrátů PUFA. U lidí jsou enzymy $\Delta 6$ a $\Delta 5$ desaturázy kódovány geny FADS1 a FADS2 v příslušném pořadí. Tyto geny jsou uspořádány do 26 pevných fyzických shluků na chromozomu 11. Castro a kol. také identifikovali čtvrtou sekvenci Fads genu (Fads4), vyskytující se na vzdáleném genomovém místě shluku FADS1/FADS2/FADS3 genu u myši. Porovnáním sekvencí známých $\Delta 6$ desaturáz kyanobakterií a rostlin, byly charakterizovány celé řetězce cDNA pro $\Delta 6$ desaturázy savců, včetně lidské, myší a krysí desaturázy. Funkční charakterizace prokázala, že C18 PUFA, 18:3n-3 a 18:2n-6 jsou adekvátní substráty pro savčí $\Delta 6$ desaturázy a následně bylo dokázáno, že lidská a krysí $\Delta 6$ desaturáza má schopnost desaturovat 24:5n-3 v $\Delta 6$ pozici. Zatímco nedávný objev $\Delta 4$ aktivity lidského FADS2 poskytuje alternativní a přímou dráhu pro biosyntézu DHA. Historicky je uznána DHA produkce, které je dosaženo prostřednictvím Sprecher dráhy. Tím pádem FADS2 zprostředkovává desaturaci 24:5n-3 na 24:6n-2, který je poté translokován na peroxizomy

pro zkrácení řetězce částečnou β -oxidací. To dělá biosyntézu DHA cestou Sprecher poněkud neefektivní, a proto jsou $\Delta 6$ desaturázy považovány za celkový rychlost omezující faktor v biosyntetické cestě LC-PUFA savců. $\Delta 5$ desaturázy na rozdíl od $\Delta 6$ desaturáz pracují v jediném kroku dráhy, přeměňující 20:4n-3 na EPA v sérii n-3 a 20:3n-6 na AA v sérii n-6. Několik savčích $\Delta 5$ FADS1 desaturačních genů bylo charakterizováno u lidí, myši a krys. Je zajímavé, že nekódující RNA geny, které jsou přepsány z opačného řetězce savčího genu FADS1, byly později objeveny u myši, krys a lidí. Bylo zjištěno, že takové reversní $\Delta 5$ desaturázy regulují expresi a enzymatickou aktivitu krysího FADS1. FADS2 může také pracovat jako $\Delta 8$ desaturáza, a proto PUFA substráty jako 20:3n-3 a 20:2n-6 mohou být desaturovány na 20:4n-3 a 20:3n-6 v uvedeném pořadí a jsou začleněny do dráhy pro další $\Delta 5$ desaturaci. (CASTRO, 2016) Přestože FADS a SCD sdílejí některé společné znaky, včetně transmembránové oblasti a přítomnosti histidin bohatých domén, existují mezi nimi jasné fylogenetické rozdíly. Clarke a kol. zjistili, že $\Delta 6$ desaturáza obsahuje N-terminální oblast, která je homologní s cytochromem b5. Na základě tohoto pozorování navrhli, že NADH - cytochrom b5 reduktázy, přenášejí elektron potřebný pro $\Delta 6$ desaturázu přímo na katalytické místo tohoto enzymu, bez zapojení cytochromu b5. V souladu s touto hypotézou bylo zjištěno, že krysí FADS2 se v savčích buňkách zaměřuje na endoplazmatické retikulum, kde dochází k fyzické interakci s NADH – cytochromem b5 reduktázou. Dále, když je exprimována v kvasinkách, které postrádají cytochrom b5, je stále aktivní. (GUILLOU, 2010)

2.8 Stanovení aktivity desaturáz

Aktivita desaturáz se stanovuje pomocí desaturačních indexů. Pro stanovení aktivity desaturáz se používají SCD-16 (C16:1/C16:0), SCD-18 (C18:1n-9/C18:0), D6D (C18:3n-6/C18:2n-6) a D5D (C20:4/C20:3n-6). Vzorek odebraný na lačno je zmrazený na $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po extrakci lipidů podle Folcha a kol., jsou lipidové třídy separovány extrakcí v pevné fázi. (RISÉRUS, 2005). Mnoho studií vyžaduje metody, které ji umožní oddělení jednotlivých tříd od plazmatických proteinů. K separaci plazmových lipidů se využívá tenkovrstvá chromatografie (TLC), ale tato metody je poměrně pomalá, produkuje nízké zpětné získávání lipidů a může způsobit oxidaci PUFA v důsledku dlouhotrvajícího vystavení vzduchu. Extrakce pevné fáze sloupcovou chromatografií představuje alternativu TLC pro izolaci tříd plazmatických lipidů. Sloupcová chromatografie může zpracovávat až dvacet

vzorků. (BURDGE, 2000) Pro zjištění složení mastných kyselin se využívá plynové chromatografie. (RISÉRUS, 2005).

2.8.1 Tenkovrstvá chromatografie

TLC je alternativní formát pro kapalinovou chromatografii. Stacionální fáze se skládá ze sorbentového lůžka obsahující homogenně zabalené částice nebo porézního monolitu. Pohyb mobilní fáze přes sorbentová lůžka je kontrován kapilárními silami. Pro rychlejší separaci je potřeba zvýšit rychlost mobilní fáze. (POOLE, 2014) V nedávné době se zvýšil zájem o ionizační techniky přímé analýzy v reálném čase (DART) a desorbční ionizace elektrosprejem (DESI), díky jejich jednoduchosti a přímého uplatnění na existujících platformách hmotnostní spektrometrie. Povrch skoro každého materiálu může být zkoumán přímo na atmosférickém tlaku bez velké přípravy vzorku. Toho lze využít i u desky TLC. Dříve se sloučeniny musely odstranit z desky TLC před analýzou hmotnostní spektrometrie a extrahovaly se do vhodného rozpouštědla. Přímá analýza TLC-DESI nebo TLC-DART zabraňuje velkému množství nevýhod vyplívající z manuálních postupů přenosu vzorku, hlavně časově náročné přípravě vzorků a problémů s reprodukovatelností a obnovou sloučenin z TLC destiček. TLC-DART-MS se například využívá pro analýzu pesticidů a drog. Pro analýzu peptidů, proteinů a lipidů se využívala TLC-DESI-MS v jednorozměrných a dvojrozměrných formátech. Zejména byly třídy lipidů prostorově odděleny dvourozměrným vysoce výkonnými TLC (HPTLC) využívající nano-křemičité desky. (MIRABELLI, 2015)

2.8.2 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie patří mezi metody, které separují složek směsi těkavých sloučenin. Nejčastěji se využívá k identifikaci a určení kvantity jednotlivých komponent vzorku ve směsi. Významnou částí aparatury pro plynovou chromatografii je kolona, která obsahuje absorbent. Nejběžněji se v plynové chromatografii využívá eluční metoda, kdy proud inertního plynu plynule prochází kolonou a směs se začíná separovat okamžitě na začátku kolony. Za předpokladu, že se vzorek skládá z jedné čisté komponenty, je po zavedení do aparatury převeden do plynného stavu, pokud byl v kapalně formě, a poté je přenášen nosným plynem kolonou. Vzorek v koloně je z větší části adsorbován, ale mezi kolonou a plynem v meziprostorech kolony je ustavena rovnováha. Proto část vzorku zůstává v plynné fázi a pohybuje se o něco dále v koloně proudem nosného plynu, kde se opět ustanoví rovnováha s kolonou. Ve stejný čas látka, již adsorbovaná v koloně, se uvolňuje zpět

do plynné fáze, tak aby byla obnovena rovnováha s čistým nosným plynem, který proudí kolonou po aplikaci vzorku. Pokud vzorek obsahuje dvě a více složek, které se obvykle chová nezávisle na ostatních, proto za daného průtoku nosného plynu, bude rychlost každé složky záviset na adsorbci, mohou být tedy separovány pomocí rozdílných rychlostí složek kolonou. (LITTLEWOOD, 2013)

Mastné kyseliny jsou rutinně kvantifikovány plynovou chromatografií s plamenovou ionizační detekcí (GC-FID). Tato technika je nedílnou součástí charakterizace pravosti a nutriční hodnoty potravin. Po zjištění, že PUFA s dlouhým řetězcem mají přímý vliv na zdraví člověka, se řada studií zaměřila na účinky modulace vzorku PUFA v krvi a tkáních v reakci na výživu. (OSTERMANN, 2014)

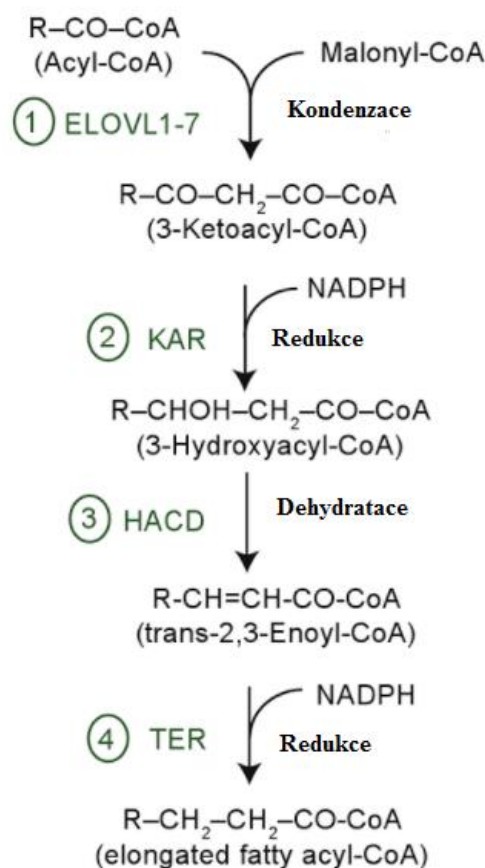
3 Elongázy

Elongace mastných kyselin probíhá ve třech buněčných kompartmentech: cytosolu, mitochondrii a endoplazmatickém retikulu (mikrosomech). V cytosolu je elongace mastných kyselin součástí *de novo* lipogeneze a zahrnuje acetyl-CoA karboxylázu a syntázu mastných kyselin. Syntáza mastných kyselin využívá acetyl-CoA a malonyl-CoA pro prodloužení mastných kyselin o dva uhlíky. Primárním konečným produktem *de novo* lipogeneze je palmitát (16:0) a v menší míře myristát (14:0) a stearát (18:0). Elongace mastných kyselin probíhá také v mitochondrii, kde využívá jako substrát enoyl-CoA reduktázu, acetyl-CoA a fatty acyl-CoA. Tato dráha má minoritní význam pro elongaci mastných kyselin v eukaryotických buňkách. Mikrozosomální elongace je naopak považovaná za dominantní pro mastné kyseliny, které obsahují dvanáct a více uhlíků. Využívá mastné kyseliny odvozené z endogenní dráhy, jako je *de novo* lipogeneze, stejně jako exogenní mastné kyseliny získané ze stravy. (JUMP, 2009)

Mikrozosomální elongace využívá čtyři enzymy, fatty acyl-CoA (JUMP, 2009) a malonyl-CoA jako dárce a NADPH jako redukční činidlo (GUILLE, 2010). Tato elongace mastných kyselin zahrnuje čtyři enzymatické reakce (Obrázek 6). V prvním kroku malonyl-CoA řídí tvorbu 3-ketoacyl-CoA katalyzovanou jednou ze sedmi elongáz (ELOVL1-7). V druhé reakci je 3-ketoacyl-CoA redukován na 3-hydroxyacyl-CoA. Tato reakce požaduje NADPH a je splněna (vykonána) 3-ketoacyl-CoA reduktázou, která je kódována HSD17B12. Ve třetím kroku je 3-hydroxyacyl-CoA dehydratován na trans-2,3-enoyl-CoA prostřednictvím 3-hydroxyacyl-CoA dehydratázy. Poslední reakcí je trans-2,3-enoyl-CoA redukován na fatty acyl-CoA trans-2,3-enoyl-CoA reduktázou, tato reakce také vyžaduje NADPH. Výsledkem je ester fatty acyl-CoA, který je prodloužen o dva atomy uhlíku a může být dále prodloužen následujícími elongačními cykly. (SCHACKMANN, 2015) Obě reduktázy, 3-ketoacyl-CoA reduktáza a trans-2,3-enoyl-CoA reduktáza, byly klonovány u člověka, myši a kvasinek. Naopak dehydratázy ještě klonovány nebyly. (JUMP, 2009)

