



UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
Přírodovědecká fakulta
Laboratoř růstových regulátorů

**Lipidomická analýza cerebrospinální tekutiny
transgenních potkanů s tauopatií**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Autor: **Bc. Lenka Kocurová**
Studijní program: N1501 Biologie
Studijní obor: Experimentální biologie
Forma studia: Prezenční
Vedoucí práce: **Mgr. Štěpán Kouřil**
Rok odevzdání práce: 2020

BIBLIOGRAFICKÁ IDENTIFIKACE

Jméno a příjmení autora	Bc. Lenka Kocurová
Název práce	Lipidomická analýza cerebrospinální tekutiny transgenních potkanů s tauopatií
Typ práce	Diplomová
Pracoviště	Laboratoř růstových regulátorů
Vedoucí práce	Mgr. Štěpán Kouřil
Rok obhajoby práce	2020
Abstrakt	<p>Alzheimerova choroba je nejčastější příčinou demence v populaci a zároveň nejčastější tauopatií. Onemocnění je charakteristické ukládáním hyperfosforylovaných a zkrácených tau proteinů ve formě neurofibrilárních klubek v neuronech a gliích. Cílem práce byla lipidomická analýza vzorků mozkomíšního moku kontrolních a transgenních potkanů s tauopatií za účelem nalezení nových potenciálních biomarkerů tauopatického procesu. Byl využitý přístup cílené lipidomické analýzy technikou vysokoúčinné kapalinové chromatografie na reverzní fázi ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií. Celkem bylo identifikováno 394 lipidů z kategorií acylů mastných kyselin, glycerolipidů, glycerofosfolipidů a sfingolipidů. Na základě diskriminační analýzy pomocí ortogonální projekce do latentních struktur byly zjištěny nejvýznamnější rozdíly mezi skupinami transgenních a kontrolních vzorků u sfingomyelinů, fosfatidylcholinů a ethericky vázaných fosfatidylcholinů.</p>
Klíčová slova	Alzheimerova choroba, tauopatie, tau protein, lipidomika
Počet stran	124
Počet příloh	4
Jazyk	Český

BIBLIOGRAPHICAL IDENTIFICATION

Author's name and surname	Bc. Lenka Kocurová
Title of thesis	Lipidomic analysis of cerebrospinal fluid from transgenic rats with tauopathy
Type of thesis	Diploma
Department	Laboratory of Growth Regulators
Supervisor	Mgr. Štěpán Kouřil
The year of presentation	2020
Abstract	<p>Alzheimer's disease is the most common cause of dementia in the population and the most common tauopathy. The disease is characterized by the deposition of hyperphosphorylated and truncated tau proteins in the form of neurofibrillary tangles located in neurons and glial cells. Lipidomic analysis of cerebrospinal fluid samples of control and transgenic rats with tauopathy was performed with the aim to find new potential biomarkers of pathological process of tauopathy. Targeted lipidomic approach was chosen using reversed phase high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. There were 394 lipids identified from the lipid categories of fatty acyls, glycerolipids, glycerophospholipids and sphingolipids. According to orthogonal partial least squares discriminant analysis, the most significant differences between the groups of transgenic and control samples were found in the following lipid classes: sphingomyelins, phosphatidylcholines, and ether-linked phosphatidylcholines.</p>
Keywords	Alzheimer's disease, tauopathy, tau protein, lipidomics
Number of pages	124
Number of appendices	4
Language	Czech

„Prohlašuji, že jsem předloženou diplomovou práci vypracovala samostatně za použití citované literatury.“

V Olomouci dne 20. 5. 2020

.....

Ráda bych poděkovala především svému vedoucímu diplomové práce Mgr. Štěpánu Kouřilovi za odborné vedení a cenné rady při vypracovávání práce, stejně tak Mgr. Radaně Brumarové PhD. za věcné připomínky a statistické zpracování dat, Mgr. Dominice Olešové za pomoc při práci v laboratoři a PharmDr. Andrejovi Kováčovi, PhD. za poskytnutí biologického materiálu.

OBSAH

Seznam zkratk	7
1 Úvod a cíle práce.....	9
2 Teoretická část	10
2.1 Tauopatie	10
2.2 Lipidomika	22
2.3 Statistická analýza vícerozměrných dat	32
3 Experimentální část	36
3.1 Chemikálie	36
3.2 Přístrojové vybavení.....	36
3.3 Biologický materiál	36
3.4 Postup cílené lipidomické analýzy.....	38
4 Výsledky	41
4.1 Sfingolipidy.....	50
4.2 Fosfatidylcholiny	54
4.3 Ethericky vázané fosfatidylcholiny.....	58
4.4 Lysofosfatidylcholiny	62
5 Diskuze.....	66
6 Závěr	70
Použitá literatura	71
Přílohy.....	84

SEZNAM ZKRATEK

A β	Amyloid β
AD	Alzheimerova choroba
AGD	Argyrofilní zrno
APP	Amyloidní prekurzorový protein
AT	Axonální transport
BM	Buněčná membrána
CAD	Parametr kolizního plynu
CBD	Kortikobazální degenerace
Cer	Ceramidy
CLU	Shluková analýza
CNS	Centrální nervový systém
CSF	Mozkomíšni mok
CTE	Chronická traumatická encefalopatie
CV	Variační koeficient
DA	Diskriminační analýza
DG	Diacylglyceroly
ESI	Ionizace elektrosprejem
FA	Mastné kyseliny
FAC	Acyly mastných kyselin
FTDP-17	Frontotemporální demence s parkinsonismem vázaná na chromozom 17
GC	Plynová chromatografie
GDP	Guanosindifosfát
GGT	Globulární gliová tauopatie
GL	Glycerolipidy
GPC	Glycerofosfocholiny
GPE	Glycerofosfoethanolaminy
GPI	Glycerofosfoinositoly
GPL	Glycerofosfolipidy
GPS	Glycerofosfoseriny
GSK3	Glykogen-syntáza kináza
GTP	Guanosintrifosfát
Hex2Cer	Dihexosylceramidy
HexCer	Hexosylceramidy
HM	Teplotní mapa
HRMS	Hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením
IS	Interní standard
K	Kontrola, kontrolní
LC	Kapalinová chromatografie
LPC	Lysofosfatidylcholiny
LPC-O	Ethericky vázané lysofosfatidylcholiny
LPE	Lysofosfatidylethanolaminy
LPE-O	Ethericky vázané lysofosfatidylethanolaminy

MAP	Proteiny asociované s mikrotubuly
MRM	Sledování produktu rozpadu iontu
MS	Hmotnostní spektrometrie
MS-MS	Tandemová hmotnostní spektrometrie
MT	Mikrotubuly
NFT	Neurofibrilární klubka
NLS	Sken neutrální ztráty
OPLS-DA	Diskriminační analýza pomocí ortogonální projekce do latentních struktur
PAF	Destičky aktivující faktor
PART	Primární s věkem související tauopatie
PC	Fosfatidylcholin
PCA	Analýza hlavních komponent
PC-O	Ethericky vázané fosfatidylcholin
PD	Parkinsonova choroba
PE	Fosfatidylethanolaminy
PE-O	Ethericky vázané fosfatidylethanolaminy
PHF	Párová helikální vlákna
PI	Fosfatidylinositoly
PiD	Pickova choroba
PIS	Sken prekurzorových iontů
PK	Polyketidy
PLS-DA	Diskriminační analýza částečných nejmenších čtverců
PR	Prenoly
PS	Fosfatidylseriny
PS1	Presenilin 1
PS2	Presenilin 2
PSP	Progresivní supranukleární obrna
QC	Vzorek kontroly kvality
QqQ	Trojité kvadrupol.
R	Opakující se jednotky v C-koncové oblasti genu <i>MAPT</i>
RT	Retenční čas
RPLC	Chromatografická separace na reverzní fázi
SF	Přímá vlákna
SHR	Spontánně hypertenzní krysy
SL	Sacharolipidy
SM	Sfingomyeliny
SP	Sfingolipidy
ST	Steroly
T	Transgen, transgenní
TG	Triacylglyceroly

