GRADA

MASTNÉ KYSELINY A TUKY VE ZDRAVÍ A NEMOCI

Miroslav Zeman
Jaroslav Macášek
Marek Vecka
a kolektiv


GRADA®

MASTNÉ KYSELINY A TUKY VE ZDRAVÍ A NEMOCI

Miroslav Zeman
Jaroslav Macášek
Marek Vecka
a kolektiv

GRADA Publishing

Upozornění pro čtenáře a uživatele této knihy
Všechna práva vyhrazena. Žádná část této tištěné či elektronické knihy nesmí být reprodukována a šířena v papírové, elektronické či jiné podobě bez předchozího písemného souhlasu nakladatele. Neoprávněné užití této knihy bude trestně stíháno. Automatizovaná analýza textů nebo dat ve smyslu čl. 4 směrnice 2019/790/EU a použití této knihy k trénování AI jsou bez souhlasu nositele práv zakázány.

Miroslav Zeman, Jaroslav Macášek, Marek Vecka a kolektiv

Mastné kyseliny a tuky ve zdraví a nemoci

Hlavní autor:
Doc. MUDr. Miroslav Zeman, CSc.,
IV. interní klinika – klinika gastroenterologie a hepatologie 1. LF UK a VFN Praha

Autoři:
MUDr. Jaroslav Macášek, Ph.D.,
IV. interní klinika – klinika gastroenterologie a hepatologie 1. LF UK a VFN Praha

RNDr. Marek Vecka, Ph.D.,
IV. interní klinika – klinika gastroenterologie a hepatologie 1. LF UK a VFN Praha

Prof. MUDr. Radan Brůha, CSc.,
IV. interní klinika – klinika gastroenterologie a hepatologie 1. LF UK a VFN Praha

Prof. MUDr. Aleš Žák, DrSc.,
IV. interní klinika – klinika gastroenterologie a hepatologie 1. LF UK a VFN Praha

Doc. Ing. Jiří Brát, CSc.,
Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Ústav mléka, tuků a kosmetiky

RNDr. Eva Tvrzická, CSc.,
IV. interní klinika – klinika gastroenterologie a hepatologie 1. LF UK a VFN Praha

Doc. Dr. Ing. Marek Doležal,
Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Fakulta potravinářské a biochemické technologie,
Ústav analýzy potravin a výživy (spolupráce na kapitole 17)

Recenzentka: Ing. Ludmila Kazdová, CSc.

Vydání odborné knihy schválila Vědecká redakce nakladatelství Grada Publishing, a.s.

© Grada Publishing, a.s., 2024
Cover Design © Grada Publishing, a.s., 2024
Autorem obrázků v knize je RNDr. Marek Vecka, Ph.D., není-li uvedeno jinak.
Obrázky 16.1–16.5 překreslil podle podkladů od autorů Jaroslav Kolman.

Vydala Grada Publishing, a.s.
U Průhonu 22, Praha 7
jako svou 9285. publikaci
Odpovědná redaktorka Mgr. Viola Těšínská
Sazba a zlom Jaroslav Kolman
Počet stran 304
1. vydání, Praha 2024
Vytiskla tiskárna TNM PRINT s.r.o., Nové Město

Tato publikace vznikla za podpory MZ ČR-RVO-VFN64165, NU23-01-00288, Cooperatio/Gastroenterologie a hepatologie 1. LF UK. Kapitola 17 vznikla za finanční podpory z prostředků Ministerstva zemědělství v rámci projektu Naučte se používat jedlé tuky a oleje. Za podporu děkujeme také firmám ADM Olomouc s.r.o., AstraZeneca Czech Republic s.r.o., FABIO PRODUKT spol. s r.o. a Zentiva, k.s.

Názvy produktů, firem apod. použité v knize mohou být ochrannými známkami nebo registrovanými ochrannými známkami příslušných vlastníků, což není zvláštním způsobem vyznačeno.

Postupy a příklady v této knize, rovněž tak informace o lécích, jejich formách, dávkování a aplikaci jsou sestaveny s nejlepším vědomím autorů. Z jejich praktického uplatnění však pro autory ani pro nakladatelství nevyplývají žádné právní důsledky.

ISBN 978-80-271-7334-1 (pdf)
ISBN 978-80-271-5161-5 (print)

ROZETIN®

rosuvastatin/ezetimib

SRDEČNÍ ZÁLEŽITOST

Primární hypercholesterolemie/ homozygotní familiární hypercholesterolemie (HoFH)[1]

Fixní kombinace pro pacienty, kteří jsou adekvátně kontrolováni volnou kombinací rosuvastatinu a ezetimibu[1]



Fixní kombinace rosuvastatinu a ezetimibu[1]

Zkrácená informace o přípravku ROZETIN

LÉČIVÁ LÁTKA: 1 potahovaná tableta obsahuje rosuvastatinum calcium (odpovídající rosuvastatinum 10mg/20mg/40mg) a ezetimibum 10 mg. **INDIKACE:** primární hypercholesterolemie (heterozygotní familiární a nefamiliární) /homozygotní familiární hypercholesterolemie (HoFH). **DÁVKOVÁNÍ:** pacient má být na vhodné hypolipidemické dietě a v průběhu léčby přípravkem Rozetin musí v dietě pokračovat. Přípravek Rozetin není vhodný pro počáteční léčbu. Pacienti mají užívat sílu odpovídající jejich předchozí léčbě jednosložkovými přípravky. Doporučená dávka: 1 tableta denně, ve stejnou dobu, s/bez jídla, tablety polykat celé a zapíjejí se vodou. Bezpečnost a účinnost kombinace ezetimib + rosuvastatin u dětí do 18 let nebyla dosud stanovena. U pacientů s mírnou poruchou funkce jater nebo ledvin není nutná úprava dávkování. U pacientů se středně těžkou poruchou funkce ledvin, u pacientů s asijským původem a u starších pacientů je doporučená úvodní dávka 5 mg rosuvastatinu. **KONTRAINDIKACE:** hypersenzitivita na léčivé látky nebo na kteroukoli pomocnou látku. Po dobu těhotenství a kojení a u žen ve fertilním věku bez přiměřených kontracepčních opatření. Aktivní onemocnění jater nebo přetrvávající nevysvětlené zvýšení koncentrace sérových transaminás a při zvýšení transaminás nad 3násobek horní hranice normálu (ULN). Při těžké poruše funkce ledvin (clearance kreatininu < 30 ml/min). Při myopatii. Při současném užívání kombinace sofosbuvir/velpatasvir/voxilaprevir nebo cyklosporinu. Dávka 40 mg/10 mg je kontraindikována u pacientů s predispozičními faktory k myopatii/rhabdomyolýze: středně těžká porucha funkce ledvin (clearance kreatininu < 60 ml/min), hypotyreóza, osobní/rodinná anamnéza dědičných muskulárních poruch, předchozí anamnéza muskulární toxicity po podání jiných inhibitorů HMG-CoA reduktázy nebo fibrátů, nadměrné požívání alkoholu, stavy, při kterých může dojít ke zvýšení plazmatických hladin rosuvastatinu, asijský původ, současné užívání fibrátů. **ZVLÁŠTNÍ UPOZORNĚNÍ:** u pacientů léčených rosuvastatinem ve všech dávkách, zvláště pak v dávkách >20 mg, byly hlášeny účinky na kosterní svalstvo, např. myalgie, myopatie a vzácně rhabdomyolýza. Pokud jsou hladiny kreatinkinázy (CK) před zahájením léčby významně zvýšené (> 5x ULN), je třeba kontrolu opakovat v průběhu 5–7 dní, jestliže opakovaná kontrola CK > 5x ULN, léčba se nemá zahajovat. S opatrností u pacientů s predispozičními faktory k myopatii/rhabdomyolýze. Pacienty je třeba požádat, aby okamžitě hlásili nevysvětlitelné bolesti svalů, svalovou slabost nebo křeče, zvláště pokud jsou spojeny s malátností nebo horečkou, jestliže dojde k výraznému vzestupu hladiny CK (> 5x ULN) nebo jsou svalové příznaky závažné a působí problémy během dne (i když jsou hodnoty CK ≤ 5x ULN), je třeba léčbu přerušit. Před začátkem a 3 měsíce po zahájení léčby se doporučuje provést jaterní testy. Léčba rosuvastatinem se má přerušit nebo dávkování snížit, pokud je hladina sérových transaminás vyšší než 3násobek ULN. Při léčbě dávkou 40 mg zvážit sledování funkce ledvin během rutinních kontrol. Pokud u pacienta existuje podezření na rozvoj intersticiálního plicního onemocnění, je třeba léčbu statiny ukončit. Byly hlášeny závažné kožní nežádoucí účinky včetně Stevensova-Johnsonova syndromu (SJS) a lékové reakce s eozinofilií a systémovými příznaky (DRESS), které mohou být život ohrožující nebo fatální. Přípravek Rozetin obsahuje monohydrát laktosy, Pacienti se vzácnými dědičnými problémy s intolerancí galaktosy, úplným nedostatkem laktázy nebo s malabsorpcí glukosy a galaktosy nemají tento přípravek užívat. **INTERAKCE:** *kontraindikované kombinace:* cyklosporin, gemfibrozil. *Nedoporučované kombinace:* fibráty a další přípravky snižující hladinu lipidů, inhibitory proteáz, inhibitory transportních proteinů, kyselina fusidová a 7 dnů po poslední dávce kyseliny fusidové. *Ostatní interakce:* rosuvastatin není ani inhibitorem, ani induktorem isoenzymů cytochromu P450, ezetimib neindukuje enzymy cytochromu P450, současné podávání antacid snížilo rychlost absorpce ezetimibu, ale na biologickou dostupnost ezetimibu nemělo žádný vliv; bylo pozorováno snížení AUC ezetimibu při použití s kolestyraminem; při použití s erytromycinem bylo pozorováno zmenšení AUC rosuvastatinu. Pokud je Rozetin přidán k warfarinu, jiným kumarinovým antikoagulanciím nebo fluindionu, musí být patřičně sledován INR. Přerušení léčby přípravkem nebo snížení dávky může vést ke snížení INR. Současné podávání rosuvastatinu a perorálních kontraceptiv vedlo ke zvětšení AUC etinylestradiolu o 26 % a norgestrelu o 34 %. Toto zvýšení hladin v plazmě brát v úvahu při určení dávek perorálního kontraceptiva. Interakce vyžadující úpravu dávkování rosuvastatinu najdete podrobně v úplném znění SPC. **FERTILITA, TĚHOTENSTVÍ A KOJENÍ:** kontraindikován v průběhu těhotenství a kojení. Ženy ve fertilním věku mají během léčby používat vhodné antikoncepční metody. **ÚČINKY NA SCHOPNOST ŘÍDIT A OBSLUHOVAT STROJE:** studie nebyly provedeny. Je však třeba brát v úvahu, že byla hlášena závrať. **NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY:** byly obvykle mírné a přechodné. *Nejčastější* nežádoucí účinky, souvisejícími s léčbou kombinací ezetimib + rosuvastatin: zvýšené jaterní transaminázy, gastrointestinální obtíže a bolest svalů. Dále *časté:* diabetes mellitus, bolest hlavy, závrať, zácpa, nauzea, bolest břicha, průjem, flatulence, astenie, únava. **UCHOVÁVÁNÍ:** v původním obalu (ochrana před světlem a vlhkostí). **VELIKOST BALENÍ:** 30 nebo 100 potahovaných tablet. **DRŽITEL ROZHODNUTÍ O REGISTRACI:** Zentiva k. s., U Kabelovny 130, 102 37 Praha 10, Česká republika. **DATUM REVIZE TEXTU:** 9. 4. 2022. **VÝDEJ** je vázán na lékařský předpis. Přípravek je plně hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. Před předepsáním nebo výdejem přípravku se seznamte s úplnou informací o přípravku, které obdržíte na adrese: Zentiva, k. s., U Kabelovny 130, 102 37 Praha 10, Česká republika.