U savců je počáteční kondenzace katalyzována enzymy označované jako elongázy mastných kyselin o velmi dlouhém řetězci (ELOVL). Zatím bylo identifikováno sedm ELOLV proteinů (ELOVL 1-7). Všechny ELOVL proteiny obsahují několik úseků aminokyselin, které jsou plně zachovány u myši, potkanů a lidí. Denic a Weissmann ve své studii prokázali, že katalýza kondenzační reakce probíhá na cytosolové straně membrány

endoplazmatického retikula a délka řetězce konečného produktu je určena podle lysinového zbytku na lumenální straně. Změnou vzdálenosti mezi aktivním místem a juxta-lumenálním lysinem o jedno otočení šroubovice v čase se podařilo zvýšit délku řetězce konečného produktu o čtyři atomy uhlíku. (GUILLOU, 2010)



Obrázek 6: Mikrosomální elongace. (BOND, 2015)

3.1 Izoformy elongáz mastných kyselin o velmi dlouhém řetězci

ELOVL1, ELOVL3, ELOVL6 a ELOVL7 preferují jako substráty nasycené a mononenasyčené mastné kyseliny, naopak ELOVL2, ELOVL4 a ELOVL5 využívají jako substráty PUFA. Elov1 geny vykazují dramaticky odlišné profily exprese napříč různými tkáněmi na úrovni transkripce. Myší *Elov11*, *Elov15* a *Elov16* jsou všudypřítomně exprimovány, zatímco *Elov12*, *Elov13*, *Elov14* a *Elov17* vykazují tkáňově-specifické vzory, které mohou souviset se specifickými nároky na syntetizované mastné kyseliny různými elongázami. (XUE, 2014)

ELOVL1 je všudypřítomně exprimována a k vysoké expresi dochází v žaludku, plicích, ledvinách, kůži a střevě myši. (BHANDARI, 2016) ELOVL1 je nejúčinnější

elongázou pro C22:0, C24:0 a C26:0. ELOVL1 se podílí na produkci C24 sfingolipidů u kvasinek a savců, a je zapletená v syntéze nasycených a mononenasycených C24 sfingolipidů. Savčí buňky obsahují velké množství sfingolipidů s C16:0, C24:0 nebo C24:1 FA a ELOVL1 je hlavní FA elongáza, která zprostředkovává produkci sfingolipidů. Ohon a kol. uvádí, že aktivita ELOVL1 závisí na expresi ceramidové syntázy 2 (CerS2) a naopak. ELOVL1 může tvořit komplexy s jinými příbuznými bílkovinám, které mají elongační funkci. Nedávná studie prokázala, že kyseliny olejová a eruková mohou u člověka inhibovat ELOVL1 a snížit hladinu sfingomyelinu s nasycenou mastnou kyselinou s velmi dlouhým řetězcem. Nicméně regulační mechanismy ELOVL1 exprese zůstávají neznámé. (WANG, 2015)

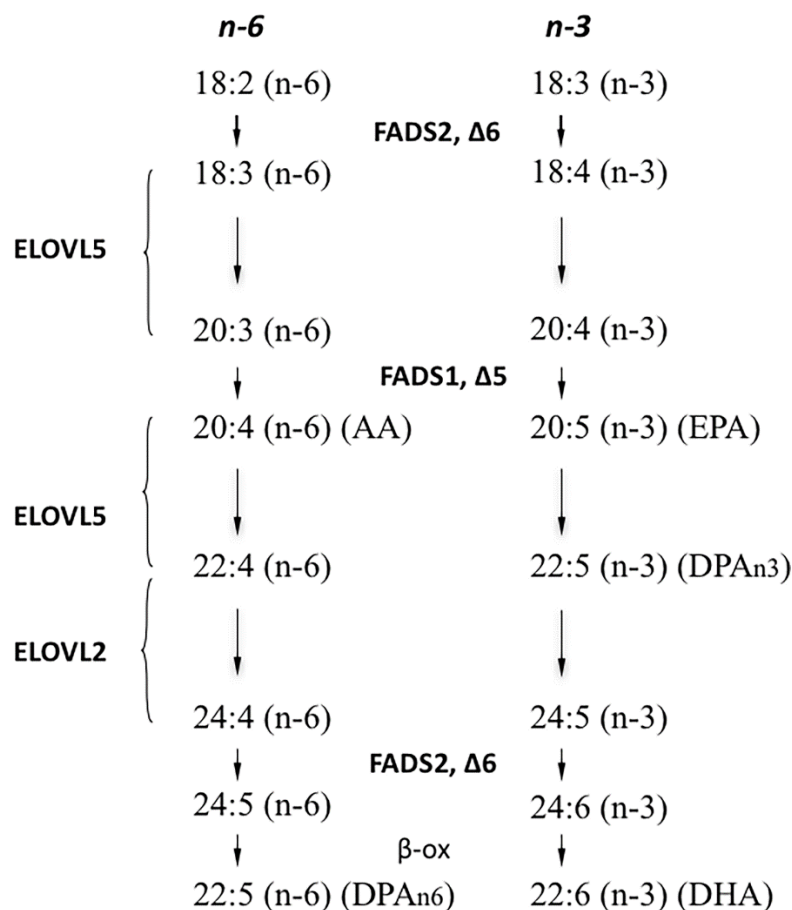
ELOVL3 je glykoprotein a první elongázou, která byla identifikována u savců. ELOVL3 je exprimována v bílé tukové tkáni, kůži a játrech. Tento enzym prodlužuje SFA a MUFA obsahující až 24 uhlíků. Fyziologická role ELOVL3 byla studována na myších modelech s cíleným narušením ELOVL3. Na myši s nedostatkem ELOVL3 byla prokázána snížená aktivita elongace C16-C22 nasycených acyl-CoA po krátkém (3 dny) vystavení chladu. Nejvíce nápadná dysfunkce je patrná v kůži *Elovl3^{-/-}* myši. ELOVL3 je exprimována v sebocytech mazové žlázy, která produkuje mazivo a kožní maz, následkem toho *Elovl3^{-/-}* myši mají řídkou srst s hyperplastickou mazovou žlázou. Dále vadné odpuzování vody a strukturální abnormality v kožní bariéře jsou přítomny u *Elovl3^{-/-}* myši, signalizují důležitou roli FA s dlouhým řetězcem ve funkci kůže a srsti, stejně jako tvorbě bariéry kůže. *Elovl3^{-/-}* myši hromadí kyselinu gondovou (20:1n9) v neutrálních lipidech srsti, což naznačuje, že gondonyl-CoA je upřednostňovaný substrát pro ELOVL3. (BOND, 2015)

U savců vyžaduje syntéza PUFA s velmi dlouhým řetězcem zásobu esenciálních prekurzorů řady omega-6 (kyselina linolová, C18:2n-6) a omega-3 (kyselina α -linolová, C18:3n-3). Biosyntéza PUFA řady n-3 a n-6 se dosahuje elongačními a desaturačními kroky prostřednictvím FADS1 a FADS2 a ELOVL2, ELOVL4 a ELOVL5. (PAUTER, 2014) ELOVL4 se podílí na biosyntéze mastných kyselin s velmi dlouhým řetězcem (VLCFA) s délkou řetězce ≥ 24 atomů uhlíku. Bylo zjištěno, že ELOVL4 je aktivní jak v elongaci VLCFA, tak v biosyntéze polynenasycených VLC-PUFA. Nejprve bylo zjištěno, že heterozygotní mutace ELOVL4 genu je zodpovědná za dominantní formu makulární dystrofie podobné Stargardtu (STGD3). Pacienti s heterozygotní ELOVL4 mutacemi vykazují makulární degeneraci, která pravděpodobně souvisí s nedostatkem lipidů obsahující VLCFA v sítnici. Nedávno Aldahmesh a kol. ukázali u dvou dětí recesivní mutace ELOVL4 genu,

kteře způsobily vrozenou ichtyózu s hlubokým neurologickým fenotypem a spastickou kvadruparézou. (MIR, 2014). ELOVL5 je zapojen do elongace 18- a 20-uhlíkových PUFA (Obrázek 7) substrátů, zatímco ELOVL2 a ELOVL4 prodlužují C20-C24 a C26-C34 PUFA dle pořadí. ELOVL5, FADS1 a FADS2 jsou exprimovány v určité míře ve všech testovaných tkáních, hladina ELOVL2 je významná u jater, varlat, dělohy, placenty, mléčné žlázy, sítnici a některých oblastí mozku, všechny tyto tkáně jsou bohaté na DHA. Na rozdíl od varlete a sítnice jsou PUFA delší než C24 téměř nezjistitelné v játrech, a to hlavně kvůli nízké hladině exprese ELOVL4, zatímco PUFA do C22 jsou bohaté jak na fosfolipidy, tak na TAG z hepatocytů. Předpokládá se, že aktivita ELOVL5 působí na mnohé dráhy regulující složení jaterních lipidů a sacharidů u savců, zatímco role ELOVL2 v játrech je neznámá. (PAUTER, 2014)

ELOVL6 (LCE/FACE) je lipogenní enzym a byl identifikován jako cíl SREBP-1, pomocí mikroskopické analýzy transgenických myši. ELOVL6 vykazuje aktivitu fatty acyl-CoA elongázy specifickou pro dlouhé řetězce (C12-C16 nasycené a mononasyčené mastné kyseliny) a je důležitá pro složení tkáňových mastných kyselin. Analýzy myši postrádající ELOVL6 demonstrovaly, že jaterní ELOVL6 hraje významnou roli v obezitě zahrnující inzulinovou rezistenci. (KUMADAKI, 2008) ELOVL6 je nezbytná pro syntézu C18 mastných kyselin, která specifickou aktivitou přeměňuje C16 nasycené a mononenasyčené kyseliny na C18 FA. ELOVL6 je u myši všudypřítomně exprimována, zejména v tkáních s vysokým obsahem lipidů jako je hnědá/bílá tuková tkáň, játra a mozek. Funkční testy prokázaly, že nedostatek ELOVL6 u myši chrání proti metabolickým onemocněním jako je inzulinová rezistence a nealkoholická steatohepatitida. Naopak nadměrná exprese myších ELOVL6 vyvolává nádorová onemocnění (rakovina prsou, cystická fibróza, plicní fibróza a karcinom plicních buněk). ELOVL6 také reguluje termogenní kapacitu v hnědé tukové tkáni. Pokusy využívající molekulární biologické techniky poskytly nové poznatky o transkripční regulaci ELOVL6. Přímé důkazy prokázaly, že jaterní exprese ELOVL6 u myši byla regulována SREBF1 prostřednictvím SREBF1 vazebných míst (SRE) přítomných v promotoru ELOVL6. Dále chromatinové imunoprecipitační testy (ChIP assay) prokázaly, že proximální SRE-1 vazebné místo na promotoru ELOVL6 má vyšší afinitu na SREBF1 než distální. Nedávná studie naznačila, že ChREBP a SREBF1 synergicky stimulují ELOVL6 promotorovou aktivitu v buněčných liniích HepG2. Část transkripční regulace, která byla aktivována SREBP, vyžaduje spolupráci s dalšími DNA vazebnými transkripčními faktory (SP1, NF-Y a CREB), stejně jako s koaktivátory. (CHEN, 2017)

ELOVL7 je nadměrně exprimován během rakoviny prostaty a je zapojen v růstu a přetrvání rakoviny prostaty prostřednictvím metabolismu SAFA a jejich derivátů. (KWAN, 2015) Nadměrná exprese ELOVL7 doplněná dietou s vysokým obsahem tuků, složená z hovězího tuku zvýšila růst nádoru a produkci testosteronu v xenograftech prostatického nádoru u myši. Naopak, klesající hodnoty ELOVL7 významně snížily 20:0 a 22:0 SAFA, ale ne MUFA nebo PUFA s dlouhým řetězcem ve fosfolipidech a esterů cholesterolu v buňkách rakoviny prostaty. (SUBURU, 2012)



Obrázek 7: Schéma syntézy PUFA. (GONZÁLEZ-BENGTSSON, 2016)