1 ÚVOD A CÍLE PRÁCE

Tauopatie jsou onemocnění charakteristická ukládáním hyperfosforylovaného a zkráceného proteinu tau ve formě neurofibrilárních klubek v neuronech a gliových buňkách. Tau proteiny proto nemohou plnit svou fyziologickou funkci při regulaci sestavování buněčných mikrotubulů v axonech. Alzheimerova choroba je nejčastější formou demence a nejčastější tauopatií postihující populaci. Každoročně přibývá několik milionů nových případů nemoci. Neurofibrilární klubka spolu s akumulací extracelulárních peptidů A β vedou ke změnám činnosti mozkových buněk a následně jejich smrti. Důsledkem je degenerace mozkových laloků, ztráta paměti a progresivní pokles kognitivních schopností. V současné době nelze onemocnění vyléčit, pouze zpomalit progresi. Cílem práce bylo nejen vypracování literární rešerše na témata tauopatií a lipidomiky, ale především lipidomická analýza vzorků mozkomíšního moku kontrolních a transgenních potkanů s tauopatií za účelem nalezení nových potenciálních biomarkerů onemocnění. Byl využit přístup cílené lipidomické analýzy technikou vysokoúčinné kapalinové chromatografie na reverzní fázi ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií. Data byla následně statisticky zpracována a v neposlední řadě byly výsledky diskutovány s odbornou literaturou.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Tauopatie

Pojem tauopatie se používá pro skupinu sporadických nebo familiárních neurodegenerativních onemocnění, které jsou charakterizovány akumulacemi hyperfosforylovaného proteinu tau v neuronech a gliových buňkách (Spillantini a Goedert, 1998). Neurofibrilární patologie byla poprvé popsána Bielschowskym a Brodmanem v roce 1905 u senilní demence. O dva roky později uvedli podrobnější popis neuropatologie presenilní a senilní demence Alzheimer (1907) a Fischer (1907). Oba nezávisle na sobě pozorovali výskyt intracelulárních neurofibrilárních klubek (NFT) v buňkách neuronů, jež jsou jedním ze znaků tauopatie (Arendt a kol., 2016)

Terry (1963) objevil, že NFT jsou z velké části tvořeny párovými helikálními vlákny (PHF) a v menší míře také přímými vlákny (SF). V polovině 80. let minulého století byl tau protein v hyperfosforylované formě identifikován jako hlavní molekulární složka PHF. Rovněž bylo poprvé zaznamenáno, že tau proteiny v NFT představují epitopy rozpoznávané anti-tau protilátkami (Grundke-Iqbal a kol., 1986).

Na konci 90. let bylo prokázáno, že mutace v genu *MAPT* kódujícím tau protein způsobují dědičnou formu frontotemporální demence a parkinsonismus (Spillantini a kol., 1998). Jones a kol. (2008) objasnil, že náchylnost k Parkinsonově chorobě (PD), kortikobazální degeneraci (CBD), progresivní supranukleární obrně (PSP) a Downově syndromu ovlivňují haplotypy tau proteinu.

2.1.1 Dělení tauopatií

Celkem tauopatie zahrnují více než 20 neurodegenerativních chorob, z nichž nejběžnější je Alzheimerova choroba (AD) (Williams, 2006, Arendt a kol., 2016). Tauopatie se dělí na primární a sekundární (Arendt a kol., 2016). Primární tauopatie označují choroby, při kterých jsou vláknité inkluze složené z tau proteinu jedinou neuropatologickou abnormalitou, což je typické pro onemocnění spojená s akumulací tau ve frontotemporálních mozkových lalocích. Mezi primární tauopatie je zařazena již zmíněná PSP a CBD, dále Pickova choroba (PiD), globulární gliové tauopatie (GGT), argyrofilní zrno (AGD), primární s věkem související tauopatie (PART), chronická traumatická encefalopatie (CTE) a frontotemporální demence a parkinsonismus vázaný na chromozom 17 (FTDP-17) (Dickson a kol., 2011).

U sekundárních tauopatií je kromě intracelulárních akumulací NFT typické extracelulární ukládání i jiných agregovaných proteinů (Revesz a Holton, 2003), a patologie proteinu tau je spojená s výskytem jiného primárního onemocnění (Arendt a kol., 2016). Mezi sekundární tauopatie je zařazena AD, či například Creutzfeldt-Jakobova nemoc a Downův syndrom (Fuster-Matanzo a kol., 2018).

Podle převahy izoform 3R nebo 4R (opakující se jednotky v C-koncové oblasti proteinu) lze tauopatie rozdělit na 4R tauopatie, 3R a 3R+4R tauopatie (viz Tab. 1) (Dickson a kol., 2011). Pro 3R tauopatie je typická převaha neuronálních lézí a intracelulární hromadění NFT, zatímco u 4R tauopatií se hromadí i v gliových buňkách (Dickson a kol., 2011). Pro všechny tauopatie je charakteristická ztráta normální funkce tau proteinu, přítomnost NFT vedoucí ke změnám činnosti mozkových buněk a následně k jejich smrti (Williams, 2006, Arendt a kol., 2016). Klinické příznaky zahrnují behaviorální, kognitivní, jazykové a motorické změny v různém rozsahu (Arendt a kol., 2016).

Tab. 1 Klasifikace nejčastějších tauopatií způsobující degeneraci frontotemporálních mozkových laloků

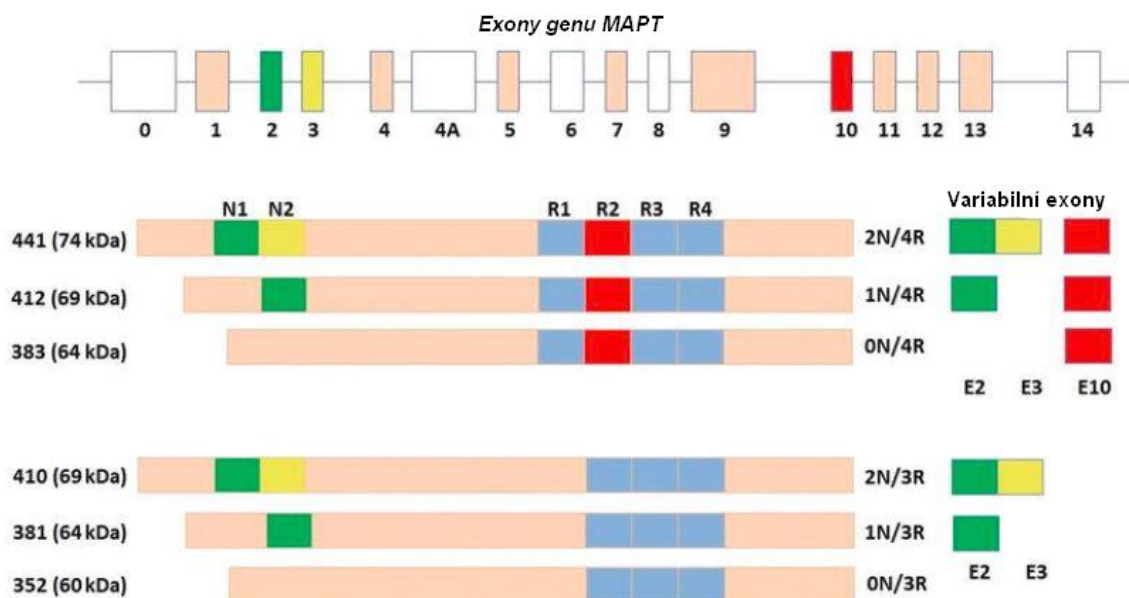
Onemocnění	Zasažená oblast mozku	Symptomy
4R^a tauopatie		
Kortikobazální degenerace	Mozková kůra a bazální ganglia	Porucha pohybových dovedností, ztuhlost, mimovolné stahování svalů, poruchy řeči
Progresivní supranukleární obrna	Bazální ganglia, mozkový kmen, mozeček	Atypický parkinsonismus
FTDP-17 ^b	Mozková kůra, bazální ganglia, mozkový kmen	Změny chování a osobnosti, ztuhlost, zpomalení pohybů
3R^a tauopatie		
Pickova choroba	Mozková kůra, limbický systém	Demence
FTDP-17 ^b	Mozková kůra, bazální ganglia, mozkový kmen	Změny chování a osobnosti, ztuhlost, zpomalení pohybů,
3R+4R^a tauopatie		
Alzheimerova choroba	Mozková kůra, limbický systém	Demence
FTDP-17 ^b	Mozková kůra, limbický systém	Demence, psychózy

^a R – počet vazebných domén na C-koncové oblasti proteinu,

^bFTDP-17 - Frontotemporální demence a parkinsonismus vázaný na chromozom 17 (Upraveno dle Dickson a kol., 2011, Josephs, 2015).