Reference: 1. SPC přípravku Rozetin®, datum revize textu 9. 4. 2022.

ID 18566/03/2022

Určeno pro odbornou veřejnost

Zentiva, k.s., marketingové oddělení, U Kabelovny 130, 102 37 Praha 10, Česká republika, www.zentiva.cz

ZENTIVA

Obsah

1 Klasifikace a vlastnosti mastných kyselin 1
M. Vecka
1.1 Nomenklatura mastných kyselin 1
1.2 Vlastnosti mastných kyselin 4

2 Analýza mastných kyselin 9
E. Tvrzická
2.1 Historie 10
2.2 Vývoj aparatury 10
2.2.1 Injekční techniky 10
2.2.2 Kolony 10
2.2.3 Detekce 11
2.3 Kvalitativní analýza 11
2.4 Kvantitativní analýza 12
2.5 Příprava vzorku 12
2.5.1 Izolace celkového lipidu 12
2.5.2 Separace lipidových tříd 14

3 Základní metabolismus mastných kyselin 21
M. Vecka
3.1 Přehled biosyntézy mastných kyselin 21
3.1.1 De novo biosyntéza (velmi) dlouhých mastných kyselin 21
3.1.2 Přeměny esenciálních mastných kyselin 21
3.2 Základní přeměny řetězců mastných kyselin 23
3.2.1 Desaturace mastných kyselin 23
3.2.2 Elongace mastných kyselin 24
3.2.3 Oxidace mastných kyselin 25
3.3 Přeměny zvláštních typů mastných kyselin 27
3.3.1 Biosyntéza netradičních typů mastných kyselin 27
3.3.2 Biosyntéza 2-hydroxymastných kyselin 27

4 Třídy mastných kyselin 31
M. Vecka
4.1 Nasycené mastné kyseliny 31
4.1.1 Mastné kyseliny s krátkým řetězcem 31
4.1.2 Mastné kyseliny se středně dlouhým řetězcem 31
4.1.3 Mastné kyseliny s dlouhým řetězcem 32
4.2 Mononenasycené mastné kyseliny 33
4.2.1 Mononenasycené mastné kyseliny třídy n-7 33
4.2.2 Mononenasycené mastné kyseliny třídy n-9 34
4.2.3 Mononenasycené mastné kyseliny ostatních tříd 34
4.3 Polynenasycené mastné kyseliny 35
4.3.1 Polynenasycené mastné kyseliny třídy n-3 35
4.3.2 Polynenasycené mastné kyseliny třídy n-6 35
4.3.3 Polynenasycené mastné kyseliny ostatních tříd 36

4.4 Transmastné kyseliny ... 36
4.5 Konjugované mastné kyseliny ... 37
4.6 Neobvyklé mastné kyseliny ... 38
4.6.1 Mastné kyseliny s rozvětveným řetězcem ... 38
4.6.2 Mastné kyseliny s lichým počtem uhlíků ... 39
4.6.3 Mastné kyseliny s velmi dlouhým řetězcem ... 39

5 Biologicky aktivní deriváty mastných kyselin ... 45
M. Vecka
5.1 Oxylipiny ... 45
5.1.1 Eikosanoidy ... 45
5.1.2 Dokosanoidy ... 48
5.1.3 Oktadekanoidy ... 48
5.1.4 Jiné oxylipiny ... 50
5.1.5 Tvorba oxylipinů přímo ve fosfolipidech ... 50
5.1.6 Neenzymová tvorba oxylipinů ... 51
5.2 Konjugáty mastných kyselin ... 52
5.2.1 Amidy mastných kyselin ... 52
5.2.2 Estery mastných kyselin ... 53
5.3 Jiné deriváty mastných kyselin ... 55

6 Mastné kyseliny a arteriální trombóza ... 59
A. Žák
6.1 Arteriální trombóza ... 59
6.1.1 Význam arteriální trombózy ... 60
6.1.2 Arteriální trombóza a akutní koronární syndromy ... 60
6.1.3 Patogenetické faktory arteriální trombózy ... 61
6.1.4 Rizikové faktory arteriální trombózy ... 62
6.2 Polynenasycené mastné kyseliny a funkce krevních destiček ... 62
6.2.1 Eikosanoidy a trombogeneze ... 64
6.2.2 Polynenasycené mastné kyseliny třídy n-6 a funkce destiček ... 65
6.2.3 Polynenasycené mastné kyseliny třídy n-3 a funkce destiček ... 65

7 Mastné kyseliny a zánět ... 67
A. Žák
7.1 Úvod ... 67
7.2 Definice ... 67
7.3 Příčiny zánětu a protagonisté zánětlivé reakce ... 68
7.3.1 Příčiny zánětu ... 68
7.3.2 Protagonisté zánětlivé reakce ... 68
7.4 Stadia zánětlivé reakce ... 69
7.4.1 Aktivace endotelu ... 69
7.4.2 Interakce molekulárních struktur patogenů (PAMP) a struktur poškozených tkání (DAMP) se složkami vrozené imunity ... 70
7.4.3 Receptory rozeznávající typické vzory (PRR) ... 70
7.4.4 Agonisté PRR skupiny PAMP ... 71
7.4.5 Agonisté PRR skupiny DAMP ... 71
7.4.6 Aktivace signalizačních dějů ... 71
7.4.7 Význam cytokinů v zánětlivých dějích ... 71
7.4.8 Ukončení a rezoluce zánětu ... 73

7.5 Postavení lipidových sloučenin v zánětlivých procesech ... 75
7.5.1 Prozánětlivé lipidové mediátory ... 75
7.5.2 Protizánětlivé lipidové mediátory ... 76
7.5.3 Specializované prorezoluční lipidové mediátory ... 77

8 Mastné kyseliny a obezita ... 83
J. Macášek
8.1 Úvod ... 83
8.2 Patofyziologie obezity ... 83
8.3 Příjem mastných kyselin a obezita ... 84
8.4 Volné mastné kyseliny ... 84
8.5 Nasycené mastné kyseliny ... 85
8.6 Mononenasycené mastné kyseliny ... 85
8.7 Polynenasycené mastné kyseliny ... 87
8.8 Kanabinoidy a obezita ... 89

9 Mastné kyseliny a diabetes mellitus ... 95
M. Zeman
9.1 Úvod ... 95
9.2 Mastné kyseliny a inzulinová rezistence ... 95
9.3 Mastné kyseliny a β-buňky Langerhansových ostrůvků ... 97
9.4 Význam jednotlivých mastných kyselin, epidemiologické údaje, sledování biomarkerů ... 98
9.4.1 Nasycené mastné kyseliny a mastné kyseliny de novo lipogeneze ... 100
9.4.2 Kyselina linolová ... 101
9.4.3 Kyselina dihomo-γ-linolenová ... 101
9.4.4 Kyselina palmitolejová ... 102
9.4.5 PUFAn-3 ... 102
9.4.6 Další mastné kyseliny ... 103

10 Mastné kyseliny a kardiovaskulární onemocnění ... 109
M. Zeman
10.1 Úvod ... 109
10.2 Nasycené mastné kyseliny ... 109
10.3 Transmastné kyseliny ... 110
10.4 Mononenasycené mastné kyseliny ... 111
10.5 Takzvaná středomořská dieta ... 111
10.6 Polynenasycené mastné kyseliny, PUFAn-6, PUFAn-3 ... 111
10.6.1 PUFAn-6 ... 111
10.6.2 PUFAn-3 ... 113

11 Mastné kyseliny a játra ... 127
R. Brůha
11.1 Úvod ... 127
11.2 Nealkoholová tuková choroba jater ... 127
11.2.1 Přísun mastných kyselin do jater a jejich distribuce v hepatocytech ... 129
11.2.2 *De novo* lipogeneze v játrech ... 130
11.2.3 Odsun mastných kyselin z hepatocytů ... 130
11.2.4 Genetická dispozice ke zvýšené akumulaci tuků v játrech ... 131
11.2.5 Složení mastných kyselin v játrech u MASLD ... 131
11.2.6 MASLD a střevní mikrobiota ... 132
11.2.7 Léčba ... 133

12 Mastné kyseliny a GIT 137
M. Vecka
12.1 Absorpce mastných kyselin 137
12.2 Metabolismus mastných kyselin ve střevě 138
12.3 Vliv různých onemocnění na střevní absorpci a metabolismus mastných kyselin 139
12.3.1 Chronická pankreatitida 140
12.3.2 Crohnova choroba 141
12.3.3 Cystická fibróza 141
12.3.4 Potravinové intolerance 142

13 Mastné kyseliny, mozek a neuropsychiatrická onemocnění 145
M. Zeman
13.1 Úvod 145
13.2 Polynenasycené mastné kyseliny v mozku plodu a novorozence 146
13.3 Funkce DHA a AA v CNS 149
13.4 Mastné kyseliny u patologických stavů v neuropsychiatrii 152
13.4.1 Alzheimerova demence 152
13.4.2 Depresivní poruchy 155
13.4.3 Bipolární afektivní porucha 156
13.4.4 Schizofrenie 158
13.4.5 Neurodegenerativní onemocnění 159

14 Mastné kyseliny a nádory 169
J. Macášek
14.1 Obecný přehled 169
14.2 Odchylky metabolismu mastných kyselin u nádorů a vztah ke kancerogenezi 170
14.3 Mastné kyseliny u nádorové kachexie, úloha PUFA 172
14.4 Mastné kyseliny u vybraných maligních chorob 172
14.4.1 Karcinom pankreatu 172
14.4.2 Kolorektální karcinom 173
14.4.3 Karcinom prostaty 173
14.4.4 Karcinom prsu 175
14.5 Mastné kyseliny a terapie nádorů 179

15 Efekty léčby na metabolismus mastných kyselin 185
M. Zeman, M. Vecka
15.1 Hypolipidemika 185
15.1.1 Inhibitory biosyntézy cholesterolu 185
15.1.2 Fibráty 187
15.1.3 Látky interferující se střevní absorpcí cholesterolu 188
15.1.4 Kyselina nikotinová 189
15.2 Antidiabetika 189
15.2.1 Inzulinové senzitizátory 189
15.2.2 Inkretiny 194
15.2.3 Gliflozíny (inhibitory SGLT2) 195
15.2.4 Inhibitory α-glukosidasy 195
15.2.5 Inzulinová sekretagoga (deriváty sulfonylurey, glinidy) 195
15.3 Vybrané psychotropní látky a mastné kyseliny 196
15.3.1 Antipsychotika 196
15.3.2 Antidepresiva 199