4 Poruchy

4.1 Diabetes typu 2, hyperglykémie

DM2T je nejčastější metabolickou chorobou charakteristickou relativním nedostatkem inzulínu, který způsobuje nedostatečné využití glukózy projevující se hyperglykemií. Onemocnění má progredující charakter, což souvisí s úbytkem masy B-buněk a jejich sekreční schopnosti. DM2T vzniká kombinací porušené sekrece inzulínu (inzulinová deficience – ID) a jeho působení v cílových buňkách (inzulinová rezistence – IR). Jejich kvantitativní podíl může být rozdílný, proto hovoříme o heterogenní skupině onemocnění. Na IR i ID mají vliv jak faktory genetické, tak i faktory zevního prostředí. (SOUČEK, 2011)

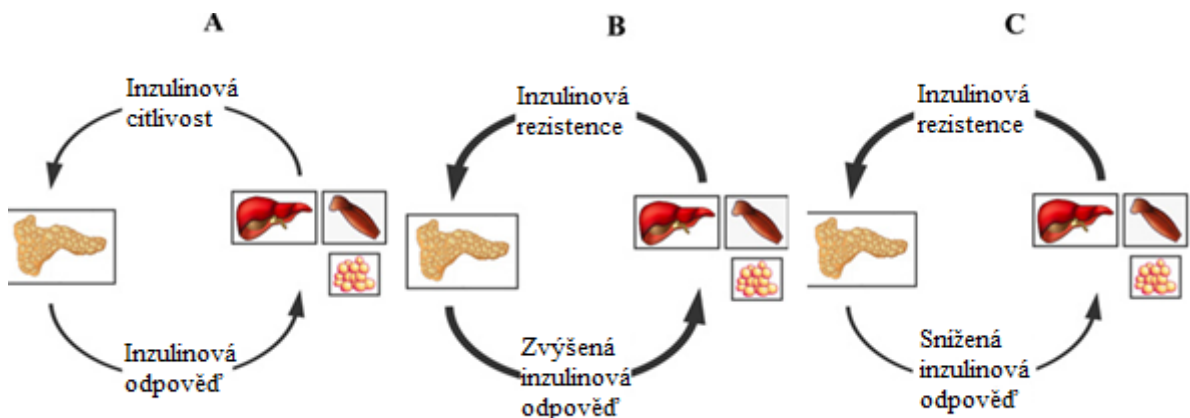
Podle ÚZIS bylo v České republice hlášeno 861 650 diabetiků, z nichž 788 350 (91,5 %) byl klasifikován DM2T. Z toho vyplývá, že diabetes 2. typu se rozhodujícím způsobem podílí i na problémech spojených s komplikacemi provázející toto onemocnění. Během posledních 30-35 let došlo ke ztrojnásobení počtu registrovaných diabetiků v České republice. Kromě diagnostikovaných diabetiků 2. typu zůstává v naší populaci ještě značný počet nepoznaných diabetiků, u kterých se na diagnózu přichází teprve při vyšetření komplikujícího onemocnění nebo zcela náhodně, přičemž tato diagnóza bývá většinou stanovena až po několikaletém asymptomatickém průběhu diabetu. (Česká diabetologická společnost, 2016)

Mezi příznaky diabetu patří žízeň, polyurie, polydipsie a s nimi spojená vystupňovaná únava. Může se vyskytovat nechutenství či hmotnostní úbytek. V mnoha případech DM2T však typické příznaky zcela chybí. (SOUČEK, 2011)

Většina pacientů s touto formou diabetu jsou obézní a samotná obezita způsobuje určitý stupeň inzulínové rezistence. Pacienti, kteří nejsou obézní podle tradičních hmotnostních kritérií, mohou mít zvýšené procento tělesného tuku převážně v břišní oblasti. Ketoacidóza u tohoto typu diabetu zřídka vzniká spontánně. DM2T je často nediodagnostikován mnoho let, protože hyperglykémie se postupně rozvíjí a v raných stádiích je často nedostatečná pro to, aby si pacient všiml některého z klasických příznaků diabetu. Přesto je u těchto pacientů, zvýšené riziko makrovaskulárních a mikrovaskulárních komplikací. Riziko vzniku DM2T se zvyšuje s věkem, obezitou a nedostatkem fyzické aktivity. Častěji nastává u žen s předešlým gestačním diabetem a u jedinců s hypertenzí nebo dyslipidemií. Jeho četnost se liší v různých rasových/etnických podskupinách. To je často spojeno se silnou genetickou predispozicí. (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014)

4.1.1 Dysfunkce β -buněk

Relativní význam inzulínové rezistence a dysfunkce β -buněk v patogenezi diabetu typu 2 byl diskutován dlouhou dobu, přičemž se zvažovalo, že inzulínová rezistence je primární abnormalitou s neschopností vylučovat inzulín. Tato představa se změnila s demonstrací, že stejně jako u většiny endokrinních systémů funguje zpětná vazba, která zabezpečuje integraci glukózové homeostázy a udržování glukózy v těsném rozsahu. Tato zpětná vazba spoléhá na vzájemnou komunikaci mezi β -buňkami a tkáněmi citlivými na inzulín (obrázek 8, část A). Inzulín uvolněný v reakci na stimulaci β -buněk zprostředkovává absorpci glukózy, aminokyselin a mastných kyselin prostřednictvím tkání citlivých na inzulín. Naopak, tato zpětná vazba poskytuje ostrůvkům informace týkající se tkáňové potřeby inzulínu. Když je přítomna inzulínová rezistence, obvykle při obezitě, β -buňky zvyšují svůj inzulínový výdej tak, aby byla zachována normální glukózová tolerance (obrázek 8, část B). Nicméně, když β -buňky nejsou schopny tohoto úkolu, výsledkem je zvýšení plazmatické glukózy (obrázek 8, část C). Zatímco rozlišení mezi poruchou glukózy na lačno a/nebo narušenou tolerancí glukózy, někdy společně označovanou jako prediabetes, a diabetem je určeno hladověním a hladinou glukózy po 2 hodinách perorálním užitím glukózy. Tyto poruchy jsou kontinuem, ve kterém rozsah redukce funkce β -buněk určuje stupeň zvýšení plazmatické glukózy. Inzulínová rezistence se objevuje, jestliže je přítomna porucha tolerance glukózy a zvýšení hladiny glukózy dokonce i v normálním rozmezí je způsobeno nepřetržitým poklesem funkce β -buněk. Bylo prokázáno, že funkce β -buněk je dědičná a kriticky ovlivňuje intoleranci glukózy a DM2T u různých rasových a etnických skupin. (KAHN, 2014)



Obrázek 8: Zpětná vazba mezi β -buňkami a tkáněmi citlivými na inzulín. (KAHN, 2014)

Snížený počet β -buněk je dlouhodobě sledován u DM2T. Základ této ztráty je multifaktoriální. Zahrnuje glukolipotoxicitu a depozici amyloidu, které vedou k apoptóze β -buněk prostřednictvím stresu endoplazmatického retikula a oxidačního stresu. Tato ztráta není vyvážena vývojem nových β -buněk, protože pankreas je není schopen obnovit po dosažení 30 let. Zatímco u DM2T dochází ke snížení existujících β -buněk, je jasné, že rozsah této abnormality je nedostatečný k vysvětlení úrovně poškození uvolňování inzulínu. Vysvětlením relativního významu funkce β -buněk proti hmotnosti může mít významný vliv na vývoj možností pro zachování β -buněk a udržení nebo vylepšení tolerance glukózy.

Méně je prostudovaná dysregulace uvolňování glukagonu z α -buněk, která se projevují zvýšenou koncentrací tohoto hormonu nalačno a selháním potlačení uvolnění glukagonu po požití potravy, přispívá k rozvoji hyperglykémie. Produkty β -buněk, jako je zinek, kyselina γ -aminomáselná nebo glutamát, mohou také regulovat uvolňování glukagonu. Postupy, které snižují uvolňování nebo působení na zvýšenou hladinu glukózy glukagonu, mohou představovat další terapeutické alternativy pro DM2T. (KAHN, 2014)

4.1.2 Nealkoholické tukové onemocnění jater

DM2T a nealkoholické tukové onemocnění jater (NAFLD) jsou úzce spjaty. (FIRNEISZ, 2014) NAFLD je velice frekventované chronické onemocnění jater, které se rychle vyvíjí paralelně s obezitou. Spojením s DM2T a obezitou dochází k zvýšení prevalence o 75-90 %. (KUMARI, 2017) Tento vztah mezi DM2T, inzulínovou rezistencí a NAFLD je očekávaný, protože inzulín po sekreci je následně přímo dodáván do portální žíly. Využívá stejnou cestu jako absorbovaná glukóza a játra eliminují velkou část portálního inzulínu při prvním průchodu. Obezita u NAFLD je spojena s dysfunkcí tukové tkáně a lipotoxicita podporuje inzulínovou rezistenci a dysfunkci pankreatických β -buněk. (FIRNEISZ, 2014)

Pozorovací studie obvykle ukazují na některé hodnoty jaterních funkcí, jako je alanintransferáza (ALT), alkalická fosfatáza (ALP) a gamma glutamyltransferáza (GGT), spojená se zvýšeným rizikem kardiovaskulárních onemocnění (CVD) a DM2T. Mezi těmito jaterními enzymy je GGT silně spojen s CVD a DM2T, i když je nespecifickým markerem funkce jater. ALT je více spojena s DM2T než CVD, zatímco role ALP není jasná. Vedle obtíží při oddělení rolí těchto jaterních enzymů jsou pozorovací studie ovlivněny neměřitelnými faktory, jako jsou alkohol, preexistující onemocnění, životní styl a společensko-ekonomická situace, takže je nejasné, jestli jaterní funkce mohou být platným

cílem intervence nebo dokonce etiologicky relevantní pro tyto složité chronické nemoci. (LIU, 2016)

Prevalence ultrasonografického NAFLD byla 69,4 % u 180 pacientů s DM2T. NAFLD byla spojena s obezitou (abdominální), hypertriglyceridemií a vysokými normálními hladinami ALT. Autoři došli k závěru, že progresse NAFLD je nezávislá na vývoji diabetu. Výsledky ultrasonografie 204 pacientů s DM2T, prokázaly mastnou infiltraci u 62,2 % pacientů. NAFLD byla potvrzena jaterní biopsií s následnou histologií u 87 % jedinců, signalizující 54,11 % histologicky u indických pacientů s DM2T potvrzenou prevalencí u DM2T. Steatohepatitida a fibróza byly nalezeny u 38,9 % a 23,2 %. Leite a kol. našli 78 % prevalenci nealkoholické steatohepatitidy (NASH) histologickým vyšetřením u téměř sto pacientů s DM2T. Přítomnost vysokých hladin triglyceridů, nízkých HDL-cholesterolu a zvýšeného ALT byly nezávisle spojeny s vysokým rizikem histologicky potvrzeného NASH. Prevalence pokročilé fibrózy (\geq stupeň dvě) byla nalezena u 38 % a 55 % pacientů v závislosti na patologovi, který provedl histologická vyšetření. (FIRNEISZ, 2014)

4.1.3 Diabetická nefropatie

Diabetes mellitus je hlavní příčinou chronického selhání ledvin v rozvojových zemích a morbidity a mortality po celém světě. Diabetická nefropatie (DN) se stala hlavní příčinou selhání ledvin v konečném stádiu a kardiovaskulární mortality. Tento stav se objevuje po mnoha letech od začátku diabetu. (DURAN-SALFADO, 2014) DN je klinicky charakterizovaná proteinurií, albuminurií, zvyšujícími se hladinami kreatinu a aberantní rychlost glomerulární filtrace. Mezi hlavní histologické a patologické znaky patří glomerulární hypertrofie, mezangiální expanze a tubulointerstiální fibróza způsobená akumulací proteinů extracelulárních matrix (ECM). (REDDY, 2013) Progrese DN se skládá ze tří kroků: glomerulární hypertrofie a hyperfiltrace; zánětu glomerulů a tubulointerstiální oblasti; a snížení počtu buněk apoptózou a akumulací ECM. Přírodní historie DN ukazuje analogii s progresí selhání pankreatických β -buněk při DM2T. DN je komplexní onemocnění, protože funkční porucha a strukturní přestavba ledvin jsou úzce spojeny se změnou speciálních typů buněk v ledvinách. Přeměna tkáně u DN ukazuje analogii s reakcí hojení ran při poškození tkáně. Prozánětlivé makrofágy M1 zhoršují poškození buněk, naopak protizánětlivé M2 makrofágy podporují vaskulární a epiteliální opravu.