2.1.2 Gen *MAPT*

Tau protein je kódován jediným genem, který má lokus 17q21.31 a obsahuje 16 exonů (první exon je v literatuře obecně označen jako exon 0 a exon 4A odpovídá alternativnímu exonu umístěnému mezi exony 4 a 5). Gen je exprimován v šesti různých izoformách z důvodu alternativního sestřihu pre-RNA u exonů 2, 3 a 10, jak je znázorněno na Obr. 1 (Neve a kol., 1986, Goedert a kol., 1989, Arendt a kol., 2016, Andreadis, 2005). V případě, že je po alternativním sestřihu v RNA zahrnutá část genu z exonu 10, vzniká 4R tau izoforma, která obsahuje 31 aminokyselin (AMK) ve 4 opakováních. Pokud část z exonu 10 není součástí RNA, vzniká 3R tau izoforma se 3 opakováními 31 AMK. (Neve a kol., 1986). Z důvodu alternativního sestřihu se proteiny tau liší ve velikosti od 352 do 441 aminokyselin (Buée a kol., 2000).



Obr. 1 Gen *MAPT* obsahující 16 exonů. Exony 2, 3 a 10 (E2, E3, E10) podléhají alternativnímu sestřihu. Může se tak exprimovat více izoform proteinu o různé velikosti podle N-koncových (N1 a N2) a C-koncových (R1 až R4) opakujících se oblastí. (Upraveno podle Huda a Pan, 2018).

Každá izoforma tau je složena ze dvou velkých domén. Jednou částí je projekční doména, která zahrnuje dvě třetiny molekuly včetně N-koncové oblasti o různé velikosti (N1 nebo N2). Zbývající třetinu molekuly tvoří vazebná doména (pro interakci s mikrotubuly) obsahující C-koncovou doménu s opakujícími se jednotkami 4R nebo 3R (Cardenas-Aguayo a kol., 2014, Arendt a kol., 2016).

V mozku dospělého člověka je exprimováno všech šest izoform (Garcia a Cleveland, 2001) přibližně ve stejném poměru 3R jako 4R (Dickson a kol., 2011). Mutace v genu *MAPT* způsobují expresi strukturně abnormálních proteinů tau nebo změněnu v poměru izoform 3R a 4R (Ghetti a kol. 2015), všechny izoformy se tak mohou podílet na patologii tau (Hanes a kol., 2009).

Pouze některé primární tauopatie jsou spojené s mutacemi genu *MAPT*. Nejběžnějšími chorobami, které jsou spojeny s mutacemi tohoto genu jsou AD, PSP, CBD nebo PiD. V populaci vznikají nejčastěji sporadické případy onemocnění, které však sdílejí patologické a biochemické rysy s případy dědičnými (Tacik a kol., 2016, Ghetti a kol., 2015, Arendt a kol., 2016).

2.1.3 Tau protein a jeho funkce

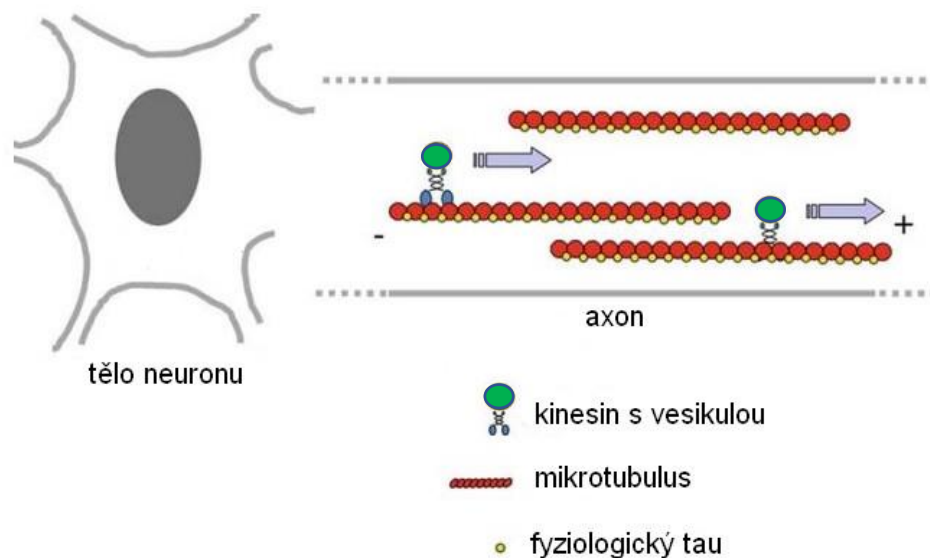
Proteiny tau patří do rodiny proteinů asociovaných s mikrotubuly (MAP) (Weingarten a kol., 1975), regulují sestavování mikrotubulů v buňkách (Andreadis, 2005, Kosik, 1993) a jsou bohatě zastoupeny v axonech neuronů. Molekulová hmotnost tau proteinů se pohybuje okolo 55 do 70 kDa. U savců se v neuronech exprimují také skupiny MAP2 proteinů o velikosti cca 280 kDa a mimo CNS skupiny MAP4 proteinů (Dehmelt a Halpain, 2004, Arendt a kol., 2016, Neve a kol., 1986).

Mikrotubuly (MT) jsou proteinové polymery cytoskeletu, jejichž primární funkcí je udržování tvaru buňky, a podílí se také na mitóze a intracelulárním transportu (Mandelkow a Mandelkow, 2012). Skládají se ze dvou polypeptidů α -tubulinu a β -tubulinu, které mohou polymerovat po interakci s guanosindifosfátem (GDP) (Cooper, 2000), při čemž se guanosintrifosfát-tubulinové podjednotky přidávají na + konec MT (Desai a Mitchison, 1997), jehož orientace v axonech je vždy směrem k cytoplazmatické membráně (Cooper, 2000). Při depolymeraci tubulinové podjednotky hydrolyzují vázaný GTP (guanosintrifosfát). Uvolňuje se fosfát a GDP-tubulinové podjednotky z MT konce. Přechod od polymerace k depolymeraci se nazývá katastrofy, opačný děj jsou záchrany (Desai a Mitchison, 1997).

Proteiny asociované s MT stabilizují MT svou vazbou na tubulinové podjednotky v poměrech 1:4 až 1:10 (MAP:tubulin). Tato zesílení mají za následek potlačení katastrof a podporu záchran (Desai a Mitchison, 1997). Vazebná místa MAP pro tubulin jsou tvořena opakujícími se motivy 3R nebo 4R (Desai a Mitchison, 1997) a mají vliv na dynamiku MT v axonech neuronů (Garcia a Cleveland, 2001, Neve a kol., 1986, Spillantini a Goedert, 1998). 4R izoformy tau proteinů zabraňují depolymeraci MT více než 3R izoformy (Dehmelt a Halpain, 2004).

Funkce tau proteinu za fyziologických podmínek je regulována množstvím posttranslačních modifikací. Fosforylace je jednou z nejdůležitějších reakcí (Verwilst a kol., 2018), při níž je regulována četnost interakcí tau s MT (Jansen a kol., 2017). Například izoforma 2N4R vykazuje až 85 potenciálních fosforylačních míst na Ser, Thr a Tyr s výjimkou Thr 50. Dynamická fosforylace kinázami a defosforylace fosfatázami tedy umožňuje, aby měla buňka rychlou kontrolu nad množstvím tau proteinů navázaných na MT (Verwilst a kol., 2018).