16 Tuky a mastné kyseliny z pohledu výživy ... 205
J. Brát
16.1 Výživová doporučení ... 205
16.1.1 Výživová doporučení pro tuky ... 206
16.1.2 Výživová doporučení pro mastné kyseliny ... 207
16.1.3 Reálný versus doporučený příjem jednotlivých skupin mastných kyselin ... 210
16.1.4 Zjednodušení výživových doporučení pro spotřebitele ... 219
16.2 Získávání a zpracování olejů a tuků ... 230
16.2.1 Lisování, extrakce ... 230
16.2.2 Rafinace ... 230
16.2.3 Ztužování ... 231
16.2.4 Frakcionace ... 232
16.2.5 Přeesterifikace ... 233
16.3 Funkční vlastnosti tuků a možnosti jejich ovlivnění ... 235
16.3.1 Tuky v teplé kuchyni ... 235
16.3.2 Strukturní tuky ... 235
16.4 Tuky a legislativa ... 236
16.4.1 Výživové údaje na obalech potravin ... 236
16.4.2 Výživová a zdravotní tvrzení pro tuky ... 237
16.4.3 Regulace transmastných kyselin v potravinách ... 237
16.5 Co si odnést z této kapitoly ... 238

17 Charakteristiky nejvýznamnějších tuků a olejů ... 243
J. Brát, M. Doležal
17.1 Běžně používané oleje a tuky ... 244
17.1.1 Řepkový olej ... 244
17.1.2 Slunečnicový olej ... 244
17.1.3 Slunečnicový olej s vysokým obsahem kyseliny olejové (FA 18:1n-9) ... 245
17.1.4 Olivový olej ... 245
17.1.5 Mléčný tuk, máslo, ghee ... 246
17.1.6 Vepřové sádlo ... 246
17.1.7 Margarín – roztíratelný tuk s obsahem mléčného tuku do 3 % ... 248
17.1.8 Pokrmový tuk ... 249
17.2 Oleje a tuky používané v domácnostech okrajově ... 249
17.2.1 Kokosový tuk ... 249
17.2.2 Palmový olej a palmojádrový tuk ... 250
17.2.3 Lněný olej ... 251
17.2.4 Sójový olej ... 251
17.2.5 Dýňový olej ... 252
17.2.6 Konopný olej ... 252
17.2.7 Sezamový olej ... 253
17.2.8 Rýžový olej ... 253
17.2.9 Podzemnicový (arašídový) olej ... 253
17.2.10 Kukuřičný (klíčkový) olej ... 254
17.2.11 Olej z vlašských ořechů ... 254
17.2.12 Olej z lískových ořechů ... 254
17.2.13 Avokádový olej ... 255
17.2.14 Mandlový olej ... 255
17.2.15 Makový olej ... 255
17.2.16 Pšeničný (klíčkový) olej ... 256
17.2.17 Kakaové máslo ... 256

17.2.18 Světlicový olej . . . 257
17.2.19 Olej z ostropestřce . . . 257
17.2.20 Brutnákový olej . . . 257
17.2.21 Pupalkový olej . . . 258
17.2.22 Olej z hroznových jader . . . 258
17.2.23 Makadamiový olej . . . 258
17.2.24 Chia olej . . . 259
17.2.25 Rakytníkový olej . . . 259
17.2.26 Bambucké máslo (máslo shea) . . . 260
17.2.27 Pistáciový olej . . . 260
17.2.28 Olej z ořechů para . . . 260
17.2.29 Olej z ořechů kešu . . . 261
17.2.30 Olej z pekanových ořechů . . . 261
17.2.31 Arganový olej . . . 262
17.2.32 Hadincový olej . . . 262
17.2.33 Olejničkový olej . . . 263
17.2.34 Lničkový olej . . . 263
17.2.35 Husí sádlo . . . 263
17.2.36 Kachní sádlo . . . 264
17.2.37 Hovězí lůj . . . 264
17.2.38 Olej z tresčích jater . . . 264
17.2.39 Rybí tuk . . . 265
17.3 Co si odnést z této kapitoly . . . 265

Přílohy . . . 267
M. Vecka
Příloha 1: Triviální názvy mastných kyselin . . . 267
Příloha 2: Ukazatelé metabolismu mastných kyselin . . . 273
P2.1 Analýza exprese genů a obsah mastných kyselin . . . 273
P2.2 Analýza profilu mastných kyselin . . . 273
P2.3 Odvozené parametry metabolismu mastných kyselin . . . 273
P2.4 Klasifikační schémata . . . 276

Nejdůležitější použité zkratky . . . 277

Rejstřík . . . 283

Souhrn . . . 289

Summary . . . 290

ÚVOD

Mastné kyseliny jsou základním stavebním kamenem lipidových sloučenin. I když byly izolovány již na začátku 19. století, stále ještě nejsou známy všechny funkce, které vykonávají v živých organismech. Kromě toho, že mastné kyseliny jsou významnou zásobní formou energie, hrají také důležité strukturální a funkční role. Ovlivňují fyzikálně-chemické vlastnosti a tím i funkce buněčných membrán. Vazbou na některé proteiny modulují jejich působení, jsou součástmi molekul podílejících se na buněčné signalizaci a jsou také prekurzory širokého spektra biologicky aktivních molekul, které ovlivňují životní funkce v průběhu celého života.

Tato kniha jako první v České republice pojednává problematiku mastných kyselin v celé šíři – od teoretických základů struktury a metabolismu až po uplatnění mastných kyselin v patogenezi závažných onemocnění. Čtenář je informován o uplatnění jednotlivých mastných kyselin v mechanismech zánětu, trombózy, oxidačního stresu, inzulinové rezistence i kancerogeneze a o současném stavu zkoumání možností užití některých mastných kyselin v prevenci a léčbě kardiometabolických, gastroenterologických, neuropsychiatrických i nádorových onemocnění. Významnou součástí knihy je kapitola informující o postavení mastných kyselin ve výživě. V této kapitole jsou obsaženy informace o nutričních vlastnostech hlavních mastných kyselin a o jejich zastoupení v olejích užívaných v potravinářství a průmyslu. Komentovány jsou zde současné názory na význam složení tuků ve stravě z hlediska prevence závažných onemocnění. Velkým přínosem k porozumění často složité problematice, která je v knize probírána, jsou barevné obrázky a tabulky, jež výrazně zlepšují orientaci čtenáře v textu.

Kniha je určena širokému okruhu čtenářů. Cílem autorů je zaujmout nejen biochemiky, ale i kardiology, diabetology, gastroenterology, neurology a psychiatry, praktické lékaře a další zdravotníky všech oborů. Informace o významu kvality a kvantity tuků ve výživě však jistě najdou svůj okruh čtenářů v řadách široké veřejnosti i mimo zdravotnictví.

1 Klasifikace a vlastnosti mastných kyselin

M. Vecka

Mastné kyseliny patří mezi důležité strukturní součásti lipidů, které spolu s bílkovinami a sacharidy představují základní stavební kameny živých organismů. Moderní klasifikační systém lipidů definuje lipidy jako hydrofobní nebo amfipatické (či amfifilní) molekuly, vzniklé buď karbaniontovou kondenzací thioesterů (např. mastné kyseliny), nebo karbokationtovou kondenzací isoprenových jednotek (např. steroly) (Fahy et al. 2009, Liebisch et al. 2020). Mastné kyseliny patří podle tohoto systému k prvnímu typu lipidů a v něm do třídy odvozené přímo od acylů mastných kyselin (třída FA, fatty acids). Pro strukturu mastné kyseliny je typická přítomnost polární části, karboxylu, a nepolárního řetězce, kde mohou být přítomny hlavně dvojné vazby. Délka řetězce, počet a konfigurace dvojných vazeb jsou parametry, které významně ovlivňují fyzikálně-chemické vlastnosti molekuly mastné kyseliny, a tato variabilita předurčuje mastné kyseliny k různorodému použití v metabolických dějích a k nezastupitelné roli v živočišném organismu. Mastné kyseliny jsou hlavní zásobní formou energie, nezbytnou strukturální součástí membrán a pomocí kovalentní vazby modifikují a regulují vlastnosti mnohých proteinů. Jako součásti některých lipidových signálních molekul hrají důležitou roli v metabolických regulačních kaskádách (Rangan a Smith 2002).

1.1 Nomenklatura mastných kyselin

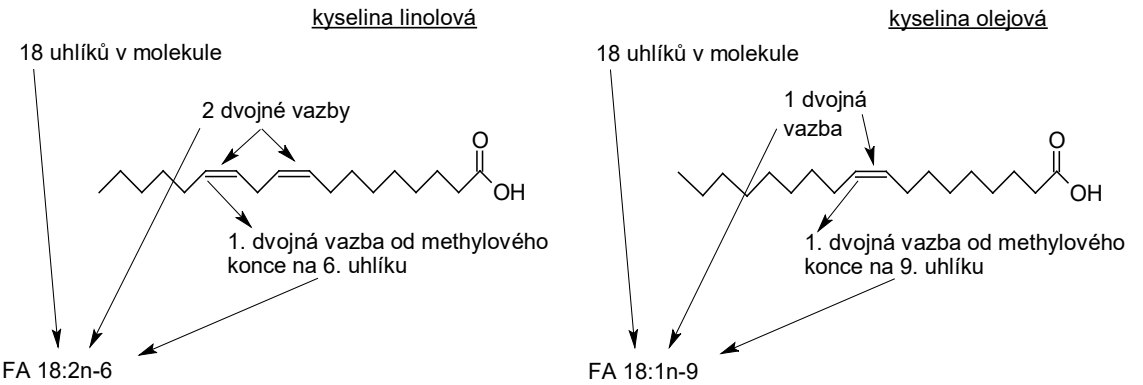
Pojmenování řetězců mastných kyselin pomocí systematického názvosloví je značně nepřehledné, a tak se v literatuře často dává přednost triviálním názvům (tab. 1.1 a tab. P1–4 v příloze 1) (Dijkstra 2021), které mají dlouhou historickou tradici. V praxi se také osvědčilo několik zjednodušujících systémů popisujících strukturu mastné kyseliny:

1. Zkrácená notace struktury mastných kyselin ve tvaru C:Nn-x. V tomto systému C představuje počet uhlíků v řetězci, N počet dvojných vazeb, x pozici první dvojné vazby **počítáno od methylového konce**. Tato notace předpokládá, že všechny dvojné vazby mají konfiguraci *cis*- (*Z*), jsou od sebe odděleny methylenovou skupinou (= mají tzv. pentadienové uspořádání) a na řetězci molekuly nejsou přítomny substituenty (viz obr. 1.1).