V posledních 20 letech byly identifikovány tři hlavní dráhy pro vývoj DN. Nad těmito drahami je hyperglykémie, hlavní řídicí síla progresse do konečného stavu ledvinových

onemocnění z DN. (WADA, 2013) Vysoká hladina glukózy negativně ovlivňuje všechny typy buněk v ledvinách. (REDDY, 2013) První hlavní dráha je abnormalita intracelulárního metabolismu, jako je aktivace cest polyolu a protein kinázy C (PKC). Zlepšení DN bylo hlášeno u diabetických krys indukovaný streptozotocinem léčeným inhibitorem aldosa reductázy a db/db myši využitím PKC β inhibitorů. Druhou hlavní drahou je tvorba pokročilých glykačních konečných produktů (AGE) hyperglykemií, která indukuje dysfunkci glomerulárních buněk a aktivuje makrofágy. RAGE (receptor pro AGE) dráha je kriticky zapojena v transdukcii následné buněčné signalizace související se zánětem a oxidačním stresem. Několik inhibitorů tvorby AGE, jako je pyridoxamin, LR-90 a KIOM-79, byly testovány na zvířecích modelech DN, což naznačuje, že AGE-RAGE systém je nový terapeutický cíl v léčbě DN. Třetí drahou je intraglomerulární hypertenze indukovaná glomerulární hyperfiltrací. Inhibitory renin-angiotenzinového systému napomáhají ke zlepšení glomerulární hyperfiltrace, což odhaluje příznivé účinky na redukcii proteinurie a progresi DN jak u pokusů na zvířatech, tak u klinických studií. (WADA, 2013)

4.1.4 Diabetická kardiomyopatie

V srdci přítomnost diabetu zvyšuje metabolismus mastných kyselin, potlačuje oxidaci glukózy a modifikuje intracelulární signální cesty. To v konečném důsledku způsobuje porušení produkce energie v buňkách a poruchám v reperfúzi. Ztráta drobných cév a remodeling extracelulární matrix má také vliv na kontrakční dysfunkci diabetického srdce. Diabetická kardiomyopatie se vyskytuje poměrně často, ale nebývá včas rozpoznána u asymptomatických nemocných. Jsou známy dva hlavní typy kardiomyopatie: Primární (kardiální funkce jsou porušeny a defekt je tedy přímo v srdci) a sekundární (činnost srdce je negativně ovlivněna systémovým syndromem).

U pacientů s hypertrofickou kardiomyopatií je nezávislým faktorem obezita ve spojení se zvýšením hmotnosti levé komory, což přispívá k rozvoji srdečního selhání. Metabolická a diabetická kardiomyopatie má speciální spojení s vysokým BMI vyvolaným dlouhodobým nadměrným příjmem potravy. V počátečním období je obezita příčinou regulace kardiálních mastných kyselin a glukózového metabolismu. Při DM2T dochází k poškození funkce srdce i cév, protože dochází k porušení rovnováhy mezi prooxidanty a antioxidanty na buněčné úrovni. Důsledkem je tvorba aktivních forem kyslíku (volných kyslíkových radikálů – ROS), která je provázená oxidačním stresem a poškozováním molekulárních mechanismů zodpovědných za kardiovaskulární choroby. Myokardiální fibróza a hypertrofie myocytů patří

mezi mechanismy, které nejčastěji vysvětlují změny v srdci při diabetické kardiomyopatii. Diabetes způsobuje defekt myokardiálních kontraktilních proteinů a zvýšení tvorby kolagenu, což znamená anatomické a fyziologické změny v myokardu. (PERUŠIČOVÁ, 2015)

4.1.5 Zánět

Obezita je často charakterizovaná systémovým zánětem a předklinické důkazy spojují systémový zánět s dysfunkcí β -buněk. Markery systémového zánětu včetně C-reaktivního proteinu a IL-6, vykazují průřezové vztahy s citlivostí na inzulin a funkcí β -buněk. Změna životního stylu a farmakologické prostředky zlepšují markery zánětu a jsou spojeny se zlepšením funkce β -buněk u pacientů s DM2T.

Přímé účinky zánětu na β -buňky vznikají při aktivaci imunitní odpovědi uvnitř ostrůvků, které jsou nejvíce podporovány interleukinem-1 β (IL-1 β). Glukóza a mastné kyseliny zvyšují produkci IL-1 β v ostrůvcích. Přirozeně se vyskytující antagonisté, především receptoru IL-1 (IL-1Ra), vyrovnávají a regulují činnost IL-1 β na ostrůvcích a dalších tkáních. Cirkulační úrovně IL-1 β a IL-1Ra jsou zvýšeny u DM2T a nižší hladiny IL-1Ra mohou předpovědět, kdo udržuje lepší funkci β -buněk po zásahu, který vedl ke snížení zánětu ostrůvků.

Rozšíření tukové tkáně je spojena s akumulací aktivovaných makrofágů, které exprimují řadu prozánětlivých genů, včetně cytokinů, jako je TNF- α , jehož lokální účinek vede k potlačení inzulinové signalizace. Při dostatečné produkci těchto cytokinů, dochází k jejich uvolnění do oběhu, díky tomu mohou působit na vzdálených místech (játra a kosterní svaly) a vedou ke zhoršení inzulinové rezistence. (KAHN, 2014)

4.1.6 Mozek a střevo

Gastrointestinální trakt produkuje řadu peptidů, z nichž ne všechny přímo ovlivňují absorpci živin. Glukagon-podobný peptid-1 (GLP-1) a glukóza-dependentní inzulintropní polypeptid (GIP), společně známé jako inkretiny, působí na pankreatické ostrůvky. GLP-1 je z těchto hormonů působících na α - a β -buňky, vedoucích ke zvýšení inzulinu a potlačení glukagonové sekrece, důležitější. Plazmatické hladiny GLP-1 se liší u jedinců s normální nebo poškozenou glukózovou tolerancí a DM2T. Intravenózní podání GLP-1 za kontrolovaných podmínek prokázalo, že odezva β -buněk na GLP-1 po požití jídla je nedostatečná. Zatímco působením GLP-1 přímo na α -buňky, dochází k potlačení uvolňování glukagonu, relativní vliv tohoto mechanismu proti modulaci produktů β -buněk zůstává

neurčitý u jedinců jak zdravých, tak s DM2T, kde je glukagon nedostatečně potlačen během jídla.

Žlučové kyseliny jsou také důležité pro metabolismus regulace glukózy. Jsou endogenními ligandy farnesoid X receptoru (FXR), jejich aktivace FXR vede k uvolnění fibroblastového růstového faktoru (FGF). Žlučové kyseliny také aktivují TGR5 receptor spřažený s G-proteinem (také známý jako GPR131) lokalizovaný ve střevních L-buňkách, což vede k sekreci GLP-1. U lidí intraduodenálně závislých na dávce, infuze žlučových kyselin zvyšuje plazmatické hladiny FGF19, s menšími účinky na GLP-1 a CCK45. FGF19 má účinky podobné inzulinu vyvolávající syntézu glykogenu a bílkovin, zatímco inhibuje produkci glukózy. Žlučový systém může mít dosud podceňované účinky pro modulaci glukózové homeostázy.

Střevní mikrobiom se zdá být také důležitý pro patofyziologii DM2T. Obsahuje asi 100krát genetickou informaci nalezenou v lidském genomu a společně tvoří lidský metagenom. Předpokládá se, že tyto střevní společenstva mají důležitou roli při obezitě a DM2T, ačkoli bakteriální druhy, které se mohou podílet na změně lidského metabolismu, ještě musejí být stanoveny. Dvě nedávné studie využily fekální vzorky, které naznačily, že funkční změny ve střevním mikrobiomu mohou být přímo spojeny s vývojem DM2T. Nicméně metogenomické markery se liší mezi jednotlivými populacemi, což naznačuje, že jejich schopnost předpovědět vývoj diabetu se bude pravděpodobně lišit.

Nervový systém je další klíčový regulátor metabolických procesů. Sympatický a parasympatický nervový systém kontroluje metabolismus glukózy přímo pomocí neurálních vstupů a nepřímo cirkulací ovlivňující uvolňování inzulinu, glukagonu a produkci glukózy v játrech. Vagus je důležitý pro regulaci ostrůvků, protože odštěpení tohoto nervu způsobuje poškození sekrece inzulinu. Hypotalamus byl identifikován jako důležitý integrátor, protože odstranění hypotalamu u krys vedlo k dysregulaci β -buněk a vývoji hyperinzulinémie. Tato oblast mozku také reguluje produkci glukózy v játrech působením inzulinu, glukózy a mastných kyselin. Účinek inzulinu na tomto místě je důležitý v regulaci tělesné hmotnosti, snížený efekt vede k obezitě. Nedávno bylo demonstrováno, že zánět vyvolaný neuronálním poraněním nastává rychle u hlodavců, kteří jsou krmeni stravou o vysokém obsahu tuků. (KAHN, 2014)

4.1.7 Vliv aktivity desaturáz na diabetes mellitus 2. typu

Prevenici nebo vývoj DM2T mohou ovlivňovat kromě genetických faktorů, obezity, kouření a fyzické nečinnosti také dietní faktory. PUFA n-6 mohou mít potenciál zabránit DM2T, díky příznivému vlivu hlavní n-6 PUFA, kyseliny linolové (LA; 18:2n-6), na inzulinovou rezistenci. LA je esenciální mastnou kyselinou, a proto musí být získávána z potravy. V těle je LA přeměněna na další n-6 PUFA: kyselinu γ -linolenovou (GLA; 18:3n-6), kyselinu dihomogamma-linolenovou (DGLA; 20:3n-6) a kyselinu arachidonovou (AA; 20:4n-6). Tyto mastné kyseliny mohou být v menší míře získány z potravy, AA je především odvozena ze zvířecích produktů, ale jejich koncentrace hlavně poukazují na endogenní tvorbu z LA. Při přeměně mají centrální úlohu Δ 5- (D5D) a Δ 6-desaturázy (D6D). Tyto enzymy jsou spojeny s inzulinovou rezistencí a DM2T. (YARY, 2016) Biologické mechanismy, které by spojovaly aktivitu desaturáz s chronickými onemocněními (DM2T), nejsou dosud známy.

D6D omezuje rychlost celé dráhy PUFA, tyto kyseliny např. kyselina arachidonová jsou prekurzory z eikosanoidů, které mohou působit jako zánětlivé mediátory. Zvýšená aktivita D5D byla spojena s vysokými plazmatickými koncentracemi EPA a DHA, které mají protizánětlivé vlastnosti a snižují hladinu triglyceridů. Zapojení dyslipidémie, akumulace jaterního tuku a zánětu do vztahu D6D a D5D aktivity a rizikem DM2T je podpořeno asociací mezi genetickou variací genů desaturáz mastných kyselin, které kódují D6D a D5D, a triglyceridy, jaterními enzymy a C-reaktivním proteinem (CRP). SCD je enzym omezující rychlost syntézy MUFA. Vztahy SCD1 genetických variant s triglyceridy, CRP a aktivitou γ -glutamyltransferázy (GGT) a alanin transaminázy naznačuje roli dyslipidémie, zánětu a zvýšeného jaterního tuku ke vztahu aktivity SCD s rizikem DM2T. S ohledem na tyto fakta, se předpokládají přímé asociace odhadované aktivity SCD a D6D s markery akumulace jaterních tuků, triglyceridy, CRP a inverzním vztahem s adiponektinem, zatímco u odhadované aktivity D5D se předpokládá nepřímé spojení s markery jater, triglyceridy, CRP a pozitivním vztahem s adiponektinem. Studie mužů a žen středního věku prokázala pozitivní vztah SCD a D6D odhadované aktivity s rizikem DM2T, zatímco aktivita D5D byla inverzně asociovaná s DM2T rizikem. (JACOBS, 2015)

4.1.8 Farmakoterapie diabetu mellitu 2. typu

Při léčbě DM2T se využívá lidský inzulin, který plně nahradil dříve užívané zvířecí inzuliny získané z pankreatu zvířat. Aplikací inzulinu se snaží dosáhnout jeho fyziologické sekrece, která se skládá z bazální a prandiální sekrece. Jsou známé dva inzulinové režimy.