Tau protein takto může regulovat axonální transport (AT) (viz Obr. 2) (Wang a Mandelkow, 2016), který je důležitý k buněčnému transportu různých látek. Anterográdní transport postupuje směrem z buněčného těla neuronu na konec axonu (od – k +), je řízen motorickými proteiny kinesiny a dodává RNA, proteiny a organely, k růstovým kuželům a synapsím. V opačném směru (od + k -) probíhá retrográdní transport, řízen motorickými proteiny dyneiny a uplatňuje se například při reakci na poškození nervů. K zachování správných funkcí neuronů je tedy nezbytná správná regulace AT (Sleigh a kol., 2019). Nadměrná exprese tau proteinu může inhibovat anterográdní transport, což zpomaluje exocytózu (Kolarova a kol., 2012).



Obr. 2 Mechanismus axonálního transportu. Tau proteiny (označeny žlutě) se váží na mikrotubuly (MT, červeně) a stabilizují je. Může tak probíhat anterográdní buněčný transport (od – k + konci MT) vesikuly pomocí proteinu kinesinu (zeleně) (Upraveno podle Roy a kol., 2005)

2.1.4 Patogeneze tau

V případě, že je tau vázán ve formě PHF nebo NFT, nemůže plnit svou normální funkci (Grundke-Iqbal a kol., 1986). Přeměna z fyziologického tau proteinu na patologický tau agregovaný do NFT je vícestupňový proces (viz Obr. 3) (Mandelkow a Mandelkow, 2012). S neurotoxicitou tau proteinu jsou spojeny konformační změny tau, které podporují přeměnu normálního a rozpustného tau na agregované a zkrácené formy tau oligomerů (Cardenas-Aguayo a kol., 2014), což jsou hyperfosforylované komplexy dvou nebo více molekul tau (obvykle 3 až 10 monomerů), které již nemusí být rozpustné (Cardenas-Aguayo a kol., 2014, Ghetti a kol., 2015). Berger a kol. (2007) poprvé zaznamenali, že poruchy paměti v raných stádiích neurodegenerace nejsou spojeny pouze s NFT, ale také s akumulací hyperfosforylovaných a nerozpustných tau oligomerů. Inhibují také anterográdní AT aktivací axonální fosfatázy 1 a glykogen-syntázy-kinázy 3 (GSK3) a rovněž mohou aktivovat kaspázu-9, která je spojena s mitochondriální apoptickou cestou (Cardenas-Aguayo a kol., 2014). Faktory, které přispívají ke vzniku tau oligomerů zahrnují kromě hyperfosforylace rovněž oxidativní stres a mutace genu *MAPT* (Cardenas-Aguayo a kol., 2014).

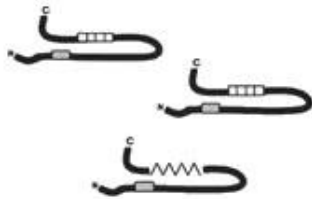
1) Tau proteiny vázané na mikrotubuly



2) Fosforylovaný a rozpustný tau



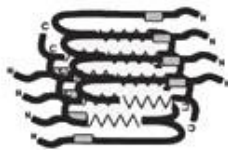
3) Konformační změny tau



4) Dimery tau



5) Oligomery tau



6) Protomery tau



7) Párová helikální vlákna



8) Neurofibrilární klubko



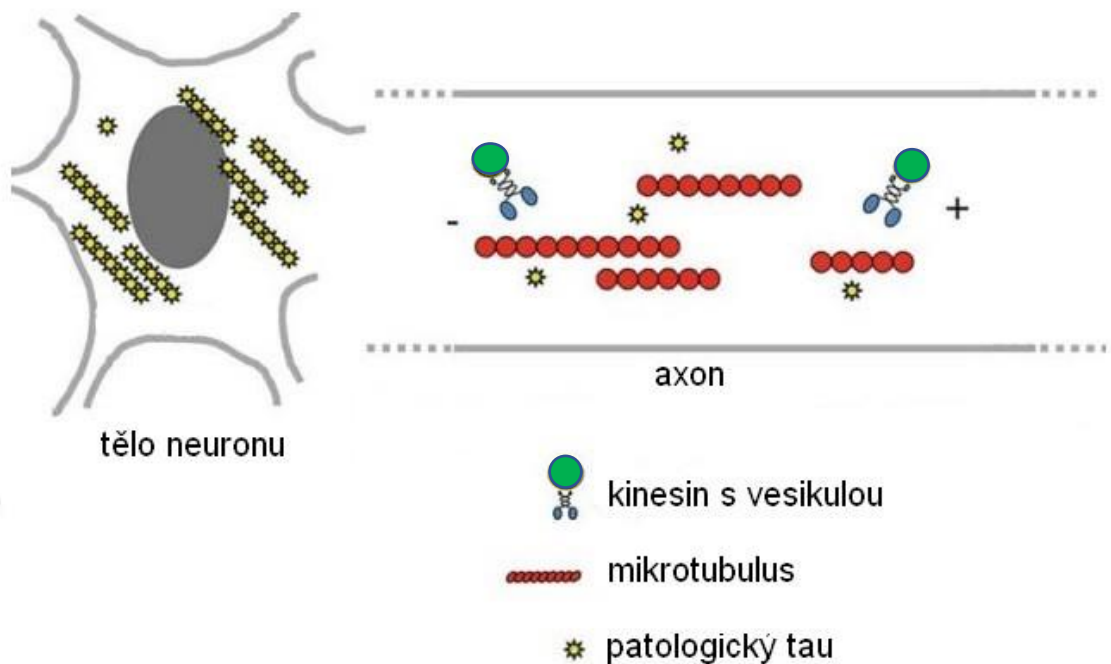
Obr. 3 Agregace tau proteinu. 1) Tau proteiny jsou vázané na mikrotubuly. 2) Fosforylace brání vazbě tau na mikrotubuly a vznikají rozpustné tau. 3) Posttranslační modifikace vedou ke změnám konformace tau, vzniká β -skládaný list. 4) Rozpustné monomerní formy tau se dimerizují. 5) Tau dimery se shlukují do oligomerů. 6) Z oligomerů vznikají protomery. 7) Protomery se sdružují v párová helikální vlákna. 8) Párová helikální vlákna se shlukují do neurofibrilárních klubek. (Upraveno podle Meraz-Rios a kol., 2010).

V procesu agregace tau do NFT je zásadní jeho zvýšená fosforylace způsobená nerovnováhou v aktivitě kináz a fosfatáz (Mandelkow a Mandelkow, 2012). Mezi kinázy, které mohou fosforylovat tau patří GSK3, cyklin-dependentní kináza 5, p38 mitogenem aktivované protein-kinázy, c-Jun NH2-koncová kináza, protein kináza A, protein kináza C a kalmodulin kináza II. Hyperfosforylovaný tau protein se neváže na MT a není schopen fungovat při jejich stabilizaci (Cardenas-Aguayo a kol., 2014).

Pouze tau fosforylace však není dostatečná pro vyvolání agregace tau. Na vzniku patologického tau proteinu se pravděpodobně podílejí i další posttranslační modifikace, například ubikvitinace, acetylace, oxidace či glykosylace (Buée a kol., 2000, Martin a kol., 2011).

Rovněž zkrácení C-koncové nebo N-koncové oblasti je možnou příčinou agregace tau proteinu. Bylo identifikováno několik enzymů zodpovědných za zkrácení tau proteinů, mezi které se řadí kaspáza 6, trombin a chymotrypsin působící v projekční doméně molekuly tau (N-oblast). Ve vazebné doméně na C-koncové části tau proteinu působí enzym kalpain či kaspáza 3. Především proteolýza v této části tau je spojována se vznikem neuronální lézí a poškozením kognitivních funkcí (Meraz-Rios a kol., 2010).