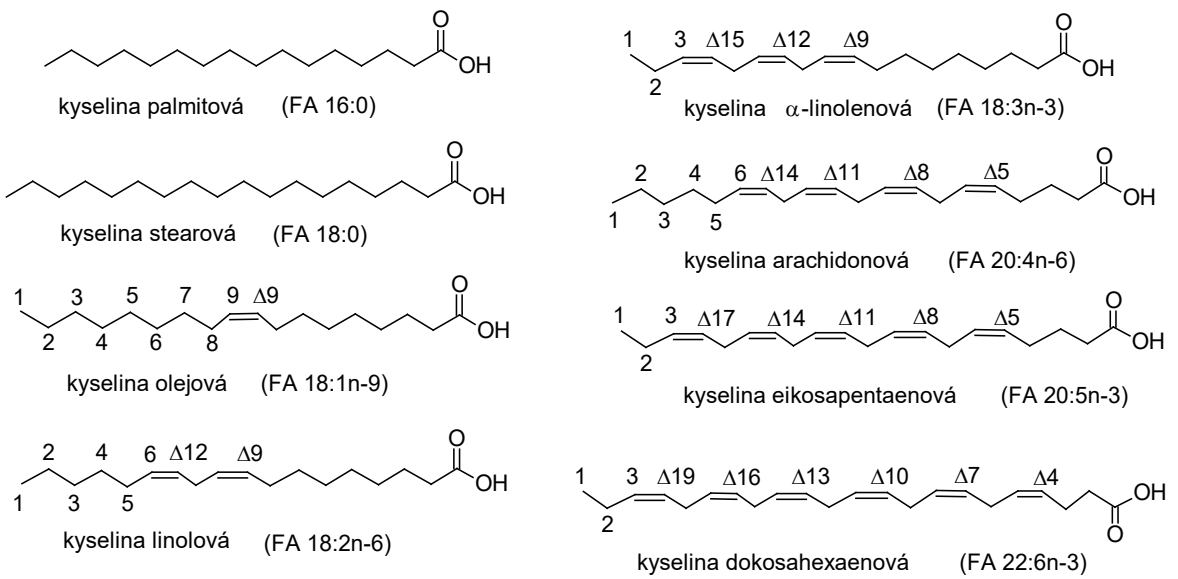
2. Zkrácená notace struktury mastných kyselin ve tvaru C:Nωx. Postup a předpoklady jsou stejné jako u systému 1, pouze se místo n- použije ω; tento postup je historicky starší.

Oba výše zmíněné postupy mají tu výhodu, že usnadňují orientaci v metabolických vztazích mezi mastnými kyselinami (podrobněji viz kapitola 3 Základní metabolismus mastných kyselin), protože poloha první dvojné vazby na methylovém konci se u člověka v rámci klasických metabolických drah nemění. Podle toho můžeme u člověka nenasycené řetězce mastných kyselin klasifikovat jako zástupce třídy (rodiny) n-11, n-9, n-7 či n-6. Další příklady mastných kyselin viz obr. 1.2.

Pokud nejsou dvojné vazby v orientaci *cis*- (*Z*), ale *trans*- (*E*), přidává se na konec notace ještě t. V případě vyššího počtu dvojných vazeb se takto doplní orientace všech dvojných vazeb od karboxylového konce včetně dvojných vazeb v konfiguraci *cis*- (*Z*), kterým náleží



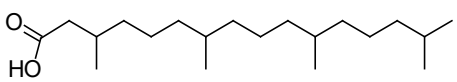
Obr. 1.1 Použití zkrácené notace



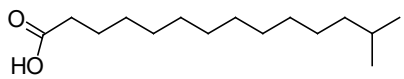
Obr. 1.2 Strukturní vzorce některých mastných kyselin. Na obrázku je naznačen postup číslování podle zkrácené notace oproti číslování řetězců vycházejícího z IUPAC nomenklatury (čísla po symbolu Δ)

zkratka c (např. 18:1n-9t, 18:2n-6cc, 18:2n-6ct, 18:2n-6tc, 18:2n-6tt). Někdy můžeme v literatuře narazit i na zkrácenou notaci začínající na velké C nebo FA, takže kyselina stearová se popíše jako C18:0 nebo FA 18:0 (vedle 18:0). V dalším textu se budeme držet notace začínající identifikátorem FA.

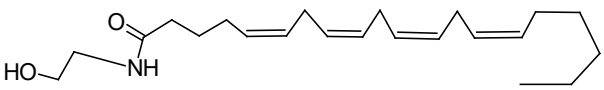
3. Jestliže na popis struktury mastné kyseliny nestačí výše zmíněné přístupy, můžeme narazit i na další systémy (které však nejsou v literatuře příliš konzistentní). V klinické praxi se s takovými strukturami mastných kyselin setkáváme vzácně; pro představu uvádíme jen nejběžnější systémy, jež využívají výhod zkrácené notace (ad body 1. a 2.) a používají se pro popis struktur pomocí hmotnostní spektrometrie (Liebisch et al. 2020) nebo i jiných analytických metod (Dijkstra 2021).
   a) V případě, že je porušen předpoklad oddělení dvojných vazeb methylenovou skupinou, musí se pozice všech dvojných vazeb naznačit číselnými lokanty. Ty respektují názvoslovný systém **IUPAC**, tedy počítají uhlíky **od karboxylového konce**, např. FA 18:3 9c11t13c nebo FA 18:3 D9c11t13c, případně FA 18:3D^{9c11t13c} nebo FA 18:3 (9Z,11E,13Z).
   b) Pokud jsou přítomny další substituenty na řetězci mastné kyseliny, naznačuje se struktura připojované struktury zkratkami. Existují ustálené zkratky pro jednoduché řetězce, často se vychází z názvosloví organické chemie. Použí-



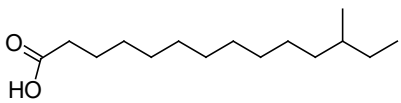
fytanová kyselina (FA 16:0; 3Me,7Me,11Me,15Me)



isopentadekanová kyselina (FA iso15:0)



anandamid, 2-arachidonoyl ethanolamin (NAE 20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))



anteisopentadekanová kyselina (FA anteiso15:0)

Obr. 1.3 Netradiční mastné kyseliny

Tab. 1.1 Nejběžnější mastné kyseliny s dlouhým řetězcem

Označení	Systematický název podle IUPAC	Triviální název**	Zkratka
FA 14:0	tetradekanová kyselina	kyselina myristová	
FA 16:0	hexadekanová kyselina	kyselina palmitová	
FA 16:1n-7	(9*Z*)-hexadec-9-enová kyselina	kyselina palmitolejová	POA
FA 18:0	oktadekanová kyselina	kyselina stearová	SA
FA 18:1n-9t	(9*E*)-oktadec-9-enová kyselina	kyselina elaidová	
FA 18:1n-7t	(11*E*)-oktadec-11-enová kyselina	kyselina vakcenová	(VA)
FA 18:1n-9	(9*Z*)-oktadec-9-enová kyselina	kyselina olejová	OA
FA 18:1n-7	(11*Z*)-oktadec-11-enová kyselina	kyselina *cis*-vakcenová	cVA
FA 18:2n-6	(9*Z*,12*Z*)-oktadeka-9,12-dienová kyselina	kyselina linolová	LA
FA 18:3n-6	(6*Z*,9*Z*,12*Z*)-oktadeka-6,9,12-trienová kyselina	kyselina γ-linolenová	GLA
FA 18:3n-3	(9*Z*,12*Z*,15*Z*)-oktadeka-9,12,15-trienová kyselina	kyselina α-linolenová	ALA
FA 18:4n-3	(6*Z*,9*Z*,12*Z*,15*Z*)-oktadeka-6,9,12,15-tetraenová kyselina	kyselina stearidonová	(STA)
FA 20:0	ikosanová kyselina*	kyselina arachidová	(ARA)
FA 20:3n-9	(5*Z*,8*Z*,11*Z*)-ikosa-5,8,11-trienová kyselina	kyselina Meadova	(MEA)
FA 20:3n-6	(8*Z*,11*Z*,14*Z*)-ikosa-8,11,14-trienová kyselina	kyselina dihomo-γ-linolenová	DHGLA
FA 20:4n-6	(5*Z*,8*Z*,11*Z*,14*Z*)-ikosa-5,8,11,14-tetraenová kyselina	kyselina arachidonová	AA
FA 20:5n-3	(5*Z*,8*Z*,11*Z*,14*Z*,17*Z*)-ikosa-5,8,11,14,17-pentaenová kyselina	kyselina eikosapentaenová/timnodonová	EPA
FA 22:0	dokosanová kyselina	kyselina behenová	
FA 22:1n-9	(13*Z*)-dokosa-13-enová kyselina	kyselina eruková	(EA)
FA 22:4n-6	(7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*)-dokosa-7,10,13,16-tetraenová kyselina	kyselina adrenová	(ADA)
FA 22:5n-3	(7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-dokosa-7,10,13,16,19-pentaenová kyselina	kyselina klupanodonová***	DPA-3
FA 22:5n-6	(4*Z*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*)-dokosa-4,7,10,13,16-pentaenová kyselina	kyselina Osbondova	DPA-6
FA 22:6n-3	(4*Z*,7*Z*,10*Z*,13*Z*,16*Z*,19*Z*)-dokosa-4,7,10,13,16,19-hexaenová kyselina	kyselina cervonová	DHA
FA 24:1n-9	(15*Z*)-tetrakosa-15-enová kyselina	kyselina nervonová	(NA)

* Správná předpona pro dvacetiuhlíkový skelet je ikosa-. Tvar eikosa- přetrvává z historických důvodů v termínech např. pro eikosanoidy nebo eikosapentaenovou kyselinu (viz dále a kapitola 3 Základní metabolismus mastných kyselin). V dalším textu se budeme držet těchto zavedených termínů.
** Úplnější přehled triviálních názvů mastných kyselin viz příloha 1.
*** Někdy se užívá název klupadonová.

vají se i předpony *iso*-, *anteiso*-, případně i jejich zkratky (a, i) pro připojení methylové skupiny na druhý uhlík (v případě předpony *iso*-) nebo na třetí uhlík (v případě předpony *anteiso*-) od methylového konce (v obou předchozích případech se uhlík methylové skupiny počítá do názvoslovného kmene). Další významné substituenty zahrnují různé hydroxy-, oxo-, amino- a další skupiny (viz obr. 1.3).