Konvenční režim, který je určen pro nemocné, u nichž je ještě zachována vlastní inzulinová sekrece. V tomto režimu dochází k aplikaci inzulinu 1-2x denně a nemodeluje fyziologickou sekreci. Naopak při intenzifikovaném režimu dochází k aplikaci inzulinu minimálně 3x denně a snaží se modelovat fyziologickou sekreci. Inzulinový režim je pro každého pacienta s DM2T vybírán individuálně a zohledňuje inzulinovou rezistenci a deficienci, přidružené choroby a charakteristiky nemocného. (PERUŠIČOVÁ, 2016)

Dále se pro léčbu DM2T využívají neinzulinová antidiabetika. Metformin je v současné době nejčastěji předepisovaným lékem u DM2T. Užívá se již u prediabetu, protože výrazně snižuje inzulinovou rezistenci. Svým mechanismem snižuje buněčnou respiraci a tím dochází v buňkách k energetickému nedostatku se zvýšením koncentrace adenosinmonofosfátu. Buňky se pak tento stav snaží zvrátit, například jaterní buňky zastavují glukoneogenezy a glykogenolýzu, čímž snižují jaterní produkci glukózy a svalové buňky, které zvyšují počet glukózových transportérů GLUT4 v membráně a tím zvyšují vychytávání glukózy z krve. Thiazolidindiony (Glitazony) patří mezi látky snižující inzulinovou rezistenci. Thiazolidindiony působí stejně jako nukleární receptory PPAR γ , které jsou aktivovány meziprodukty lipidového metabolismu a s následujícím vlivem na děje intermediárního metabolismu. Vazba na DNA umožňuje PPAR γ expresi velkého množství enzymů, které jsou podobné těm, jejichž exprese je ovlivněna kinázou aktivovanou inzulinovou signalizací. V důsledku toho, dochází ke zlepšení vstupu glukózy do svalových a tukových buněk. (PERUŠIČOVÁ, 2016)

Deriváty sulfonylurey zvyšují pankreatickou sekreci inzulinu. Dochází k uvolnění inzulinu z granul β -buněk, ale nezvyšuje se jeho syntéza. Účinnost těchto derivátů je omezena schopností β -buněk syntetizovat inzulin, jehož sekrece vyvolaná glukózou závisí na K⁺ kanálcích, jejichž uzavření má za následek depolarizaci membrány, otevření Ca⁺ kanálů a vstupu kalia do buňky. Tyto deriváty se váží na sulfonylurey receptor, tím zvyšují pravděpodobnost uzavření K⁺ kanálu, a tedy do jisté míry simulují efekt vstupu glukózy do β -buněk. (PERUŠIČOVÁ, 2016)

4.2 Metabolický syndrom

Metabolický syndrom (MS) je soubor kardiovaskulárních rizikových faktorů včetně abdominální obezity, poruchy kontroly glukózy, hypertenze a dyslipidémie. Komponenty MS zvyšují riziko kardiovaskulárních onemocnění, ale samotný syndrom zvyšuje toto riziko více než každý jednotlivý faktor. (PATTYN, 2013) Mezinárodní Diabetická Federace (IDF)

odhaduje, že jedna čtvrtina celkové dospělé populace má MS. Hlavními rizikovými faktory pro vývoj MS je fyzická nečinnost a konzumace aterogenní stravy (bohaté na nasycené tuky, cholesterol a rafinované uhlohydráty). Ty přispívají k rozvoji abdominální obezity, inzulínové rezistence, dyslipidémie, zánětu a oxidačního stresu. Nedávné studie navrhly další etiologické faktory MS, např. nevyváženost střevního mikrobiomu. To znamená, že ektopické tukové depozity, jako jsou mastná játra a epikardiální tuk, mohou aktivně přispívat ke zvýšenému riziku aterosklerózy spojenou se MS. (LUNA-LUNA, 2015) Změna životního stylu se doporučuje jako první linie léčby kardiovaskulárních rizikových faktorů. Metaanalýzy prokázaly, že dynamické vytrvalostní cvičení snižuje krevní tlak u hypertenzních jedinců, způsobuje významnou redukci krevních lipidů a lipoproteinů u pacientů s hyperlipidemií, snižuje glykovaný hemoglobin u lidí s DM2T a je spojena se zlepšením tělesného složení u obézních jedinců. (PATTYN, 2013)

Existuje několik definic MS, ale nejčastěji se používají hodnoty Světové zdravotnické organizace (WHO), Evropské skupiny pro studium inzulínové rezistence (EGIR), Národní cholesterolový program vzdělávání dospělých III (NACEP ATP III), Americká asociace klinických endokrinologů (AAACE) a Mezinárodní diabetologické federace (IDF) viz tabulka 3. Celosvětová prevalence MS se pohybuje v rozmezí < 10 % až 84 % v závislosti na městském nebo venkovském prostředí, složení studované populace (pohlaví, věk, rasa a etnicita) a použité definici MS. Vyšší socioekonomický stav, sedavý styl života a BMI jsou významně spojené s MS. Cameron a kol. došli k závěru, že rozdíly v genetickém původu, stravě, úrovni fyzické aktivity, kouření a rodinné anamnéze diabetu, ovlivňují prevalenci diabetu a jeho složek. (KAUR, 2014)

Tabulka 3: Diagnostická kritéria pro diagnostiku MS. (KAUR, 2014)

IFG: Porucha glukózy nalačno, IGT: porucha glukózové tolerance, WHR: poměr pasu a boků, WC: obvod pasu, TG: triglyceridy, Rx: léčba

	WHO (1998)	EGIR (1999)	ATPIII (2001)	AACE (2003)	IDF (2005)
Inzulínová rezistence	IFG, IGT, DM2T nebo snížená inzulínová senzitivita plus jakékoli 2 z následujících hodnot	Plasmový inzulín > 75 percentilů plus jakékoli 2 z následujících hodnot	Žádné, ale jakékoliv 3 z následujících 5 funkcí	IGT nebo IFG plus jakýkoliv z následujících hodnot	žádné
Tělesná hmotnost	Muži: WHR > 0,90; Ženy: WHR > 0,85 a/nebo BMI > 30 kg/m ²	WC ≥ 94 u mužů nebo ≥ 80 cm u žen	WC ≥ 102 cm u mužů nebo ≥ 88 cm u žen	BMI ≥ 25 kg/m ²	Zvýšený WC (populačně specifický) plus jakékoliv 2 z následujících hodnot
Lipidy	TG ≥ 150 mg/dL a/nebo HDL-C < 35 mg/dL u mužů < 38 mg/dL u žen	TG ≥ 150 mg/dL a/nebo HDL-C < 39 mg/dL u mužů nebo žen	TG ≥ 150 mg/dL HDL-C < 40 mg/dL u mužů < 50 mg/dL u žen	TG ≥ 150 mg/dL a HDL-C < 40 mg/dL u mužů nebo < 50 mg/dL u žen	TG ≥ 150 mg/dL nebo TG Rx HDL-C < 40 mg/dL u mužů nebo < 50 mg/dL u žen nebo HDL-C Rx
Krevní tlak	≥ 140/90 mm Hg	≥ 140/90 mm Hg nebo hypertenze Rx	≥ 130/85 mm Hg	≥ 130/85 mm Hg	≥ 130 mm Hg systolický nebo ≥ 85 mm Hg diastolický nebo hypertenze Rx
Glukóza	IGT, IFG nebo DM2T	IGT nebo IFG (ne diabetes)	> 110 mg/dL (včetně diabetu)	IGT nebo IFG (ne diabetes)	≥ 100 mg/dL (včetně diabetu)
další	Mikroalbuminurie: Vylučování moči > 20 mg/min nebo albumin: kreatinin > 30 mg/g.			Další znaky inzulínové rezistence	

4.2.1 Abdominální obezita

Nadváha, často měřená jako zvýšený index tělesné hmotnosti se dlouhou dobu považuje za rizikový faktor mnoha chronických onemocnění. Viscerální nebo abdominální obezita, která se projevuje zvýšeným obvodem pasu nebo poměrem pasu a kyčle, je také považována za důležitý prediktor rizika onemocnění souvisejících s obezitou. (FOLSOM, 2000)

Tuková tkáň je heterogenní směs adipocytů, stromálních preadipocytů, imunitních buněk a endotelu. Prostřednictvím hypertrofie a hyperplazie adipocytů může rychle a dynamicky reagovat na změny v nadbytku živin. Při obezitě a progresivním zvětšením adipocytů může být přívod krve do adipocytů redukován následnou hypoxií. Ta byla navržena jako iniciační etiologie nekrózy a infiltrace makrofágů do tukové tkáně, což vede k nadprodukcí biologicky aktivních metabolitů, známe jako adipocytokiny, které zahrnují glycerol, volně mastné kyseliny, prozánětlivé mediátory a C-reaktivní protein. Výsledkem je lokalizovaný zánět v tukové tkáni, který propaguje celkový systémový zánět spojený s vývojem komorbidit související s obezitou. Adipocytokiny integrují endokrinní, autokrinní a parakrinní signály zprostředkovávající mnohé procesy včetně inzulínové rezistence, oxidačního stresu, energetického metabolismu, krevní koagulace a zánětlivých odpovědí, u kterých se předpokládá, že urychlují aterosklerózu a aterotrombózy. To poukazuje nato, že tuková tkáň se nejen specializuje na skladování a mobilizaci lipidů, ale je také pozoruhodný endokrinní orgán uvolňující cytokiny. (KAUR, 2014)

Studie ukázaly, že zvýšený viscerální/intraabdominální tuk je markerem zvýšeného ektopického tuku v místech jako je srdce a játra. Proto distribuce abdominálního tuku může být považována za marker ektopického tuku na mnoha místech. Následné studie prokázaly, že jedinci s převahou abdominálního tuku a zvýšeným obvodem pasu jsou charakterizováni zvýšením viscerálního/intraabdominálního tuku a rozšířením podkožních tukových buněk v kombinaci s dysfunkční a zanícenou tukovou tkání. (SMITH, 2015)

4.2.2 Hypertenze

Hypertenze (abnormálně vysoký krevní tlak) je důležitou složkou MS, přibližně 85 % pacientů s MS trpí tímto stavem. Hypertenze je často diagnostikována v pozdní stádiu onemocnění. Inzulínová rezistence a obezita jsou hlavní příčiny hypertenze a přispívají

k jejímu rozvoji jak samostatně, tak kolektivně. Kolem 50 % hypertenzních lidí je odolným vůči inzulínu. Za normálních okolností zavádění inzulínu do krevního oběhu způsobuje uvolnění oxidu dusnatého s následnou vasodilatací. U obézních a inzulín rezistentních jedinců není tento jev pozorován. (O'NEILL, 2015) Hyperglykémie a hyperinzulinémie aktivují renin-angiotenzin systém, zvýšením exprese angiotenzinogenu, angiotenzinu II a receptoru AT1, který může přispívat k rozvoji hypertenze u pacientů s inzulínovou rezistencí. Existuje také důkaz, že hyperinzulinémie a inzulínová rezistence vedou k aktivaci sympatického nervového systému a důsledkem toho ledviny zvyšují reabsorpci sodíku, srdce zvyšuje srdeční výkon a tepny reagují vasokonstrikcí vedoucí k hypertenzi. Nedávno bylo zjištěno, že adipocyty také produkují aldosteron v reakci na angiotensin II, v tomto ohledu může být adipocyt považován za miniaturní renin-angiotensinaldosteronový systém. (KAUR, 2014)

4.2.3 Metabolický syndrom a lipidy

U MS dochází při inzulínové rezistenci a nedostatečném efektu inzulínu k většímu využití tuku, stoupají neesterifikované mastné kyseliny, zvyšuje se produkce VLDL, snižuje se konverze VLDL-LDL, je snížena aktivita lipázy, nižší clearance triacylglycerolů a chylomikrů. U pacientů s MS se nevyskytuje hypercholesterolemie, vyšší cholesterol jako součást MS se uvádí více ve starší literatuře. Snížená hodnota HDL-cholesterolu, která koreluje s inzulínem, je typická pro MS. Malé denzní částice LDL, které jsou významným rizikovým faktorem aterosklerózy, patří také k MS. Od velikosti LDL-částic 28 nm k velikosti 22 nm stoupá ateroskleróza třikrát. Výskyt složek MS se zvyšuje s věkem, mohou se ale objevovat v různém pořadí. U potomků diabetiků a obézních jedinců dochází ke zvýšené triacylglycerolemii a poklesu HDL-cholesterolu často již v dospívání. Vyšetřování běžného spektra lipidů je důležitou možností detekce MS. (HAINER, 2011).