Důsledky vzniku agregovaných tau proteinů jsou takové, že AT nemůže účinně pokračovat (viz Obr. 4) (Arendt a kol., 2016). Hyperfosforylovaný a zkrácený tau může překonat retrogradní difúzní bariéru, která jej udržuje v axonu (Arendt a kol). Následuje dysfunkce synapsí, jelikož je snížen počet synaptických vesikul v presynaptické štěrbině (Wang a Mandelkow, 2016). Degradací presynaptické štěrbině a difúzí NFT může docházet i k šíření patologického tau mezi neurony. Druhým možným mechanismem šíření patologických tau proteinů je uvolňování NFT exocytózou do extracelulárního prostoru a jejich absorpce dalšími neurony endocytózou (Wang a Mandelkow, 2016).



Obr. 4 Přerušení axonálního transportu vesikul (zeleně) vlivem hyperfosforylovaného tau proteinu (žlutě), který se není schopen vázat na mikrotubuly (červeně). Abnormální tau prostupuje do těla neuronu, agreguje a způsobuje ztrátu synapsí a následnou neurodegeneraci (Upraveno podle Roy a kol., 2005).

Hyperfosforylovaný tau protein je často doprovázen ukládáním jiných proteinů například α -synukleinu či amyloidu β ($A\beta$). Bylo zaznamenáno, že tau interaguje s těmito proteiny, avšak povaha interakcí není zcela jasná. Výsledky některých studií naznačují, že hyperfosforylovaný tau souvisí s aktivací $A\beta$, rozkladem MT a následnou buněčnou smrtí (Tacik a kol., 2016). U neuronů kultivovaných *in vitro* s $A\beta$ či jinými stresory byl pozorován zvýšený výskyt tau v dendritech a děje zvyšující toxicitu $A\beta$ (Wang a Mandelkow, 2016). Zároveň oxidační stres způsobený $A\beta$ je považován za nezbytný pro hyperfosforylaci tau a následnou tvorbu NFT (Tacik a kol., 2016).

2.1.5 Výzkum Alzheimerovy choroby

AD je nejčastější tauopatií (Williams, 2006) a zároveň nejčastější příčinou demence (60 až 80 %), jež je charakterizována ztrátou paměti a progresivním poklesem kognitivních schopností (Do Carmo a Cuello, 2013). V současnosti je na světě postiženo demencí asi 50 milionů lidí a každoročně přibývá téměř 10 milionů nových případů (WHO, 2019).

Mozek postižený AD se vyznačuje akumulací extracelulárních peptidů A β , které vytvářejí senilní plaky, ukládáním intracelulárních hyperfosforylovaných NFT a ztrátou neuronů (Williams, 2006). Senilní plaky a NFT jsou přítomny hlavně v entorinální kůře, hipokampu a amygdale, což jsou oblasti mozku důležité pro učení, paměť a emoční chování (Mattson, 2011). Změněné hladiny A β , fosforylovaného tau a celkového tau však byly zaznamenány také v mozkomíšním moku (CSF) (Vickers a kol., 2000),

Patofyziologická role tau proteinu při AD stále není zcela známa (Arendt a kol., 2016). Není jasné, zda jsou agregáty tau příčinou AD nebo pouze vedlejší produkt jiných chorobných procesů. Většinou je ukládání NFT vnímáno jako důsledek patologie A β (Mandelkow a Mandelkow, 2012).

Znalosti molekulárních mechanismů patogeneze AD pokročily s vytvořením prvních transgenních (T) myších modelů v polovině 90. let. Díky modelům byly identifikovány mutace v genech pro amyloidní prekurzorový protein (APP), presenilin 1 (PS1) a presenilin 2 (PS2), jež ovlivňují metabolismus A β a jsou zodpovědné za familiární formy AD. Transgenní potkani jsou však výhodnějšími modely než transgenní myši, jelikož jsou fyziologicky a geneticky bližší člověku. Navíc je dobře charakterizováno chování potkanů (Do Carmo a Cuello, 2013).

V mozku dospělého potkana se exprimuje všech šest izoform tau proteinu jako u lidí (ačkoli podíl izoform 4R je však devětkrát vyšší než izoform 3R), což podporuje vhodnost využití T potkana jako zvířecího modelu při výzkumu lidských tauopatií (Hanes a kol., 2009, Do Carmo a Cuello, 2013). Transgenní modely potkanů by mohly poskytnout přesnější popis patologie AD, lepší pochopení mechanismů předklinického stádia nemoci či objevení nových terapeutických cílů (Do Carmo a Cuello, 2013).

2.2 Lipidomika

Lipidomika je vědní obor zaměřený na komplexní analýzu a studium lipidomu, tedy všech lipidů v biologickém systému (Zhao a kol., 2014), který může zahrnovat kompletní lipidový profil buňky, tkáně nebo organismu (Fahy a kol., 2011). Dále se lipidomika zabývá funkcemi, metabolismem lipidů v buňce a molekulami s nimiž lipidy interagují (Watson, 2006).

Lipidom je podmnožinou metabolomu, jehož součástí jsou další hlavní skupiny biomolekul (Fahy a kol., 2011). V roce 2003 Han a Gross poprvé popsali metody detekce a kvantifikace lipidomu v buněčném extraktu. Lipidomika je tedy relativně novým členem skupiny omických věd (Pauling, 2019), mezi které se řadí také genomika, transkriptomika, proteomika či metabolomika. Všechna tato odvětví využívají podobné komplexní přístupy analýzy (Hollywood a kol., 2006) a lipidomika doplňuje chybějící část k vytvoření uceleného obrazu funkcí nebo dysfunkcí biologického systému (Zhao a kol., 2014).

2.2.1 Lipidy a jejich klasifikace

Lipidy jsou malé, hydrofobní nebo amfipatické molekuly (Fahy a kol., 2009) velké chemické rozmanitosti narozdíl od dalších hlavních biomolekul (polysacharidů, proteinů a nukleových kyselin), jejichž stavební struktury jsou málo chemicky odlišné. Ačkoli nejsou lipidy geneticky kódovány, jsou stejně jako jiné malé molekuly vytvářeny, metabolizovány, transportovány a reorganizovány enzymy, proteiny a receptory. Vznik lipidů ovlivňují kromě stravy a teploty biologického systému také anabolické a katabolické reakční cesty (Wenk, 2010, Fahy a kol., 2005).

Odhaduje se, že lidský lipidom obsahuje nejméně 100 000 různých druhů lipidů (Wong a kol., 2017a). Využití lipidů je široké, jsou součástí buněčných membrán (BM), slouží jako zásoba energie, působí jako signální molekuly a podílejí se na velkém množství důležitých funkcí jako je například buněčný transport (Brüger, 2014). Rovněž bylo prokázáno, že lipidy jsou změnou své konformace nebo složení schopny ovlivnit funkci iontových kanálů (Dart, 2010).

Mezinárodní komise pro klasifikaci a názvosloví lipidů v roce 2005 zveřejnila komplexní klasifikační systém pro lipidy, který řadí lipidy do osmi hlavních kategorií: acyly mastných kyselin (FAC), glycerolipidy (GL), glycerofosfolipidy (GPL), sfingolipidy (SP), sacharolipidy (SL), polyketidy (PK), prenoly (PR) a steroly (ST) (viz Tab. 2). Každá kategorie je dále rozdělena do tříd a podtříd. Systém je také k dispozici online na webové stránce LIPID MAPS <http://www.lipidmaps.org>, je kompatibilní se současnými potřebami databází a byl mezinárodně přijat (Fahy a kol., 2009). Jednotlivé skupiny lipidů se liší molekulovou hmotností, složením hlavní skupiny, počtem uhlíků a povahou uhlíkových vazeb (počty a polohami). Zejména velikost polaritní skupiny oproti hydrofobnímu konci určuje celkovou strukturu molekuly lipidu (Wong a kol., 2017a).