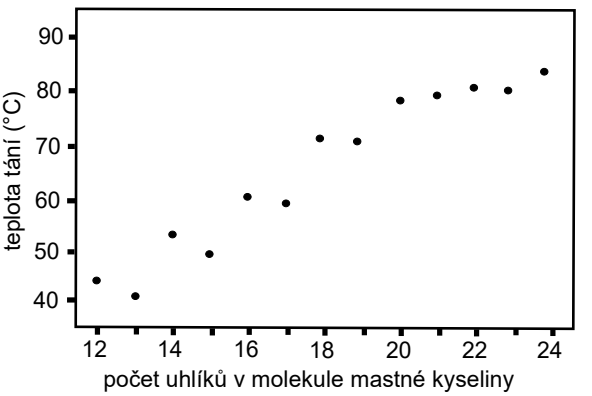
Podle délky řetězce se mastné kyseliny rozdělují na mastné kyseliny s krátkým řetězcem (SCFA, short-chain fatty acids) obsahující v molekule 2–5 uhlíků, mastné kyseliny se středním řetězcem (MCFA, medium-chain fatty acids) s 6–11 uhlíky, mastné kyseliny s dlouhým řetězcem (LCFA, long-chain fatty acids) s 12–21/22 uhlíky a mastné kyseliny s velmi dlouhým řetězcem (VLCFA, very long-chain fatty acids) obsahující řetězce s více než 21/22 uhlíky. Podle stupně nenasycenosti řetězce rozlišujeme nasycené mastné kyseliny (SFA, saturated fatty acids), řetězce s jednou dvojnou vazbou neboli mononenasycené mastné kyseliny (MUFA, monounsaturated fatty acids) nebo řetězce s více dvojnými vazbami čili polynenasycené mastné kyseliny (PUFA, polyunsaturated fatty acids).

1.2 Vlastnosti mastných kyselin

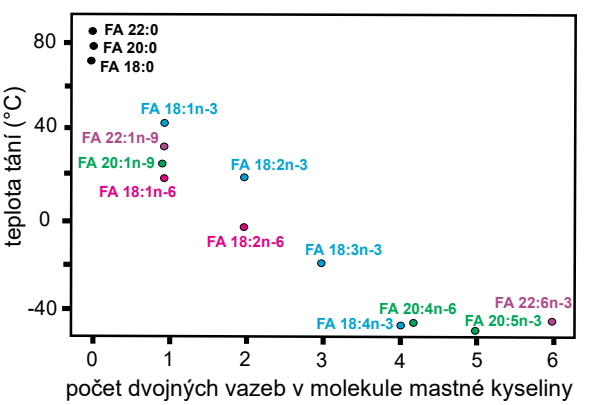
Mastné kyseliny jsou v živém organismu přítomny ve volné (neesterifikované) formě jen zřídka, proto fyzikální vlastnosti přesně definovaných molekul mastných kyselin jenom zčásti přibližují fyzikální vlastnosti přírodních matric. V jednodušším přiblížení můžeme na tyto matrice nahlížet jako na směsi glycerolipidů (v případě různých tuků/olejů), ve složitějších matricích jsou zastoupeny i jiné lipidové třídy (vzpomeňme na molekuly glycerofosfolipidů nebo sfingolipidů v biologických membránách). Klinicky důležité fyzikálně-chemické vlastnosti mastných kyselin zahrnují hlavně bod tání, rozpustnost a náchylnost k oxidačním změnám. Úroveň střevní absorpce mastných kyselin úzce souvisí s těmito charakteristikami (McKimmie et al. 2013).

Bod tání

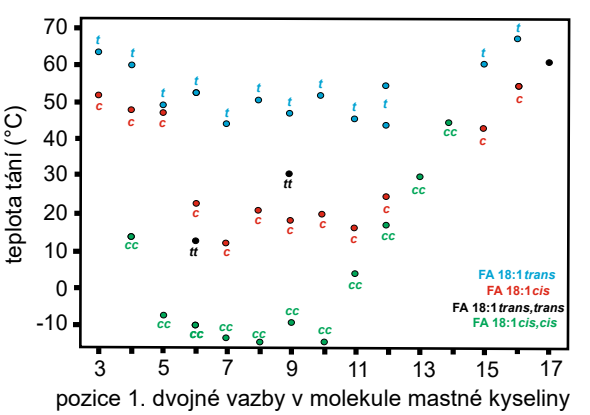
Řetězce mastných kyselin ve fosfolipidech hrají důležitou roli při zachování optimální fluidity membrán. Remodelace savčích membrán (včetně změn zastoupení dvojných vazeb a délek acylů mastných kyselin) je důsledkem vlivu nutrice nebo požadavků na funkci membrány (Ernst et al. 2018). Obecně se bod tání mastné kyseliny zvyšuje s délkou řetězce (u řetězců s lichým počtem uhlíků jsou většinou teploty tání nižší) a sni-



Obr. 1.4a Body tání nasycených mastných kyselin



Obr. 1.4b Body tání nenasycených mastných kyselin



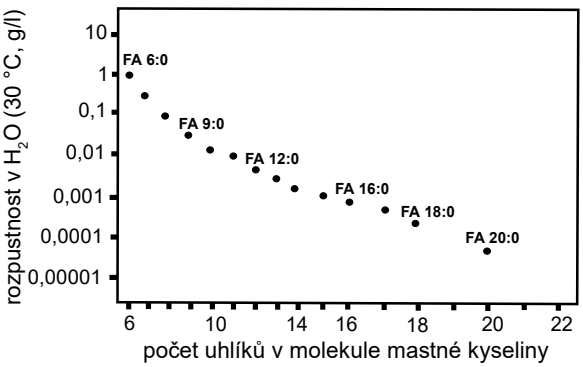
Obr. 1.4c Body tání mastných kyselin s 18 uhlíky

žuje s přibývajícím počtem dvojných vazeb (obr. 1.4a, b). Největší vliv mají dvojné vazby uprostřed řetězce, *trans*-orientace dvojné vazby teplotu tání zvyšuje, jak je patrné z obrázku 1.4c (Gunstone et al. 2007).

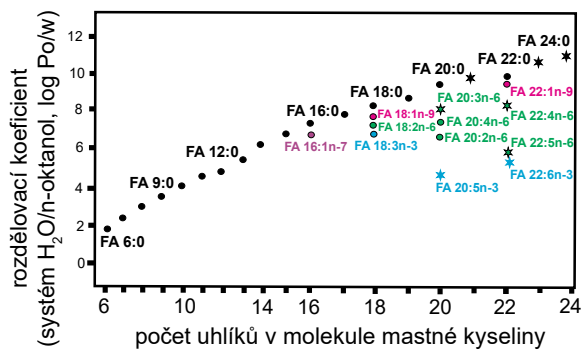
Body tání volných nasycených mastných kyselin a jejich triacylglycerolů se příliš neliší, pro mononenasycené FA se tento rozdíl pohybuje v řádu 10 °C (Knothe a Dunn 2009). Tato vlastnost se dá poměrně dobře extrapolovat i na složité směsi triacylglycerolů (oleje) podle zastoupení SFA/MUFA/PUFA (Fasina et al. 2008).

Rozpustnost ve vodě

Rozpustnost mastných kyselin v polární fázi při neutrálním pH úzce souvisí se schopností organismu tyto molekuly absorbovat a transportovat. Krátké mastné kyseliny jsou ve vodě rozpustné, kdežto delší řetězce mastných kyselin rozpouštění ve vodě brání (obr. 1.5a). Farmakologicky důležitý parametr popisující rozpustnost v soustavě nepolárního/polárního rozpouštědla, rozdělovací koeficient pro systém *n*-oktanol/voda, je pro mnoho mastných kyselin také znám (obr. 1.5b) (Bavafa et al. 2011).



Obr. 1.5a Rozpustnost nasycených mastných kyselin

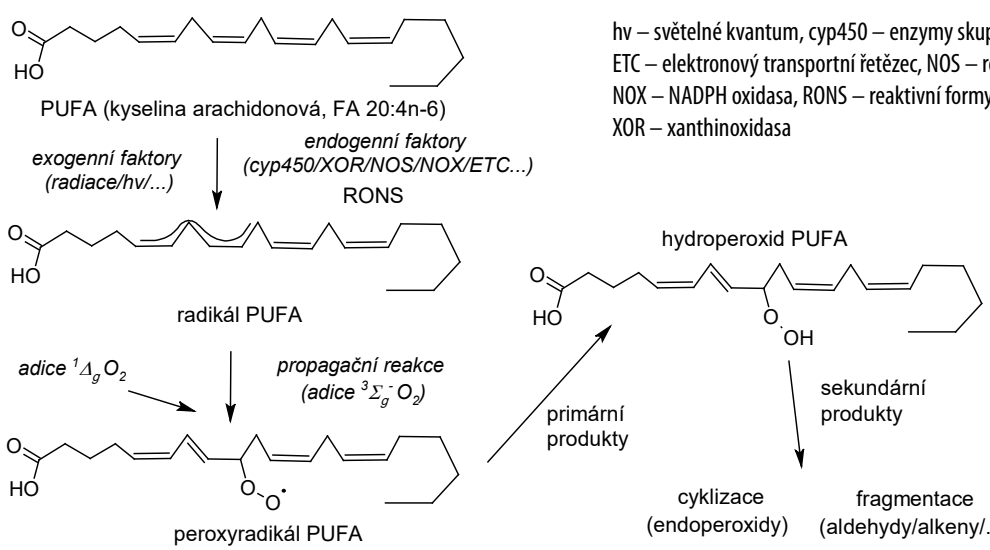


Obr. 1.5b Rozdělovací koeficient FA podle Ralstona (1942); údaje pro kyseliny s řetězcem delším než 14 uhlíků jsou horním odhadem hodnot vyjádřených hvězdičkami a jsou vypočteny na základě kvantověchemických aproximací (Bavafa 2011)

Odolnost vůči oxidaci

Odolnost vůči oxidaci je další důležitá vlastnost řetězců mastných kyselin. Obecně nasycené řetězce odolávají oxidačním změnám velmi dobře a za mírných podmínek jsou považovány za stálé, např. poměry různých oxidačních produktů k nasyceným mastným kyselinám se používají jako indikátory stárnutí olejomaleb (Modugno

hv – světelné kvantum, cyp450 – enzymy skupiny cytochromu P450, ETC – elektronový transportní řetězec, NOS – rozpřažená NO synthasa, NOX – NADPH oxidasa, RONS – reaktivní formy kyslíku a dusíku, XOR – xanthinoxidasa



Obr. 1.6 Počáteční fáze oxidace nenasycených mastných kyselin. Na obrázku je naznačena pouze jedna možnost tvorby hydroperoxidu z kyseliny arachidonové

et al. 2019, Manzano et al. 2011). Přítomnost dvojných vazeb zvyšuje náchylnost řetězce mastné kyseliny k oxidačním změnám, což je zvláště patrné u dvojných vazeb v pentadienovém uspořádání, kde je vodík methylenové skupiny snadno abstrahován radikály a vzniká rezonančně stabilizovaný radikál (obr. 1.6). Další osud tohoto radikálu závisí na mnoha faktorech, zejména intramolekulární pozici a uspořádání dalších dvojných vazeb vůči uhlíku nesoucímu nepárový elektron, dále na koncentraci a vlastnostech dalších látek v matrici.