4.2.4 Vliv desaturáz na metabolický syndrom

Mnoho mastných kyselin může být syntetizováno, desaturováno, elongováno, třemi desaturázami SCD, D6D a D5D jejichž aktivita může být odhadnuta použitím poměru produktů a prekurzorů FA. Charakteristickým znakem patologických stavů je zvýšený obsah nasycených mastných kyselin a nižší obsah PUFA. Profil FA a odhadovaná aktivita desaturáz je hlavně charakterizována vysokým podílem kyseliny palmitové (PA, C16:0), kyseliny palmitoolejové (POA, C16:1n-7), dihomogamma-linolenové kyseliny (DGLA, C20:3n-6), SCD a D6D, a snížením hladiny kyseliny linolové (LA, C18:2n-6) a D5D. To bylo spojeno

s inzulinovou rezistencí, obezitou a vývojem metabolického syndromu. (MAYNERIS-PERXACHS, 2014)

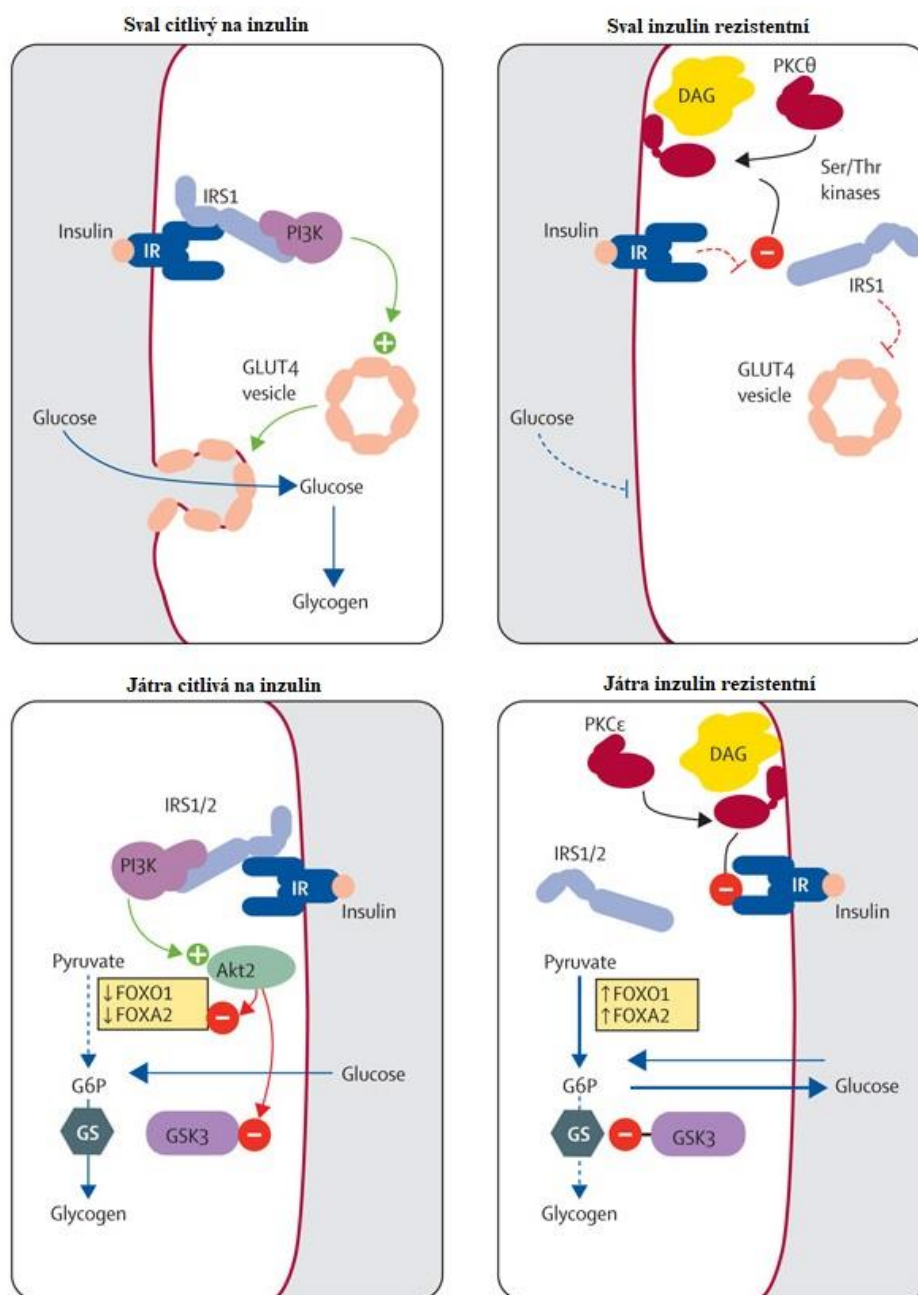
PUFA ve stravě potlačují aktivity a exprese desaturáz. U pacientů s MS byly nalezeny zvýšené hodnoty SCD-16 a D6D než u pacientů bez MS. Zvýšené odhadované hodnoty SCD-16 můžou být v důsledku vysokého příjmu nasycených mastných kyselin, sníženého příjmu PUFA a vysoké aktivity SCD-16 při metabolických poruchách. Dále jenom odhadovaná aktivita D6D zůstává významná po úpravě BMI, zvyšuje pravděpodobnost, že MS je spojen se zvýšenou aktivitou SCD-16 je vysvětlen obezitou v důsledku nezdravé výživy. Aktivita SCD-18 se nelišila u pacientů s a bez MS. Naopak hodnota D5D byla snížena u pacientů s MS. PA, POA DGLA, SCD-16, SCD-18 a D6D byly nepříznivě spojeny s MS a mnohými metabolickými faktory, zatímco LA a D5D vykazovaly opačně chování. (MAYNERIS-PERXACHS, 2014)

4.3 Inzulinová rezistence

Inzulinová rezistence (IR) byla popsána jako první příčina metabolického syndromu, pro který je typická tzv. postreceptorová inzulinová rezistence, vyjádřená zejména ve svalech a dále pak v játrech a tukové tkáni. IR je v posledních letech nejvýznamněji sledovaný fenomén u hypertenze, obezity a diabetu 2. typu. Vyšetřováním citlivosti na inzulin je důležitým postupem vyšetřování v diabetologii a obezitologii. V běžné klinické praxi je orientační posouzení stupně inzulinové rezistence možné podle bazální lačné inzulinémie. Až do glykémie přibližně 8 mmol/l je toto vyšetření adekvátní. Při vyšší glykémii již sekrece inzulinu selhává. Pro běžnou praxi se dále počítá s tím, že část hyperinzulinémie je navozena dietně. (HAINER, 2011)

IR je definovaná jako stav, kdy normální koncentrace inzulinu nevyvolává adekvátní odpověď v cílových periferních tkáních (Obrázek 9). Za těchto podmínek β -buňky vylučují více inzulinu v reakci na hyperglykémii. Přestože hyperinzulinémie může kompenzovat IR u určité biologické účinky inzulinu, tak může nadměrná exprese zvýšit inzulinovou aktivitu u normálně citlivých tkání. Neschopnost β -buněk časem produkovat dostatečné množství inzulinu k nápravě zhoršující se IR tkání vede k hyperglykémii a DM2T. Fyziologická signalizace inzulinu nastává jeho navázáním na inzulinový receptor. Výsledkem je aktivace dvou paralelních drah: fosfatidylinositol-3-kináza (PI3K) a mitogenem aktivovaná proteinkináza (MAP) dráha. Při IR je ovlivněna PI3K-Akt dráha, zatímco MAP dráha normálně funguje. To vede ke změně rovnováhy mezi těmito dráhami. Inhibice PI3K-Akt

dráhy vede k redukcii produkce endoteliálního oxidu dusnatého, a to vede k endotelové dysfunkci a ke snížení translokace GLUT4. MAP dráha, která není ovlivněna IR pokračuje v produkci endotelinu-1 (ET-1), expresi adhezních molekul vaskulárních buněk a mitogenní stimulaci cévních buněk hladkého svalu. Tímto způsobem vede IR k vaskulárním abnormalitám, které vedou k ateroskleróze. Jedinci s IR nemusí být klinicky obézní, ale obvykle mají abnormální distribuci tuku, která je charakterizovaná převážně tukem horních částí těla. (KAUR, 2014)



Obrázek 9: Mechanismus inzulínové senzitivity a rezistence. (SAMUEL, 2010)

4.3.1 Vliv desaturáz a elongáz na inzulinovou rezistenci

V roce 2002 a 2007 byly popsány knock-out myši s deficiencí SCD1 a ELOVL6. Na těchto myších modelech bylo demonstrováno, že ztráta SCD1 a ELOVL6 vede ke změnám složení v složení mastných kyselin v tkáních. Tyto myši mají méně $\Delta 9$ desaturovaných a 18-uhlíkových mastných kyselin, tato změna byla spojena se zlepšenou inzulinovou rezistencí a senzitivitou při obezitě vyvolanou stravou. Bylo zjištěno, že myši postrádající SCD1 a ELOVL6 jsou chráněny před metabolickými komplikacemi. Hlavním produktem těchto enzymů je oleát, který zahrnuje téměř 45 % volných mastných kyselin v tukové tkáni. (TAN,2015)

Tan a kol. ve své studii zjistili, že u myších modelů se stravou obsahující vysoký obsah tuku a genetickou obezitou je nárůst hmotnosti a inzulinová rezistence spojená s poměrem $\Delta 9$ desaturovaných a 18-uhlíkovými FA v bílé tukové tkáni. Dále užitím obézní inzulin senzitivní myši s deficiencí leptinu nadměrně exprimují adiponektin a AKT2 KO myši prokázali, že změny v délce řetězce FA v bílé tukové tkáni jsou spojeny s úrovní inzulinové rezistence, zatímco změny desaturace mohou být více závislé na akumulaci tukové hmoty. (TAN, 2015)

4.4 Dyslipidémie

Dyslipidémie (DLP) označuje skupinu metabolických onemocnění charakterizovaných patologickým zmnožením aterogenních lipoproteinových částic a snížením antiaterogenních lipoproteinů v krevní plazmě. Tento termín nahradil starší označení hyperlipidémie. DLP se dělí podle patogeneze na primární (geneticky podmíněné) a sekundární (alterace lipoproteinového metabolismu je projevem jiného onemocnění). (VRABLÍK, 2016)

4.4.1 Diabetická dyslipidémie

Hypertriglyceridémie, nízký HDL-cholesterol a převaha malých denzních LDL mohou být detekovány roky před klinickou diagnózou DM2T u inzulin rezistentních prediabetických jedinců s normální koncentrací glukózy. Proto je inzulinová rezistence považována za hlavní spouštěč diabetické dyslipidémie. (WU, 2014)

Hypertiglyceridémie je považována za dominantní lipidovou abnormalitu v inzulinové rezistenci a má důležitou roli při určení charakteristického lipidového profilu diabetické dyslipidémie. Nadbytek triglyceridů je výsledkem zvýšené produkce a snížené clearance

lipoproteinů bohatých na triglyceridy. Zvýšená produkce lipoproteinů s velmi nízkou hustotou (VLDL), hlavního transportéru triglyceridů nalačno, je důležitým znakem inzulínové rezistence. VLDL se dělí na velké VLDL1 bohaté na triglyceridy a malé denzní VLDL2. U inzulín rezistentních jedinců je VLDL1 vylučován v nadbytku, zatímco VLDL2 má srovnatelnou hodnotu s lidmi citlivých na inzulín, který je zapojen ve všech fázích produkce a sekrece VLDL. V tukových tkáních potlačuje lipolýzu inhibicí aktivity hormonálně citlivé lipázy, která katalyzuje mobilizaci volných mastných kyselin z uložených triglyceridů. Inzulín v játrech inhibuje transkripci mikrosomálního triglyceridového transferového proteinu, který zprostředkovává přenos triglyceridů na vznikající apolipoprotein B (apoB), převládající protein na povrchu VLDL. Produkce apoB je relativně konstantní a jeho množství, které je uvolněno, z velké části závisí na jeho degradaci, která je ovlivněna lipidací. Následkem toho zvýšená dostupnost volných mastných kyselin v játrech vede k snížení degradace apoB, což způsobuje nadbytečnou produkci VLDL při inzulínové rezistenci. Postprandiální hypertriglyceridémie je dalším znakem diabetické dyslipidémie a je způsobena lipoproteiny bohatými na triglyceridy odvozených ze střev a jater. U DM2T je produkce apoB-48 zrychlena a závisí na hladině inzulínu. Také monosacharidy mohou akutně zvýšit produkci střevních lipoproteinů. Chylomikrony odvozené od střev soupeří o stejnou clearance dráhu jako VLDL získané z jater, proto zvýšené hladiny chylomikronů mohou vést k prodloužení přítomnosti VLDL v plazmě a naopak. Výsledkem je, že pacienti s diabetem mají zvýšené hladiny triglyceridů. Stávající triglyceridémie může být zhoršená nekontrolovaným diabetem doprovázející genetickými vadami lipidového metabolismu, užíváním alkoholu a určitými léky. (WU, 2014)