Tab. 2 Klasifikační systém lipidů – 8 hlavních kategorií a jejich třídy

Kategorie	Třídy	Kategorie	Třídy
Acily MK (FAC)	Mastné kyseliny a jejich konjugáty Oktadekanoidy Eikosanoidy Dokosanoidy Alkoholy MK Aldehydy MK Estery MK Amidy MK Nitrily MK Etery MK Uhlovodíky Kyslíkaté deriváty uhlovodíků Jiné	Sfingolipidy (SP)	Sfingosiny Ceramidy FosfoSP FosfonoSP Neutrální glykoSP Kyselé glykoSP Zásadité glykoSP Amfoterní glykoSP ArsenoSP Jiné
Glycerolipidy (GL)	Monoradylglyceroly Diradylglyceroly Triradylglyceroly Jiné	Prenoly (PR)	Isoprenoidy Chinony a hydrochinony Polyprenoly Jiné
Glycerofosfolipidy (GPL)	GPcholinyl GPethanolaminy GPseriny GPglyceroly GPglyceroP GPinositoly GPinositolmonoP GPinositolbisP GPinositoltrisP GlyceroP GlyceropyroP GPGPglyceroly CDP-glyceroly GPglukosové lipidy GPinositolglykany GPnocholiny GPnoethanolaminy Kaldarchooly Glycerolnonitol- tetraetherové fosfolipidy Oxidované GPLipidy Jiné	Polyketidy (PK)	Makrolidové PK Aromatické PK Neribosomální peptido-polyketidové hybridy Jiné
Steroly (ST)	Steroly Steroidy Sekosteroidy Žlučové kyseliny a deriváty Steroidní konjugáty Hopanoidy Jiné	Sacharolipidy (SL)	Acylaminocukry Acylaminocukerné glykany Acyltrehalosy Acyltrehalosové glykany Jiné

MK – mastných kyselin; P – fosfát; GP – glycerofosfo- (Upraveno podle Fahy a kol, 2005)

2.2.2 Přístupy a techniky analýzy lipidů využívající hmotnostní spektrometrii

Hmotnostní spektrometrie (MS) je analytická metoda, která poskytuje kvalitativní i kvantitativní informace o molekulách analytu ve formě iontů (Ho a kol., 2003). Vývoj vysoce citlivých platform MS umožnil v posledních letech velký rozvoj lipidomické analýzy a stal se nejpoužívanějším nástrojem pro identifikaci a kvantifikaci lipidů (Wong a kol., 2017b).

Identifikace lipidů pomocí MS je možná na základě hmotnostního spektra (Kaddurah-Daouk a kol., 2008), podle hodnot poměru hmoty k náboji (m/z) jednotlivých píků (Pauling, 2019). K identifikaci přispívá přechodí separace látek kapalinovou (LC) či plynovou (GC) chromatografií (Lu a kol., 2008). Využitím LC-MS při lipidomické analýze jsou identifikovány lipidy jak z chromatogramu (podle retenčního času, RT), tak z hmotnostních spektrálních dat (Yang a Han, 2016).

Kvantifikace vyžaduje srovnání analyzovaných lipidů se směsí interních standardů (IS) (Hyötyläinen a Orešič, 2015), tedy exogenních lipidů přidaných ke vzorku před analýzou (Pauling, 2019). Pro přesnou kvantifikaci by měl být každý cílový lipid porovnán s vlastním IS, což není obvykle možné z důvodu velkého množství lipidů, kvůli omezené dostupnosti IS a jejich vysoké ceně. Využívá se tedy semikvantitativní metoda, kdy je aplikován jeden IS pro každou třídu lipidů. Molekulární struktura lipidů ovlivňuje odezvu hmotnostního spektrometru. Délka acylového řetězce a počet dvojných vazeb mají na odezvu velký vliv, nicméně účinek hlavní skupiny je významnější. Jako IS se často využívají lipidy s acyly s lichým počtem uhlíků (C13, C15, C17), protože nejsou obvykle přítomné v biologických vzorcích (Hyötyläinen a Orešič, 2015). Mohou být rovněž použity izotopově značené IS (Li a kol., 2013). Kvantita lipidů je v mnoha metodách získána jednobodovou kalibrací, kdy je pík analyzovaného lipidu normalizován podle IS specifického pro třídu a vynásoben koncentrací IS (Hyötyläinen a Orešič, 2015).

Záměrem necílené lipidomiky je analýza a detekce všech přítomných lipidů v biologických vzorcích, určení co největšího počtu lipidových druhů či vytvoření globálního profilu (Patti a kol., 2013, Yang a Han, 2016, Li a kol., 2013). Necílená lipidomika využívá dvou přístupů. Prvním je MS s přímým vstřikováním označovaná jako shotgun lipidomika, což zahrnuje injektování lipidových extraktů do hmotnostního spektrometru bez předchozí separace. Druhým přístupem je lipidomika využívající předchozí separaci (Han a Gross, 2005), obvykle LC nebo GC (Pauling, 2019). Používané techniky a jejich využití u obou přístupů je uvedeno v Tab. 3. Při LC-MS jsou lipidy nejprve separovány vysokotlakou kapalinovou chromatografií (HPLC) a až poté analyzovány pomocí hmotnostního spektrometru (Han a Gross, 2005).

Tab. 3 Rozdělení lipidomických přístupů, používané techniky a jejich využití.

Přístup	Technika (mód)	Využití
MS bez předchozí separace (shotgun)	MS	Profilování lipidů
	MS-MS	Charakterizace lipidů
	MS-MS (NLS/PIS)	Specifické profilování lipidové třídy
	MS-MS (MRM)	Cílené (semi)kvantitativní analýzy
MS s předchozí separací	LC-HRMS	Globální profilování (Semi)kvantitativní analýzy Identifikace neznámých lipidů
	LC-QqQ	Cílená kvantitativní analýza
	GC-MS	Cílená kvantitativní analýza

MS – hmotnostní spektrometrie; MS-MS – tandemová hmotnostní spektrometrie; HRMS – hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením; LC – kapalinová chromatografie; GC – plynová chromatografie; MRM – sledování produktu rozpadu iontu; NLS – sken neutrální ztráty; PIS – sken prekurzorových iontů; QqQ – trojitý kvadrupol. Upraveno podle Hyötyläinen a Orešič, 2015.

Oba lipidomické přístupy mají svá omezení a výhody (Hyötyläinen a Orešič, 2015). Jednou z hlavních výhod MS s přímým vstřikováním je, že jeden IS na třídu může přesně korigovat všechny lipidy dané třídy, protože všechny jsou ionizovány současně za stejných podmínek, což usnadňuje kvantifikaci a spolehlivost. Nevýhodou shotgun lipidomiky jsou obtíže s rozlišením izobarických druhů a málo hojných lipidů (Han a Gross, 2005).

Techniky LC-MS jsou často preferovány, protože jsou schopné kompenzovat nevýhody shotgun lipidomiky (Han a Gross, 2005). Separace pomocí HPLC snižuje účinky iontové suprese a umožňuje rozlišení izobarických druhů (Hyötyläinen a Orešič, 2015). LC-MS techniky tedy nabízí vyšší citlivost a přesnější identifikaci a kvantifikaci lipidů (Contrepolis a kol., 2018) s detekčními limity v rozmezí femtomolů, což z nich činí vhodný nástroj pro studium lipidomu ve složitých směsích (Wong a kol., 2017b). Nevýhodou LC-MS je časové omezení plynoucí z chromatografické analýzy, při níž je omezen počet vybraných prekurzorových iontů, které mohou být fragmentovány během jedné analýzy (Yang a Han, 2016).

Při MS se využívají hmotnostní analyzátory s nízkým rozlišením, například trojitý kvadrupól (QqQ), nebo s vysokým rozlišením, kde patří Q-TOF, Orbitrap nebo ICR (Zhou a Yin, 2016). Hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením (HRMS) je technika umožňující analyzovat lipidy z hlavních tříd lipidů včetně membránových fosfolipidů. Specifické třídy lipidů jako například steroly jsou špatně pokryty metodami globálního profilování, jsou proto obvykle analyzovány cílenými metodami (Hyötyläinen a Orešič, 2015).