Ve vodném prostředí, kde jsou mastné kyseliny součástí micelárních struktur, není vztah mezi počtem dvojných vazeb a náchylností k oxidaci čistě lineární. Řetězce EPA a DHA (zástupci PUFAn-3) jsou v tomto prostředí stabilnější než LA i AA (patřící do PUFAn-6), protože zaujímají výhodnější konformace bránící dalšímu šíření oxidačních změn. Dietní suplementace PUFAn-6 náchylnost částic LDL k oxidaci zvyšuje, kdežto přidávání PUFAn-3 nemá na oxidaci LDL-částic jasný efekt (Ghnimi et al. 2018, Miyashita 2014). Pokusy *in vitro* naznačují, že EPA lépe než DHA inhibuje oxidaci LDL-částic (Sheratt et al. 2020), a má tak od určitých koncentrací příznivý vliv na vlastnosti membrán, což mimo jiné stojí za úspěchy suplementace EPA v prevenci kardiovaskulárních onemocnění (O'Connell et al. 2020 a též kapitola 10 Mastné kyseliny a kardiovaskulární onemocnění).

K zapamatování:

- Mastné kyseliny patří mezi důležité stavební složky biologických membrán, hrají významnou roli v mnoha metabolických dějích.
- Názvosloví mastných kyselin často vychází z triviálních pojmenování; v současné době se používá i zkrácená notace ve formátu C:Nn-x, kde C představuje počet uhlíků v řetězci, N počet dvojných vazeb, x pozici první dvojné vazby počítáno od methylového konce.
- Podle počtu uhlíků v molekule se mastné kyseliny dělí na mastné kyseliny s řetězcem krátkým (2–5 uhlíků), středně dlouhým (6–11 uhlíků), dlouhým (12–21/22 uhlíků) a velmi dlouhým (nad 21/22 uhlíků).
- Podle počtu dvojných vazeb se mastné kyseliny rozdělují na nasycené (bez dvojné vazby), mononenasycené (jedna dvojná vazba) a polynenasycené (dvě a více dvojných vazeb).
- Struktura mastné kyseliny má významný vliv na její fyzikálně-chemické vlastnosti, jako jsou rozpustnost, bod tání (vyšší délka řetězce snižuje polaritu molekuly a zvyšuje bod tání) nebo odolnost vůči oxidaci (dvojné vaby zvyšují náchylnost vůči oxidaci).

Literatura ke kapitole 1

Bavafa S, Mahboubi M, Behjatmanesh Ardakani R, et al.: Quantitative structure-property relationship (QSPR) study of octanol-water partition coefficients (logPo/w) of fatty acids using multiple linear regression (MLR). *Ovidius Univ Anna Chem* 2011; 22: 79–86.

Dijkstra AJ: *Trivial names of fatty acids – Part 1*. https://lipidlibrary.aocs.org/resource-material/trivial-names-of-fatty-acids-part-1. Datum přístupu 8. 3. 2021.

Ernst R, Ballweg S, Levental I: Cellular mechanisms of physicochemical membrane homeostasis. *Curr Opin Cell Biol* 2018; 53: 44–51.

Fahy E, Subramaniam S, Murphy RC, et al.: Update of the LIPID MAPS comprehensive classification system for lipids. *J Lipid Res* 2005; 50 (Suppl): S9–S14.

Fasina OO, Craig-Schmidt M, Colley Z, et al.: Predicting melting characteristics of vegetable oils from fatty acid composition. *LWT* 2008; 41: 1501–1505.

Ghnimi S, Budilarto E, Kamal-Eldin A: The New Paradigm for Lipid Oxidation and Insights to Microencapsulation of Omega-3 Fatty Acids. *Comprehensive Rev Food Sci Food Safety* 2018; 16: 1206–1218.

Gunstone FD, Harwood JL, Dijkstra AJ (Eds.) *The Lipid Handbook*. 3rd Ed. Boca Raton, FL USA, CRC Press 2007 Index.

Knothe G, Dunn RO: A Comprehensive Evaluation of the Melting Points of Fatty Acids and Esters Determined by Differential Scanning Calorimetry. *J Am Oil Chem Soc* 2009; 86: 843–856.

Liebisch G, Fahy E, Aoki J, et al.: Update on LIPD MAPS classification, nomenclature, and shorthand notation for MS-derived lipid structures. *J Lipid Res* 2020; 61: 1539–1555.

Manzano E, Rodriguez-Simon LR, Navas N, et al.: Study of the GC-MS determination of the palmitic-stearic ratio for the characterization of drying oil painting: La Encarnación by Alonso Cano as a case study. *Talanta* 2011; 84: 1148–1154.

McKimmie RL, Easter L, Weinberg RB: Acyl chain length, saturation, and hydrophobicity modulate the efficiency of dietary fatty acid absorption in adult humans. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2013; 305: G620–G627.

Miyashita K: Paradox of omega-3 PUFA oxidation. *Eur J Lipid Sci Technol* 2014; 116: 1268–1279.

Modugno F, Di Gianvincenzo F, Degano I, et al.: On the influence of relative humidity on the oxidation of fresh and aged oil paints. *Sci Rep* 2019; 9: 5533.

O'Connell TD, Mason RP, Budoff MJ, et al.: Mechanistic insights into cardiovascular protection for omega-3 fatty acids and their bioactive lipid metabolites. *Eur Heart J* 2020; 22 (Suppl J): J3–J20.

Properties of fatty acids and their methyl esters. In: *CRC Handbook of Chemistry and Physics*. 97th Ed. (Haynes WM Eds.) Boca Raton, FL USA, CRC Press 2017, Section 7-7.

Ralston AW, Hoerr CW: The solubilities of the normal saturated fatty acids. *J Org Chem* 1943; 7: 546–555.

Rangan VS, Smith S: Fatty acid synthesis in eucaryotes. In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*, 4th Ed. (Vance DE, Vance JE Eds.), Amsterodam, The Netherlands, Elsevier Science B.V. 2002, p. 151–179.

Sheratt SCR, Juliano RA, Mason RP: Eicosapentaenoic acid (EPA) has optimal length and degree of unsaturation to inhibit oxidation of small dense LDL and membrane cholesterol domains as compared to related fatty acids in vitro. *BBA – Biomembranes* 2020; 1862: 183254.

2 Analýza mastných kyselin

E. Tvrzická

V přírodě se vyskytuje velké množství mastných kyselin (FA), jen v lidské plazmě jich bylo identifikováno okolo 60. Mají většinou rovný řetězec se sudým počtem atomů C a dvojnými vazbami v pentadienovém uspořádání, převážně v konfiguraci *cis*-; obecně jsou značeny CN:Pn-x, kde CN je celkový počet atomů C, P počet dvojných vazeb, x poloha první dvojné vazby od methylového konce. Pro různé metabolické studie jsou obvykle stanovovány pouze ty FA, které v metabolismu hrají významnou roli (obvykle pouze sudé s 12–22 uhlíky). Důležitost těchto analýz dokládá skutečnost, že dosud bylo publikováno více než 250 000 analýz v oblasti medicíny, biologie, potravinářství a dalších.

Analýza profilu FA v biologickém materiálu (zde především v lipidech krevního séra, membránách krevních buněk, tukové tkáni) a dále v potravinách a doplňcích stravy je nejčastěji realizována metodami plynové chromatografie (GLC) s plamenoionizační detekcí (FID) nebo vysokoúčinné kapalinové chromatografie na reverzní fázi (RP-HPLC) s UV detekcí. Pro GLC jsou FA převáděny nejčastěji na methylestery za alkalické či kyselé katalýzy (např. methoxid sodný, fluorid boritý, acetylchlorid, methyl chloroformát, kyselina sírová); pro HPLC jsou derivatizovány chromofory k detekci UV (např. fenacylbromid, 2-bromo-2´-acetonafton, 2-nitrofenylhydrazin, dibromoacetofenon, 1-naftylamin) nebo fluorescenční (např. panacylbromid, 9-anthryldiazomethan, 9-(2-hydroxyethyl)-karbazol, 9-bromomethylakridin, 3-bromoacetyl-7-methoxykumarin).

Nejdokonalejším systémem je spojení GLC nebo HPLC s hmotnostně spektrometrickou detekcí, avšak vysoké pořizovací náklady aparatury jsou pro širší využití v rozsáhlých studiích limitujícím faktorem. Tyto metody byly v nedávné době přehledně zpracovány (Chiu a Kuo 2020).

Pro GLC stanovení jsou používány kolony střední, resp. vysoké polarity (25–30 m, resp. 50–100 m). U středně polárních kolon je pořadí eluce (retenční čas, RT) určeno délkou řetězce a stoupajícím počtem dvojných vazeb ($RT_{FA\ 18:4n-3} < RT_{FA\ 20:0}$). Jejich poměrně vysoký teplotní limit umožňuje i eluci sterolů při analýze sterolesterů, nelze však oddělit isomery v konfiguraci *trans*-. Ty mohou být analyzovány na velmi polárních kolonách, které mají nižší teplotní limit, *trans*- isomery jsou eluovány před příslušnými *cis*- isomery, pro stejné CN roste RT s počtem dvojných vazeb, ale pořadí eluce je ovlivněné ještě dalšími faktory ($RT_{FA\ 20:0} < RT_{FA\ 18:3n-3}$). Analýzy HPLC mohou být isokratické nebo gradientové, pro mobilní fázi (MF) jsou používány směsi methanol, acetonitril, tetrahydrofuran, kyselina octová. Pořadí eluce je výrazně odlišné – *cis*- isomery jsou eluovány před odpovídajícími *trans*- isomery, při stejném CN jsou FA eluovány podle klesajícího počtu dvojných vazeb ($RT_{FA\ 20:5n-3} < RT_{FA\ 14:0}$).

Obě metody, GLC i HPLC, mají specifické výhody i nevýhody. Pro GLC je nastřikované množství v řádu ng-μg, pro HPLC μg-mg. Plyn představuje ekologickou a dokonale reprodukovatelnou mobilní fázi oproti organickým rozpouštědlům. Nástřik za studena přímo na kolonu (cold on-column) v GLC nezpůsobuje ztráty těkavějších složek ve srovnání s nástřikem do vyhřívaného injektoru. Díky moderním aparaturám je zajištěna dobrá reprodukovatelnost teplotního programu při GLC, stejně jako reprodukovatelnost gradientu mobilní

fáze u HPLC. Při chromatografickém procesu dochází u obou metod ke kontaminaci stacionární fáze jednak rozkladnými produkty vzorku, jednak samotnou mobilní fází, což vede ke změnám v dělení i kvantitativní odezvy jednotlivých složek. U GLC lze problém řešit použitím předkolony, která je v průběhu životnosti měněna, případně odříznutím části kolony s viditelnými depozity. U HPLC lze rovněž po určitou dobu vyměňovat předkolony, pak následuje částečná výměna náplně kolony. U obou metod platí, že linearitu kalibrační závislosti odezvy detektoru na nastřikovaném množství jednotlivých složek je třeba pro každý systém individuálně určit a v průběhu životnosti kolony kontrolovat. Obsah složek bývá většinou stanovován jako molární procento, méně často je určován absolutně metodou vnitřního standardu.

Tato kapitola je součástí rozsáhlé publikace o složení FA a jeho změnách za různých patofyziologických stavů – v důsledku onemocnění, léčby, výživy a dalších faktorů; proto se budeme zabývat především metodou, která byla v těchto studiích využita, tj. metodou GLC-FID.