Zvýšení lipoproteinů bohatých na triglyceridy je obvykle spojeno snížením HDL a zvýšením malých denzních LDL. Hypertriglyceridémie stimuluje enzymatickou aktivitu cholesterol ester transfer proteinu (CETP), který usnadňuje přenos triglyceridů z lipoproteinů bohatých na triglyceridy do HDL a LDL výměnou za cholesterol estery. HDL částice obohacené o triglyceridy jsou předmětem zvýšeného katabolismu, a proto mají krátký plazmatický poločas. U LDL částic obohacených triglyceridy následně dochází k hydrolýze lipoproteinovou nebo jaterní lipázou, a tím se snižuje jejich velikost. Nízké hladiny HDL byly považovány za následek inzulínové rezistence a diabetu, ale novější data naznačují, že nízká hladina HDL může vést k abnormální glukózové homeostáze. Několik genů podílejících se na metabolismu lipidů má také svou roli v glukózové homeostáze. ATP-vazebný cassette transporter, subrodina A, člen 1 (ABCA1) je hlavní buněčný transportér cholesterolu

a fosfolipidů, zprostředkovává jejich efflux pomocí lipidace vznikajících apolipoproteinů A1 (apoA1), což je hlavní složka HDL. Z toho důvodu ABCA1 reguluje biogeneze HDL, která je klíčová pro reverzní transport cholesterolu. Mutace genu ABCA1 způsobuje akumulaci buněčného cholesterolu, nízké hladiny HDL a zvýšení rizika kardiovaskulárních chorob. Defekt ABCA1 u myších modelů způsobil poruchu glukózové tolerance a abnormální glukózovou sekreci, zatímco citlivost na inzulin zůstala neovlivněna. (WU, 2014)

4.4.2 Vliv desaturáz na dyslipidémii

Mastné kyseliny odvozené od DNL zejména palmitát (16:0) a oleát (18:0) jsou hlavně usměrněny do drah elongace a desaturace v hepatocytech. SCD1 ovlivňuje rychlost desaturace palmitátu a oleátu na mononenasyčenou kyselinu olejovou (C18:1) a palmitovou (C16:1), které jsou klíčovými substráty pro tvorbu triglyceridů. Dochází k paralelní upregulaci exprese genů zapojených v DNL a také v elongaci a desaturaci mastných kyselin, což naznačuje koordinovanou kontrolu exprese. Z toho důvodu byly poměry mastných kyselin 16:1/16:0 a 18:1/18:0 použity jako náhradní marker pro DNL. (TASKINEN, 2015)

Aktivita SCD, D6D a D5D hraje důležitou roli při modulaci složení mastných kyselin tkání. Přímé měření enzymové aktivity je obtížné, ale lze ji odhadnout z poměru prekurzorů produktu, který ukazuje, že genetická variabilita SCD a FADS ovlivňují profil mastných kyselin v krvi stejně jako odhadovanou aktivitu desaturáz. Studie dospělých jedinců ukázaly, že odhadovaná aktivita SCD a D6D je zvýšena a D5D snížena u obézních lidí a u jedinců s metabolickými poruchami jako jsou inzulinová rezistence a dyslipidémie. SCD má důležitou roli v de novo lipogenezi, kde jsou geny lipidové syntézy downregulovány a u lipidové oxidace upregulovány, když chybí SCD. Proto SCD deficientní myši jsou odolné na sacharid a tuk indukovaný obezitou a jaterní steatózou, stejně jako na triglyceridemií a inzulinovou rezistencí. Z toho důvodu se zdá, že nízké hladiny SCD chrání před obezitou, inzulinovou rezistencí a dyslipidemií, zatímco vysoká exprese SCD je spojena s těmito metabolickými chorobami. D6D je pozitivně a D5D negativně spojen s obezitou a metabolickými rizikovými faktory, jako je dyslipidémie a inzulinová rezistence. Vztah D5D a D6D s dyslipidemií může být výsledkem variací genů FADS1 a FADS2 kódujících D6D a D5D, které mají silný vztah se sérovými HDL a triglyceridy. D6D a D5D ovlivňují profil PUFA s dlouhým řetězcem. Tyto PUFA působí jako ligandy pro transkripční faktory a mohou mít vliv na regulaci exprese genů potenciálně spojených s obezitou, inzulinovou rezistencí a dyslipidemií. (WOLTERS, 2015)

4.4.3 Farmakoterapie dyslipidémie

Mezi skupiny léčiv, které se využívají k léčbě dyslipidémie patří statiny, fibráty, ezetimib a pryskyřice. Slouží především k snížení kardiovaskulárních rizik a modifikaci hladin aterogenních sérových lipidů. (VRÁBLÍK, 2016)

Statiny blokují intracelulární enzym hydroxymethylglutaryl-CoA-reduktázy (HMG-CoA-reduktáza), který katalyzuje přeměnu HMG-CoA na mevalonát a blokuje jeden z počátečních kroků endogenní biosyntézy cholesterolu. To vede k intracelulární depleci cholesterolu. Následně dochází ke zvýšené transkripci LDL receptorového genu a zvýšení exprese LDL receptorů na buněčné membráně. Dalším důležitým efektem statinů je navýšení aktivity enzymu proprotein konvertázy subtilisin-kexin 9 (PCSK9), který snižuje životnost LDL, omezením zpětného vystavení LDL receptoru na povrchu hepatocytu. Léčba statiny vede ke snížení celkového cholesterolu o 20-40 %, LDL-c o 25-60 %, triglyceridů o 5-20 % a zvýšení HDL-c o 5-10 %. Tomu odpovídají změny spektra alipoproteinů. Dochází tedy k velkému poklesu apo B, který se považuje za ukazatel množství aterogenních lipoproteinových částic, a mírnému vzestupu koncentrace apo A-I, což je citlivý marker množství antiaterogenních lipoproteinů. (VRÁBLÍK, 2016)

Fibráty mají stejný účinek jako nitrojaderné PPAR α . Z toho důvod mají komplexní účinek, který zahrnuje zvýšení lipolýzy, snížení produkce částic bohatých na triglyceridy v hepatocytu, indukci beta-oxidace mastných kyselin a jejich zvýšené využití v jaterní buňce, a nakonec zvýšení syntézy apo I a apo II. Při léčbě fibráty hlavně dochází k poklesu triglyceridémie, spojeným se vzestupem HDL-c. Dále dochází ke změně kvality LDL částic, dochází ke změně podílu malých denzních LDL až o 50 %. (VRÁBLÍK, 2016)

Do oblasti léčby dyslipidémie začínají pronikat principy biologické léčby, která využívá principu tzv. anti-sense, monoklonálních protilátek a vakcinace imunogenními peptidy. První dva principy jsou ve třetí fázi klinického testování, zatímco u poslední možnosti probíhá testování na laboratorních zvířatech. Pokusy na myších modelech zatím demonstrují, že imunogenní peptid podporuje dlouhodobou produkci protilátek proti vlastní PCSK9, která vede ke snížení LDL-c o 25 %. Z anti-sense postupů zatím nejdále postoupil mipomersen – anti-sense mRNA, který snižuje produkci apolipoproteinu B. Novou možnost představuje koncept tzv. small interfering RNA (siRNA), kde tyto oligonukleotidové sekvence degradují specifickou mRNA po svém navázání. Podání siRNA proti PCSK9 subkutánní injekcí zajišťuje prodlouženou kontrolu hypercholesterolemie se snížením LDL o více než 50 %. Dále jsou zajímavé nové léčebné koncepty využívající rekombinantní enzym

lecitin-cholesterol-ester tranferázu (LCAT), jehož působením stoupá hladina HDL-c, a syntetického analoga proteinu FGF21, který působí jako regulátor glukózového, lipidového a energetického metabolismu. (VRÁBLÍK, 2016)

5 Závěr

V bakalářské práci jsem se zabýval významem a aktivitou desaturáz a elongáz.

Desaturázy zavádějí dvojnou vazbu do určité polohy acylového řetězce mastných kyselin a rozdělují se na stearoyl-CoA desaturázy (SCD) a desaturázy mastných kyselin (FADS).

SCD1 zavádí dvojnou vazbu do pozice $\Delta 9$. Zatím byly identifikovány čtyři myší a dvě lidské izofomy SCD1. Expresi SCD1 je regulována hormonálně a nutričně. Z hormonů aktivuje SCD expresi hlavně inzulin, tento efekt byl prokázán pomocí 3T3-L1 preadipocyt modelu. Naopak mezi hormony, které inhibují expresi inzulinu, patří leptin. Tento jev byl demonstrován ve studii, v níž byl leptin vstříknut do centrálního nervového systému nebo podkoží ob/ob myši. Studií polynenasycených mastných kyselin bylo zjištěno, že n-3 a n-6 řady inhibují expresi SCD1, zatímco sacharidy působí jako aktivátory. Aktivita SCD se zdá být úzce spojena s de novo lipogenezí. Předpokládá se, že SCD neovlivňuje přímo produkci TAG, ale spíše na ni působí nepřímo regulací desaturáz mastných kyselin.

$\Delta 6$ a $\Delta 5$ patří mezi desaturázy mastných kyselin. Ty se dělí podle subcelulárního umístění na rozpustné a membránové desaturázy, které se dále rozlišují na front-end a first desaturázy. U lidí je $\Delta 6$ desaturáza kódována genem FADS1 a $\Delta 5$ desaturáza genem FADS2. $\Delta 6$ a $\Delta 5$ desaturáza mají schopnost desaturovat substráty PUFA na pozicích $\Delta 6$ a $\Delta 5$. SCD a FADS sdílejí některé společné znaky, ale i přesto se fylogeneticky liší. Změna odhadované aktivity SCD, D6D a D5D byly sledovány u DM2T, MS a DLP.

Elongázy prodlužují řetězec mastných kyselin o dva uhlíky. Elongace probíhá ve třech buněčných kompartmentech, z nichž nejvýznamnější je mikrozomální elongace. Zatím bylo identifikováno sedm izoform elongáz (ELOVL1-7). ELOVL1, ELOVL3, ELOVL6 a ELOVL7 preferují jako substráty nasycené a mononenasycené mastné kyseliny, naopak ELOVL2, ELOVL4 a ELOVL5 využívají substráty PUFA. Myší *Elovl1*, *Elovl5* a *Elovl6* jsou všudypřítomně exprimovány, naopak *Elovl2*, *Elovl3*, *Elovl4* a *Elovl7* jsou tkáňově specifické.

Diabetes mellitus 2. typu je velkým problémem dnešní doby. Počet diabetiků za posledních 30-35 let jen v ČR stoupl až třinásobně. DM2T je provázen poruchou řady funkcí a orgánů. V léčbě DM2T se kromě inzulinových antidiabetik využívají i neinzulinová antidiabetika, z nichž se nejvíce využívají statiny. Dalším významným onemocněním je metabolický syndrom, který podle Mezinárodní Diabetické Federace zasahuje až jednu čtvrtinu dospělé populace. Metabolický syndrom je soubor rizikových faktorů mezi

nejvýznamnější patří inzulinová rezistence, dyslipidémie, abdominální obezita a hypertenze. U metabolického syndromu je farmakoterapie složitá z toho důvodu, že nelze komplexně léčit syndrom jako celek, ale musí se využívat léčiv proti jednotlivým složkám syndromu, například v léčbě dyslipidémie roste význam tzv. principů biologické léčby, které nabízejí nové možnosti terapie.