2.2.3 Cílená lipidomická analýza pomocí tandemové hmotnostní spektrometrie spojené s kapalinovou chromatografií

Cílená lipidomika je zaměřena na analýzu specifických tříd lipidů nebo profilování lipidů a vyvíjí specifické metody pro jejich kvantitativní analýzu (Yang a Han, 2016, Pauling, 2019). Tradičně se cílené platformy zaměřují na absolutní kvantifikaci určitého počtu předem definovaných lipidů (Contrepolis a kol., 2018).

Cílená analýza lipidů se obvykle provádí pomocí LC spojené s tandemovou hmotnostní spektrometrií (MS/MS) (LC-MS/MS) (Hyötyläinen a Orešič, 2015). LC je analytická technika založená na separaci látek obsažených v analyzovaném vzorku. Dělení probíhá na základě interakce analytů rozpuštěných v mobilní fázi se stacionární fází separační kolony. Složení a charakter obou fází zásadně ovlivňují retenci látek. Interakce analytů se stacionární fází je přímo úměrná RT (Jandera, 2011).

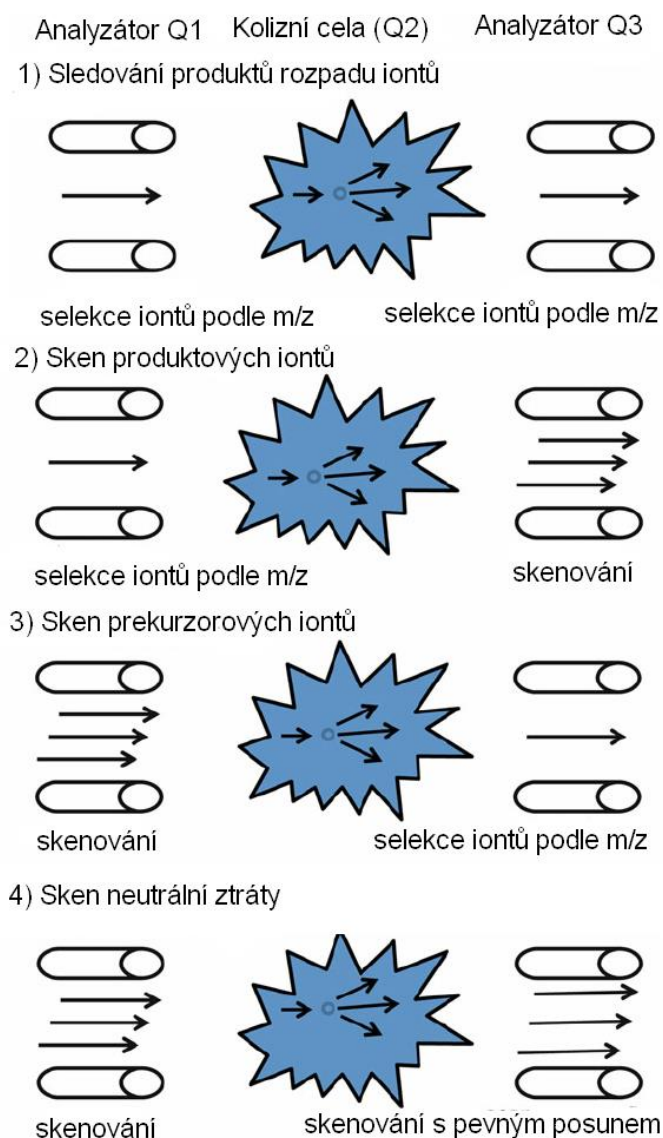
Analyty následně vstupují do zařízení pro vstup vzorku společně s mobilní fází, jsou ionizovány v iontovém zdroji a přecházejí do plynné fáze (Friedecký a Lemr, 2012). Při ionizaci elektrosprejem (ESI) prochází analyt s rozpouštědlem přes kapiláru, která je pod vysokým napětím (2-5 kV). Na hrotu kapiláry se vytváří Taylorův kužel, který rozprášen zmlžovacím plynem, vznikají kladně nebo záporně nabitě kapičky, jejichž povrchový náboj se zvyšuje odpařováním rozpouštědla. Naopak povrchová velikost kapiček se zmenšuje. V určitém okamžiku překoná Coulombické odpuzování povrchové napětí kapiček, dojde k jejich explozi a vzniku iontů v plynné fázi (Lu a kol., 2008, Friedecký a Lemr, 2012). ESI pracuje v pozitivním iontovém režimu, kdy je k iontu přidán proton nebo negativním iontovém režimu, kdy je naopak proton z iontu odtržen (Dunn a Ellis, 2005).

Ionty z iontového zdroje přecházejí do hmotnostního analyzátoru. Při MS/MS jsou hmotnostní analyzátory zkombinovány, příkladem je QqQ, Q-TOF nebo kvadrupól s Orbitrapem (Friedecký a Lemr, 2012).

Kvadrupól se skládá ze čtyř kovových tyčí, přičemž každá protilehlá dvojice je vodivě spojena. Dvě protilehlé tyče mají stejnosměrné napětí a diagonálně umístěný pár tyčí střídavé napětí, nebo opačně – stavy se neustále střídají. Výsledné elektrické pole způsobuje, že se ionty pohybují v rovině x-y a jejich výchylka při kmitání je závislá na poměru m/z (Ho a kol., 2003).

QqQ je složen ze dvou hmotnostních analyzátorů a mezi nimi je kolizní cela (Ho a kol., 2003). První kvadrupól (Q1) a třetí kvadrupól (Q3) fungují specificky podle nastaveného módu, nicméně druhý kvadrupól neboli kolizní cela (Q2) pracuje u všech režimů stejně. V Q2 dochází k interakci s kolizním plynem a nastává kolizí indukovaná disociace (CID) prekurzorového iontu, který se fragmentuje na produktové neboli fragmentové ionty, které jsou poté přeneseny do Q3 (Özbalci a kol., 2013).

Jak již bylo zmíněno výše, QqQ může pracovat v různých režimech (viz Obr. 5). Prvním režimem je sledování produktů rozpadu iontů (MRM), při němž je v Q1 vybrán specifický molekulární ion podle hodnoty m/z . Ion poté vstupuje do Q2 a Q3, přičemž Q3 funguje jako Q1 a propouští pouze vybrané ionty vytvořené v Q2 (Ho a kol., 2003, Lu a kol., 2008). Druhým režimem je sken produktových iontů. V Q1 je vybrán specifický prekurzorový ion podle m/z a Q3 propouští k detekci všechny výsledné fragmentové ionty. Dalším režimem je sken prekurzorových iontů, při němž Q1 skenuje všechny prekurzorové ionty, produkující specifické fragmentové ionty, zatímco Q3 sleduje pouze vybraný ion fragmentu podle m/z . Posledním módem je sken neutrální ztráty, kde Q1 skenuje všechny prekurzorové ionty a Q3 skenuje neutrální ztrátu fragmentových iontů vzniklých z prekurzorových iontů (Yang a Han, 2016).



Obr. 5 Režimy nastavení trojitého kvadrupolu. První analyzátor (Q1) přenáší buď všechny molekulární ionty do kolizní cely (Q2), nebo funguje jako hmotnostní filtr a umožňuje průchod pouze iontům o určité m/z . V Q2 dochází k disociaci prekurzorových iontů vyvolané kolizí a fragmentové ionty jsou přeneseny do druhého analyzátoru (Q3), který může pracovat jako Q1 (Upraveno podle Özbalci a kol., 2013).

Ionty jsou detekovány a kvantifikovány pomocí detektoru (Friedecký a Lemr, 2012). Výsledkem jsou chromatogramy závislosti intenzity signálu na čase. Kvantifikace je prováděna na základě plochy píků (Jandera, 2011). V módu MRM poskytuje QqQ vysokou citlivost a specifitu. Cílené metody kvantifikace se používají mj. pro validaci dat zjištěných semikvantitativními necílenými metodami (Li a kol., 2013).