2.1 Historie

V roce 2022 uplynulo již 70 let od doby, kdy James a Martin (1952) publikovali první práci o separaci nederivatizovaných mastných kyselin s krátkým až středním řetězcem (C2–C11) plynovou chromatografií. Po čtyřech letech publikovali titíž autoři (James a Martin, 1956) separaci mastných kyselin s dlouhým řetězcem (C12–C18) ve formě methylesterů. Tato metoda se ukázala jako nejvýhodnější a je používána dodnes.

Stejně jako u každé nové metody i u plynové chromatografie bylo nezbytné překonat řadu obtíží. Především to byly ztráty jednotlivých složek vzorku, ke kterým docházelo ve všech třech částech aparatury – v injektoru, koloně i detektoru. Dalším závažným problémem byly možnosti integrace – na základě manuálního měření se plocha vrcholu (peaku) vypočetla jako součin výšky a šířky v její polovině. Nulovou linii bylo rovněž nutné prokládat manuálně. Za těchto podmínek bylo třeba vztahovat naměřené hodnoty ploch peaků ke známému množství vnitřního standardu na základě kalibrace, jak bude zmíněno dále. Technický pokrok za posledních 70 let udělal tak obrovský skok, že dnes jsou tyto způsoby práce jen těžko uvěřitelné; přesto stále ještě žijí jejich pamětníci.

2.2 Vývoj aparatury

2.2.1 Injekční techniky

Úlohou vyhřívaného injektoru je převést nastřikovaný vzorek v organickém rozpouštědle do plynné formy. V případě mastných kyselin to znamená do formy aerosolu, protože u většiny z nich je bod varu totožný s teplotou rozkladu. První injektory byly kovové a do značné míry katalyzovaly pyrolytický rozklad vzorku. Na počátku 60. let se začaly vybavovat inertními vložkami z křemene nebo speciálně upraveného skla, a ztráty nenasycených mastných kyselin tak byly způsobeny isotermálním chromatografickým procesem na náplňových kolonách (Gerson et al. 1966). Vliv injekční techniky na odezvu detektoru popsali detailně Grob a Grob (1969). Vývoj kapilárních kolon byl doprovázen zaváděním nových injekčních systémů, které měly zajistit kvantitativní odezvu jednotlivých složek lišících se těkavostí (Grob a Grob 1978). Nejlepší technikou je nástřik na kolonu za studena, tzv. cold on-column injektor, který vylučuje jakoukoli diskriminaci nenasycených složek během nástřiku (Grob a Grob 1978, Badings a De Jong 1983). Nevýhodou této techniky je nutnost nízké počáteční teploty termostatu (cca 30 °C), což lze obejít zavedením tzv. pohyblivého „on-column“ injektoru. Injekční systém bez rozpouštědla, nazývaný též pevný injektor nebo injektor s pohyblivou jehlou (van den Berg a Cox 1972, Sisfontes et al. 1981) má výhodu snadné údržby, pro analýzu FAME (fatty acids methyl esters) však není výhodný (Al Makdessi et al. 1986).

Nejčastěji je pro analýzu FAME používán vyhřívaný injektor typu „split-splitless“, přičemž forma splitless je méně diskriminující pro složky lišící se značně hodnotou bodu varu; optimalizací všech parametrů klasického nástřiku „split“ lze diskriminaci prakticky vyloučit (Bannon et al. 1987). Kombinaci všech zmíněných injekčních technik umožňuje injektor s programovanou teplotou odpařování (Eder et al. 1991), který je však k analýze FAME využíván jen zřídkakdy (Eder et al. 1992).

2.2.2 Kolony

První analýzy FAME byly realizovány na náplňových kolonách, což byly kovové nebo skleněné trubice o délce 1–3 m a vnitřním průměru 2–4 mm. Pro tyto kolony byly charakteristické ztráty odezvy detektoru, které rostly se stoupajícím CN a stupněm desaturace a mu-

sely být kompenzovány korekčními faktory (response correction factors, RCF) (Gerson et al. 1966, Ackman et al. 1963, Ackman et al. 1964). Počátkem 70. let byly náplňové kolony postupně nahrazovány kapilárními se širokým (wide-bore, 0,7–1 mm) a úzkým vnitřním průměrem (narrow-bore, 0,1–0,3 mm). Kolony byly zhotoveny ze skla nebo křemene, byly dlouhé 15–100 m a uvnitř byly pokryty chemicky vázanou stacionární fází o různé polaritě.

Pro analýzu FA v biologických vzorcích nejsou vhodné nepolární stacionární fáze (komerční značení CP-Sil 5, CP-Sil 8, DB-1, DB-5, OV-1, OV-101, SE 30, SP-2100, SPB-1, SPB-5). Pořadí eluce na těchto fázích reflektuje bod varu jednotlivých složek; nenasycené složky jsou eluovány před nasycenými a špatně jsou rozlišeny polohové isomery, především u MUFA (Bakkeren et al. 1984). Nejčastěji se používají kolony o střední polaritě (komerční značení CP-WAX 52, CP-WAX 58, Carbowax 20M, DB-225, DB-1701, DB-WAX, DB-FFAP, OV-225, SP-2300). Pořadí eluce je dáno především délkou uhlíkového řetězce a teprve na druhém místě stupněm desaturace. Pro hodnocení je toto pořadí velmi výhodné, protože FAME se čtyřmi až pěti dvojnými vazbami jsou eluovány před nasycenými FAME s řetězcem o dva uhlíky delším, tj. kyselina stearidonová (FA 18:4n-3) je eluována před arachovou (FA 20:0), eikosapentaenová kyselina (FA 20:5n-3) před behenovou (FA 22:0) a dokosapentaenová kyselina (FA 22:5n-3) před kyselinou lignocerovou (FA 24:0). Dokosahexaenová kyselina (FA 22:6n-3), jedna z nejdůležitějších kyselin z rodiny n-3, je eluována mezi FA 24:0 a kyselinou nervonovou (FA 24:1n-9) s rozdělením až k nulové linii. Polynenasycené FA (PUFA) skupiny n-6 jsou eluovány před PUFAn-3 se stejným CN a počtem dvojných vazeb (Beaumelle a Vial 1986). Kolony s vysoce polární stacionární fází (komerční označení CP-Sil 88, OV-275, SP-2330, SP-2340) jsou používány k separaci geometrických (*cis-trans*) isomerů. Tyto kolony bývají dlouhé 50–100 m, ale pro uspokojivé rozdělení *cis-trans* isomerů 18:1 bývá někdy nutné předchozí rozdělení preparativní tenkovrstevnou chromatografií (TLC, thin layer chromatography) na silikagelu impregnovaném roztokem dusičnanu stříbrného (argentnitrátová chromatografie) (Ratnayake 1998).

2.2.3 Detekce

Spojení plynové chromatografie s hmotnostně spektrometrickou detekcí je tím nejlepším k analýze vzorků, které obsahují neobvyklé mastné kyseliny (Coombe et al. 1985, Caruso et al. 1991, Bizzozero et al. 1991), ale vysoká pořizovací cena je důvodem pro častější využití podstatně levnějšího plamenoionizačního detektoru (FID, flame ionization detector). Počátkem 70. let byly k analýze FAME používány i detektory založené na tepelné vodivosti (TCD, thermal conductivity detector), které poskytovaly výsledky srovnatelné s FID (Herb a Martin 1970, Watanabe et al. 1973), posléze však bylo nalezeno jejich vhodnější využití k analýze plynných směsí.

Optimalizací operačních podmínek plamenoionizačního detektoru, především průtoku vodíku, lze rozšířit rozsah lineární odezvy a dosáhnout tak zlepšení kvantitativních výsledků (Albertyn et al. 1982). Adjustace systému tak, aby bylo dosaženo správné odezvy detektoru pomocí teoretických RF (Ackman a Sipos 1964), je správnější než aplikace RCF pro korekci systémových chyb (Albertyn et al. 1982).

Za podmínek isotermální analýzy bylo prakticky nemožné detekovat FA s velmi dlouhým řetězcem (Iverson 1970). Optimalizace teplotního programu, často několikastupňového proloženého isotermálními úseky, dovoluje uspokojivé rozdělení všech sledovaných složek v „rozumném“ čase (do 60 minut). Kritický pár, jehož zhoršené dělení signalizuje nutnost pozměnit teplotní program, vyměnit předkolonu nebo odstranit kontaminovanou počáteční část kolony, představují pro analýzu FAME v biologických vzorcích obvykle kyseliny palmitolejová (FA 16:1n-7) a Δ7 hexadecenová (FA 16:1n-9).

2.3 Kvalitativní analýza

Využití retenčních dat pro kvalitativní analýzu bylo publikováno spolu se zavedením metody GC (James a Martin 1952). Systém retenčních indexů je založen na lineární závislosti mezi logaritmem retenčního objemu a CN homologů za daných chromatografických podmínek. V roce 1958 Kováts publikoval tento vztah, známý jako Kovátsovy retenční indexy. O rok později byl tento vztah modifikován pro homologní série FAME lišící se stoupajícím stupněm desaturace (James 1959). Retenční objemy byly nahrazeny adjustovanými retenčními časy (Ettre 1964) a pro programovaný teplotní program elučními teplotami (Van den Dool a Kratz 1963). Teplotní závislost retenčních indexů definovali Takács se spolupracovníky v roce 1972 (Takács et al. 1972). Pro běžnou praxi je výhodnější používat hodnoty ekvivalentní délky řetězce (ECL) než klasické Kovátsovy indexy (Miwa et

al. 1960). Ty jsou za podmínek teplotního programu vypočteny z rovnice:

$$ECL = (RT_x - RT_n)/(RT_{n+i} - RT_n) + n$$

kde index x přísluší sledované složce, indexy n a n+i standardům (obvykle nasyceným homologům s rovným řetězcem) eluovaným před složkou x a po ní. Ekvivalentní délky řetězce pro FAME na různých stacionárních fázích studovali Ackman a Hooper (1973), Ackman et al. (1974), Sébédio a Ackman (1982). Pro velké rutinní série, kde jednotlivé složky již byly identifikovány, je výhodnější používat parametr relativní retenční čas (RRT), vypočtený jako prostý poměr nekorigovaných retenčních časů sledovaných složek a vnitřního standardu. Integrační software (SW) poskytuje automatický výpočet RRT, je však třeba počítat s tím, že tento parametr se mění se stárnutím kolony a musí být podle potřeby aktualizován. Nejmodernější SW umožňují velmi snadnou identifikaci stanovovaných složek superpozicí chromatogramu měřeného a kontrolního vzorku, který je aktualizován v každé měřené sérii.