6 Použitá literatura

- AHMADIAN, Maryam, et al. PPAR [gamma] signaling and metabolism: the good, the bad and the future. *Nature medicine*, 2013, 9.5: 557-566.
- AIRLEY, R. E, et al. Role of carbohydrate response element-binding protein (ChREBP) in generating an aerobic metabolic phenotype and in breast cancer progression. *British journal of cancer*, 2014, 110.3: 715-723.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, et al. Diagnostic and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*, 2014, 37. Supplement 1: S81-S90.
- BAI, Ting, et al. Arcanθοic acid, a diterpene in *Acanthopanax koreanum* ameliorates the development of liver fibrosis via LXRs signals. *Chemico-biological interactions*, 2014, 218: 63-70.
- BAI, Yonghong, et al. X-ray structure of a mammalian stearyl-CoA desaturase. *Nature*, 2015, 2015, 524.7564: 252-256.
- BARQUISSAU, Valentin, et al. Control of adipogenesis by oxylipins, GPCRs and PPARs. *Biochimie*, 2016.
- BHANDARI, Sushil, et al. The fatty acid chain elongase, Elov11, is required for kidney and swim bladder development during zebrafish embryogenesis. *Organogenesis*, 2016, 12.2: 78-93.
- BOND, Laura M., et al. Fatty Acid Desaturation and Elongation in Mammals. *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*, 2015, 185-204.
- BURDGE, Graham C., et al. A method for separation of phosphatidylcholine triacylglycerol, non-esterified fatty acids and cholesterol esters from plasma by solid-phase extraction. *British Journal of Nutrition*, 2000, 84.05: 781-787.
- CASTRO, L Filipe C.; TOCHER, Douglas R.; MONROIG, Oscar. Long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis in chordates: Insights into evolution of Fads and Elovl gene repertoire. *Progress in Lipid Research*, 2016, 62: 25-40.
- Česká diabetologická společnost. *Doporučený postup péče o diabetes mellitus 2. typu*. TARGET – MD s.r.o., 2016.
- DONG, Qingming, et al. Phosphorylation of sterol regulatory element binding protein-1a by protein kinase A (PAK) regulates transcriptional activity. *Biochemical and biophysical research communications*, 2014, 449. 4: 449-454.

- DURAN-SALFADO, Montserrat B.; RUBIO-GUERRA, Alberto F. Diabetic nephropathy and inflammation. *World J Diabetes*, 2014, 5.3: 393-398.
 - FIRNEISZ, Gábor. Non-alcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes mellitus. The liver disease of our age?. 2014.
 - FOLSOM, Aaron R., et al. Associations of general and abdominal obesity with multiple health outcomes in older women: the Iowa Women's Health Study. *Archives of internal medicine*, 2000, 160.14: 2117-2128.
 - GONZÁLEZ-BENGTSSON, Amanda, et al. Estrogen Enhances the Expression of the Polyunsaturated Fatty Acid Elongase Elovl2 via ER α in Breast Cancer Cells. *PLoS One*, 2016, 11.10: e0164241
 - GUILLOU, Hervé, et al. The key roles of elongases and desaturases in mammalian fatty acid metabolism: Insights from transgenic mice. *Progress in lipid research*, 2010, 49.2: 186-199.
 - HAINER, Vojtěch, et al. *Základy klinické obezitologie: 2. přepracované vydání*. Praha: Grada, 2011. ISBN 978-80-247-3252-7.
 - HODSON, Leanne; FIELDING, Barbara A. Stearoyl-CoA desaturase: rouge or innocent bystander?. *Progress in lipid research*, 2013, 52.1: 15-42.
 - CHEN, Lihong; YANG Guangrui. PPARs integrate the mammalian clock and energy metabolism. *PPAR research*, 2014, 2014.
 - CHEN, Si; HE, Hua, Xiaolin. Tissue expression profiles and transcriptional regulation of elongase of very long chain fatty acid 6 in bovine mammary epithelial cells. *PloS one*, 2017, 12.4: e0175777.
 - JACOBS, Simone, et al. Evaluation of various biomarkers as potential mediators of the association between $\Delta 5$ desaturase, $\Delta 6$ desaturase, and stearoyl-CoA desaturase activity and incident type 2 diabetes in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition-Potsdam Study. *The American journal of clinical nutrition*, 2015, 102.1: 155-164.
 - JUMP, Donald B. Mammalian fatty acid elongases. *Lipidomics: Volume 1: Methods and Protocols*, 2009, 375-389.
- KAHN, Steven E.; COOPER, Mark E.; DEL PRATO, Stefano. Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present, and future. *The Lancet*, 2014, 383.9922: 1068-1083.

- KAUR, Jaspinder. A comprehensive review on metabolic syndrome. *Cardiology research and practice*, 2014, 2014.
- KOOLMAN, Jan a Klaus-HEINRICH RÖHM. *Barevný atlas biochemie*. Praha: Grada, 2012. ISBN 978-80-247-2977-0.
- KUMADAKI, Shin, et al. Mouse Elovl promoter is an SREBP target. *Biochemical and biophysical research communications*, 2008, 368.2: 261-266.
- KUMARI, RS Pushpa, et al. Predictors of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in patient with type-2 diabetes mellitus. *International Journal*, 2017, 6.2: 372.
- KWAN, Hiu Yee, et al. Dietary lipids and adipocytes: potential therapeutic targets in cancers. *The Journal of nutritional biochemistry*, 2015, 26.4: 303-311.
- LI, Dongdi, et al. Classification and substrate head-group specificity of membrane fatty acid desaturases. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 2016, 14: 341-349.
- LITTLEWOOD, Anthony Blair. *Gas chromatography: principles, techniques and applications*. Elsevier, 2013.
- LIU, Junxi, et al. Liver Enzymes and Risk of Ischemic Heart Disease and Type 2 Diabete Mellitus: A Mendelian Randomization Study. *Scientific Reports*, 2016, 6.
- LUNA-LUNA, María, et al. Adipose tissue in metabolic syndrome: onset and progression of atherosclerosis. *Archves of medical research*, 2015, 46.5: 392-407.
- MAUVOISIN, Daniel; MOUNIER, Catherine. Hormonal and nutritional regulation of SCD1 gene expression. *Biochimie*, 93.1: 78-86.
- MAYNERIS-PERXACHS, Jordi, et al. Plasma fatty acid composition, estimated desaturase activities, and their relation with metabolic syndrome in a population at high risk of cardiovasculat disease. *Clinical nutrition*, 2014, 33.1: 90-97.
- MIR, Hina, et al. A novel recessive mutation in the gene ELOVL4 causes a neuro-ichthyotic disorder with variable expressivity. *BMC medical genetics*, 2014, 15.1: 25.
- MIRABELLI, Mario F.; COVIELLO, Giuseppe; VOLMER, Dietrich A. Determining fatty acids by desorption/ionization mass spektrometry using thin-layer chromatography substrates. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2015, 407.16: 4513-4522.

- O'NEILL, S.; O'DRISCOLL, L. Metabolic syndrome: a closer look at the growing epidemic and its associated pathologies. *obesity reviews*, 2015, 16.1: 1-12.
- OSTERMANN, Annika I., et al. Determining the fatty acid composition in plasma and tissues as fatty acid methyl esters using gas chromatography-a comparison of the different derivatization and extraction procedures. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (PLEFA)*, 2014, 91.6: 235-241.
- PATTYN, Nele, et al. The effect of exercise on the cardiovascular risk factors constituting the metabolic syndrome. *Sports medicine*, 2013, 43.2: 121-133.
- PAUTER, Anna M., et al. Elovl2 ablation demonstrates that systemic DHA is endogenously produced and is essential for lipid homeostasis in mice. *Journal of lipid research*. 2014, 55.4: 718-728.
- PERUŠIČOVÁ, Jindřiška. *Diabetes mellitus a kardiovaskulární onemocnění – kardiabetes*. Praha: Maxdorf, 2015. Současná diabetologie. ISBN 978-80-7345-428-9.
- PERUŠIČOVÁ, Jindřiška. *Diabetes mellitus v kostce*. 2. aktualizované vydání. Praha: Maxdorf, 2016. Současná diabetologie. ISBN 978-80-7345-478-4.
- POLONI, Soraira; BLOM, Henk J.; SCHWARTZ, Ida VD. Stearoyl-CoA Desaturase-1: is it the link between sulfur amino acids and lipid metabolism?. *Biology*, 2015, 5.2: 383-396.
- POOLE, Colin. *Instrumental thin-layer chromatography*. Elsevier, 2014.
- REDDY, Maroadga A.; PARK, Jung Tak; NATARAJAN, Rama. Epigenetic modifications in the pathogenesis of diabetic nephropathy. In: *Seminars in nephrology*. WB Saunders, 2013. p. 341-353.
- RISÉRUS, Ulf, et al. Rosiglitazone increases indexes of stearoyl-CoA desaturases activity in humans. *Diabetes*, 2005: 54.5: 1379-1384.
- RU, Peng, et al. Feedback Loop Regulation of SCAP/SREBP-1 by miR-29 Modulates, EGFR Signaling-Driven Glioblastoma Growth. *Cell reports*, 2016, 16.6: 1527-1535.
- SAMPATH, Harini; NTAMBI, James M. Role of stearoyl-CoA desaturase-1 in skin integrity and whole body energy balance. *Journal of Biological Chemistry*, 2014, 289.5: 2482-2488.
- SAMUEL, Varman T.; PETERSEN, Kitt Falk; SHULMAN, Gerald I. Lipid-induced insulin resistance: untravelling the mechanism. *The Lancet*, 2010, 375.9733: 2267-2277.

- SEO, Young-Kyo, et al. Regulation of steroid 5- α reductase type (Srd5a2) by sterol regulatory element binding protein and statin. *Experimental cell research*, 2009, 315. 18: 3133-3139.
- SCHACKMANN, Martin JA, et al. Enzymatic characterization of ELOVL1, a key enzyme in very long-chain fatty acid synthesis, *Biochimici et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2015, 1851.2: 231-237.
- SMITH, Ulf. Abdominal obesity: a marker of ectopic fat accumulation. *The Journal of clinical investigation*, 2015, 125.5: 1790-1792.
- SOUČEK, Miroslav, Jindřich ŠPINAR a Jiří VORLÍČEK, ed. *Vnitřní lékařství*. Praha: Grada, 2011, s. 974-975. ISBN 978-80-247-2110-1.
- SUBURU, Janel; CHEN, Yong Q. Lipids and prostate cancer. *Prostaglandins & other lipid mediators*, 2012, 98.1: 1-10.
- SVACHINA, Štěpán. *Klinická dietologie*. Praha: Grada, 2008. ISBN 978-80-247-2256-6.
- TAN, Chong Yew, et al. Adipose tissue fatty acid chain length and monounsaturatation increases with obesity and insulin rezistence. *Scientific reports*, 2015, 5.
- TASKINEN, Marja-Riitta; BORÉN, Jan. New insights into the pathophysiology of dyslipidemia in type 2 diabetes. *Atherosclerosis*, 2015, 239.2: 483-495.
- VRABLÍK, Michal. *Farmakoterapie dyslipidémie*. 2. rozšířené vydání. Praha: Maxdorf, 2016, s. 11, 29-54. Farmakoterapie pro praxi. SIBN 978-80-7354-503-3.
- WADA, Jun; MAKINO, Hirofumi. Infammation and the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Clinical Science*, 2013, 124.3: 139-152.
- WANG, Weipeng, et al. Inhibition of makkalian target of rapamycin complex1 (mTORC1) downregulates ELOVL1 gene expression and fatty acid synthesis in goat fetal fibroblasts. *International journal of molecular sciences*, 2015, 16.7: 16440-16453.
- WOLTERS, Maike, et al. Desaturase aktivty is associated with weight status and metabolic risk markers in young children. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2015, 100.10: 3760-3769.
- WU, Liya; PARHOFER, Klaus G. Diabetic dyslipidemia. *Metabolism*, 2014, 63.12: 1469-1479.
- XUE, Xi, et al. Characterization of fatty acyl elongase (elovl) gene family and hepatic elovl and delta-6fatty acyl desaturase transkript expression and fatty acid responses to

diets containing camelina oil in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2014, 175: 9-22.

- YARY, Teymoor, et al. Serum n-6 polyunsaturated fatty acids, Δ 5-and Δ 6-desaturase activities, and risk of incident type 2 diabetes in men: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. *The American journal of clinical nutrition*, 2016, 103.5: 1337-1343.
- ŽÁK Aleš a kolektiv. *Ateroskleróza: Nové pohledy*. Praha: Grada, 2011, s. 49-53. ISBN 978-80-247-3052-3