2.4 Kvantitativní analýza

Kvantitativní analýza metodou GLC-FID je založena na vztahu mezi hmotou „efektivního uhlíku" a odezvou detektoru. Efektivním uhlíkem pro FAME je míněna hmotnost uhlíkových atomů v methylenových skupinách, ne však uhlíku v karboxylové skupině. Kvantifikace jednotlivých FA je založena na srovnání ploch jejich peaků, A_i, a ploch peaku vnitřního standardu (IS), A_{is}. Jako IS je obvykle používána FA s lichým počtem atomů uhlíku, která není přítomna ve zkoumaném biologickém vzorku. Pro analýzu FAME v krvi a dalších biologických vzorcích jsou to nejčastěji kyseliny heptadekanová (FA 17:0) (Eder et al. 1991, Eder et al. 1992, Bannon et al. 1986, Muskiet et al. 1983, Ohta et al. 1990) a nonadekanová (FA 19:0) (Beaumelle a Vial 1986, Taylor et al. 1987, Sattler et al. 1996). Někteří autoři použili ke stanovení polynenasycených FA (PUFA) v krevním séru kyselinu dokosatrienovou (FA 22:3n-3) (Ohta et al. 1990, Liebich et al. 1991), Shantha a Ackman (1990) pro analýzu rybích olejů kyselinu trikosanovou (FA 23:0) a tetrakosenovou (FA 24:1n-9). S rostoucím rozdílem CN vzrůstá i hodnota relativní standardní odchylky (RSD), což bývá kompenzováno použitím několika IS (van der Steege et al. 1987, Eder et al. 1991). Platnost hodnot teoretické relativní odezvy (RRF, Ackman a Sipos 1964) potvrdili Bannon se spolupracovníky (1986) analýzou PUFA před hydrogenací a po ní a dále Eder se spolupracovníky (1991) srovnáním různých injekčních technik. V tabulce 2.1 jsou uvedeny teoretické hodnoty RRF pro FAME CN 8-24, vypočtené jako poměr váhového procenta aktivních atomů uhlíku jednotlivých složek vztažených ke 4 referenčním FAME (FA 17:0, FA 18:0, FA 19:0, FA 21:0).

Výsledky složení FA, získané měřením na kapilárních kolonách, byly po dlouhou dobu vyjadřované jako molární procento jednotlivých složek, které se prakticky rovnalo procentu ploch jejich peaků. Pouze někteří autoři vyjadřovali výsledky jako absolutní koncentrace vztažené k definovanému objemu či hmotnosti biologického vzorku (Ohta et al. 1990, Sattler et al. 1996) podle vzorce:

$$C_i = C_{is} \cdot A_i/A_{is} \cdot RRF_{teor}^{-1}$$

kde indexy i a is náležejí stanovované složce a vnitřnímu standardu.

2.5 Příprava vzorku

2.5.1 Izolace celkového lipidu

Prvním krokem ke stanovení profilu FA v biologickém materiálu je izolace lipidové složky, nejčastěji metodou podle Folche, tj. směsí chloroformu a methanolu v poměru 2:1 (Folch et al. 1957). Modifikace této metody záměnou chloroformu za výrazně méně toxický dichlormethan (Carlson et al. 1985) poskytuje stejné kvantitativní výtěžky, je však šetrnější vůči laboratornímu personálu.

Nejdůležitější podmínkou úspěšné izolace lipidu je dodržet poměr objemu vzorku a extrakční směsi tak, aby se při extrakci netvořily 2 fáze – vodná a organická (obvykle 1:10–20). U krevního séra a kapalných biologických vzorků postačí cca 10minutové třepání, po kterém následuje filtrace precipitátu a rozdělení fází přidáním vody nebo solného roztoku. Lipidová složka zůstává ve spodní chloroformové vrstvě, která je po odebrání vysušena proudem dusíku za teploty do 50 °C, aby nedošlo k rozkladu nebo úniku těkavých složek. Pokud postačí stanovení profilu FA v celkovém lipidu, je vhodné před

Tab. 2.1 Teoretické relativní odezvy

CN	C=C	MW_{FA}	MW_{FAME}	% C[a]	$RRF_{17:0}$[b]	$RRF_{18:0}$[b]	$RRF_{19:0}$[b]	$RRF_{21:0}$[b]
8	0	144,212	158,239	60,72	1,182	1,193	1,202	1,220
10	0	172,266	186,293	64,47	1,113	1,123	1,133	1,149
12	0	200,320	214,346	67,24	1,067	1,077	1,086	1,101
14	0	228,373	242,400	69,37	1,035	1,044	1,053	1,068
14	1	226,357	240,384	69,95	1,026	1,035	1,044	1,059
16	0	256,427	270,454	71,06	1,010	1,019	1,028	1,042
16	1	254,411	268,438	71,59	1,003	1,012	1,020	1,034
17	0	270,454	284,480	71,78	1,000	1,009	1,017	1,032
18	0	284,480	298,507	72,43	0,991	1,000	1,008	1,023
18	1	282,465	296,491	72,92	0,984	0,993	1,001	1,016
18	2	280,449	294,476	73,42	0,978	0,986	0,995	1,009
18	3	278,433	292,460	73,92	0,971	0,980	0,988	1,002
18	4	276,417	290,444	74,44	0,964	0,973	0,981	0,995
19	0	298,507	312,534	73,02	0,983	0,992	1,000	1,014
20	0	312,534	326,561	73,56	0,976	0,985	0,993	1,007
20	1	310,518	324,545	74,02	0,970	0,979	0,987	1,001
20	2	308,502	322,529	74,48	0,964	0,972	0,980	0,994
20	3	306,487	320,513	74,95	0,958	0,966	0,974	0,988
20	4	304,471	318,498	75,42	0,952	0,960	0,968	0,982
20	5	302,455	316,482	75,90	0,946	0,954	0,962	0,976
21	0	326,561	340,588	74,06	0,969	0,978	0,986	1,000
22	0	340,588	354,614	74,52	0,963	0,972	0,980	0,994
22	1	338,572	352,599	74,94	0,958	0,966	0,974	0,988
22	2	336,556	350,583	75,37	0,952	0,961	0,969	0,983
22	3	334,540	348,567	75,81	0,947	0,955	0,963	0,977
22	4	332,524	346,551	76,25	0,941	0,950	0,958	0,971
22	5	330,509	344,535	76,70	0,936	0,944	0,952	0,966
22	6	328,493	342,520	77,15	0,930	0,939	0,946	0,960
24	0	368,641	382,668	75,33	0,953	0,961	0,969	0,983
24	1	366,625	380,652	75,73	0,948	0,956	0,964	0,978

atomové hmotnosti: C = 12,0115, O = 15,9994, H = 1,0079

[a] hmotnostní procento aktivních uhlíkových atomů (FAME)

[b] teoretická relativní odezva: $RRF_i = \%C_{ref} / \%C_i$

rozdělením fází přidat vnitřní standard. U pevných biologických vzorků – tkání, buněčných membrán, tuhých potravin – je třeba použít homogenizátor. U tkání, které obsahují poměrně mnoho vody, byla navržena extrakce lipidu směsí chloroformu a methanolu v poměru 1:2 (Bligh a Dyer 1959). Tato směs bývá někdy slangově nazývána „obrácený Folch". Homogenizaci je také možné provést pouze v methanolu – vzhledem k jeho neomezené mísitelnosti s vodou je homogenizace snadnější a nemohou se vytvořit dvě fáze. Chloroform či dichlormethan jsou přidány ke zhomogenizovanému vzorku a další postup je stejný jako u krevního séra. Dosažené výtěžky jsou podle našich zkušeností rovnocenné.

2.5.2 Separace lipidových tříd

Pro medicínský výzkum obvykle bývá stanovení profilu FA v celkovém lipidu nedostatečné – metabolické změny mohou probíhat v jednotlivých lipidových třídách odlišně a ve směsi mohou být nevýznamné. Pro separaci lipidových tříd – esterů cholesterolu, triacylglycerolů a fosfolipidů – máme na výběr několik možností.

Tenkovrstevná chromatografie s fluorescenční detekcí, využívající klasické tenké vrstvy silikagelu impregnovaného detekčním činidlem o vlnové délce 254 a 366 nm jako stacionární fáze, je výhodnou separační technikou vzhledem k nenáročnosti na přístrojové vybavení. Složení mobilní fáze závisí na separovaných lipidech (Cartwright 1993):

- separace neutrálních lipidů (NL) s mobilní fází heptan-diethylether-kyselina octová (80:20:1), PL zůstávají na startu; pořadí eluce (klesající R_f) je: WE, SE, GEDE, TAG, FA, FS, DAG, MAG, PL,
- separace fosfolipidů s mobilní fází chloroform-methanol-kyselina octová, voda (60 : 50 : 1 : 4), NL se pohybují s čelem. Pořadí eluce: NL, CL, PE, PI, PS, PC, SM, LPL (lysoPL).

Zkratky názvů jednotlivých lipidových tříd jsou uvedeny v tabulce 2.2.

Desky pro TLC mohou být buď komerčně vyráběné, nebo připravené laboratorně (ve druhém případě je izolace lipidových tříd snadnější). Komerčně vyráběné desky mohou zapříčinit rozklad nenasycených mastných kyselin (Sowa a Subbaiah 2004), proto je vhodné jednotlivé sorbenty otestovat pomocí syntetických standardů.

Při práci s tenkou vrstvou je třeba mít na paměti, že je zde vzorek vystaven ve velké míře působení vzdušného kyslíku, což vede k destrukci především složek s více dvojnými vazbami. Dobu tohoto působení je třeba omezit na minimum. Destrukce je tím větší, čím menší množství vzorku máme k dispozici.

Tab. 2.2 Zkratky názvů lipidových tříd

CL	kardiolipin
DAG	diacylglycerol
GEDE	glyceryletherdiester
FA	mastná kyselina
FS	volný sterol
LPC	lysofosfatidylcholin
MAG	monoacylglycerol
NL	neutrální lipidy
PC	fosfatidylcholin
PE	fosfatidylethanolamin
PI	fosfatidylinositol
PL	fosfolipid
PS	fosfatidylserin
SE	sterolester
SM	sfingomyelin
TAG	triacylglycerol
WE	vosk (waxester)

Při práci je třeba dodržovat tyto zásady:

1. Zásadně nepracujeme, pokud teplota v laboratoři přesáhne 25 °C. Vzorek nesmí být vystaven působení denního světla (UV složka urychlí rozpad dvojných vazeb); pracujeme v zatemněné místnosti při umělém osvětlení.
2. Pracujeme pouze v menších sériích.
3. Před nanášením naředíme všechny vzorky, které budou zpracovány.
4. Na jednu desku naneseme 2 extrakty z 0,8–1 ml plazmy, nebo 3 extrakty z 0,5–0,7 ml.
5. Do vany dáme vyvíjet pouze 2 desky současně. Při zpracování větší série vzorků pracujeme s více vyvíjecími vanami a vhodným časovým odstupem.
6. Desky po vyvinutí sušíme nejlépe ve vakuové sušárně; pokud není k dispozici, necháme vysušit v uzavřené digestoři.
7. Pokud je třeba UV lampu žhavit, izolujeme ji neprůhledným materiálem. Osvit desky UV světlem je třeba omezit na nejkratší možnou dobu.
8. Po obkreslení skvrn zpracováváme opět pouze materiál ze 2 desek, zbylé ponecháme ve vakuu.

Vážení čtenáři, právě jste dočetli ukázku z knihy ***Mastné kyseliny a tuky ve zdraví a nemoci*.**
Pokud se Vám ukázka líbila, na našem webu si můžete zakoupit celou knihu.