2.3 Statistická analýza vícerozměrných dat

V lipidomice, stejně jako jiných v omických vědách, hraje klíčovou roli analýza dat. Zejména u necílené lipidomiky je generováno obrovské množství vícerozměrných dat, a proto je velmi důležité správné využití bioinformatických přístupů (Zhao a kol., 2014). Před statistickou analýzou je vždy nezbytné provést normalizaci a kvantifikaci spektrálních dat (Zhao a kol., 2014). Postup statistické analýzy vícerozměrných dat se liší podle typu dat a typu informací, které z nich chceme získat (Meloun a Militký, 2001). Pro porovnání rozdílů mezi skupinami lipidů se používá supervizovaná vícerozměrná analýza (Zhao a kol., 2014), mezi které se řadí diskriminační analýza částečných nejmenších čtverců či diskriminační analýza pomocí ortogonální projekce do latentních struktur (Van, 2013), kdežto pro komplexní reprezentaci dat se používají různé vizualizace jako analýza hlavních komponent či teplotní mapy (Patti a kol., 2013).

Vícerozměrná statistická analýza vychází z koncepce latentních proměnných y , což jsou lineární kombinace původních proměnných x . Zdrojová matice obsahuje výchozí data proměnných (vlastnosti) ve sloupcích (m) a v řádcích (n) jsou objekty u nichž jsou proměnné měřeny. Mají-li proměnné různé jednotky, je zdrojová matice upravena škálováním – buď centrováním, kdy se od jednotlivých prvků sloupce odečte sloupcový aritmetický průměr nebo normováním, kdy se jednotlivé prvky sloupce centrují, a navíc se vydělí sloupcovou směrodatnou odchylkou (Meloun a Militký, 2001).

2.3.1 Analýza hlavních komponent

Analýza hlavních komponent (PCA, principal component analysis) je nesupervizovaná metoda umožňující pozorovat struktury v sadě dat bez jejich předchozí znalosti, čímž lze objasnit datový trend (Zhao a kol., 2014). Cílem PCA je matematická transformace proměnných do menšího počtu latentních proměnných – tzv. hlavních komponent, což jsou lineární kombinace původních proměnných (Meloun a Militký, 2002).

Hlavní komponenty jsou sestaveny tak, aby bylo vyjádřeno co nejvíce původních informací o datovém souboru, vystihují proměnlivost neboli rozptyl původních proměnných a jsou vzájemně nekorelované. Princip redukce dat je takový, že první hlavní komponenta popisuje největší část rozptylu původních dat, druhá hlavní komponenta největší část rozptylu, který není v předchozí hlavní komponentě atd. Součet rozptylů všech hlavních komponent a součet rozptylů všech původních proměnných se rovná. Vysvětlená proměnlivost souboru dat je dána součtem několika nejvyšších podílů proměnlivosti. Pokud je součet prvních nejvyšších podílů blízký 100 %, jsou dané komponenty dostatečné pro vysvětlení variability původního souboru. Nedostatečné vysvětlení souboru dat vede ke ztrátě informací a nastává v případě, že je použito příliš málo latentních proměnných. Naopak mnoho zahrnutých latentních proměnných může vyvolat vážnou chybu, jelikož je šum zahrnut do modelu (Meloun a Militký, 2002).

Použitím metody PCA jsou vizuálně seskupeny určité vzorové skupiny, avšak zcela podrobné informace nejsou zastoupeny (Patti a kol., 2013). Pokud jsou objekty roztrženy do dobře oddělených shluků, je poté nutné shluky analyzovat odděleně – po redukci datového souboru na jednotlivé podsoubory se na podsoubory aplikuje znovu PCA (Meloun a Militký, 2002).

2.3.2 Diskriminační analýza

Diskriminační analýza (DA, discriminant analysis) je supervizovaná statistická metoda a zkoumá závislost mezi nezávisle proměnnými (diskriminátory, m ve zdrojové matici) a jednou kvalitativní závisle proměnnou. Vstupní data obsahují zařazené objekty do primárních tříd a nezařazené objekty. Cílem DA je zařadit nezařazené objekty do primárních tříd na základě nejvyšší pravděpodobnosti, a to pomocí diskriminační funkce. Po diskriminaci do tříd se provede vyčíslení počtů objektů v jednotlivých třídách a vytvoří se přehled klasifikovaných objektů. Kromě skutečné třídy je vytvořena predikovaná třída a procento pravděpodobnosti výskytu objektu v predikované třídě (Meloun a Militký, 2002).

Dvojný graf (Biplot) vychází z PCA i DA a znázorňuje interakci objektů a proměnných. Objekt v blízkosti určité proměnné znamená, že je objekt v interakci s proměnnou. Souřadnice vektoru odpovídají první a druhé hlavní komponentě a délka vektoru je přímo úměrná příspěvku původní proměnné do hlavní komponenty neboli komponentní váze. Úhel mezi vektory dvou proměnných je nepřímo úměrný jejich korelaci (Meloun a Militký, 2002).

Diskriminační analýza částečných nejmenších čtverců (PLS-DA) je supervizovaná verze PCA. Cílem metody je redukce rozměrů dat pomocí lineární transformace s co nejmenší chybou a vědomým označením tříd. Původní data jsou soubor n -dimenzionálních vektorů (X je matice $n \times m$) a cílem je vytvoření matice S o rozměrech $n \times d$ pomocí transformační matice A s rozměry $m \times d$, která optimálně transformuje data matice X do souboru matice S . Řádky transformované matice S odpovídají dimenzionálnímu rozměru původní matice X (n vektory v X). Zatímco v PCA se u transformace zachovává v první hlavní komponentě co největší rozptyl v původních datech, v PLS-DA je to co největší kovariance mezi původními daty a jejich označením (Perez a kol., 2018).

Diskriminační analýza pomocí ortogonální projekce do latentních struktur (OPLS-DA) byla představena jako vylepšení PLS-DA metody, u níž je navíc integrována ortogonální korekce signálu. Základem OPLS metod je separace proměnných originálního souboru dat (X) do dvou částí, kdy jedna lineárně souvisí k informaci o třídě (Y proměnné, prediktivní komponenty) a druhá je nesouvisející s Y (ortogonální komponenty) (Teng, 2013). Ortogonální komponenty popisují variace vůči prediktivní složce. Vzniká regresní model popisující vztah mezi vícerozměrnými daty a proměnnou odezvy, která obsahuje pouze informace o třídě (Westerhuis a kol., 2009). Přidáváním ortogonálních komponent je snižováno procento vysvětleného X (Teng, 2013).

2.3.3 Shluková analýza

Shluková analýza (CLU, cluster analysis) je schopna hierarchicky či nehierarchicky dělit vícerozměrné objekty na základě podobnosti a klasifikovat je do tříd neboli shluků. Hierarchické postupy jsou založeny na postupném spojování objektů podle vypočtené matice vzdáleností mezi objekty. Celý postup se opakuje, dokud všechny objekty netvoří jeden velký shluk. Diagramem CLU je vývojový strom (dendrogram) zobrazující proměnné jako osy ve dvojrozměrném prostoru. Proměnné propojené spojovací úsečkou v dendrogramu nížko mají mezi sebou malou vzdálenost a jsou vzájemně podobné. Naopak proměnné od sebe více vzdálené značí malou podobnost (Meloun a Militký, 2002).

Teplotní mapa (HM, heat-map) je rovněž formou vícerozměrného shlukování. Vyjadřuje kvantitu datového souboru pomocí barevné škály označující zvýšené či snížené hodnoty prvků skupiny vzorků (Moon a kol., 2009). Každý řádek je obvykle normalizován, jelikož data v souboru se mohou řádově lišit (Patti a kol., 2013).

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Chemikálie

Acetonitril (LC-MS, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), isopropylalkohol (LC-MS, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), octan amonný (LC-MS, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), voda (LC-MS, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), interní standard (SPLASH® LIPIDOMIX® Mass Spec Standard, Avanti Polar Lipids, AL, USA).

3.2 Přístrojové vybavení

Chlazená centrifuga (Rotina 410; Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Německo), vortex (IKA Works, USA), kapalinový chromatograf ExionLC (SCIEX, Framingham, MA, USA), tandemový hmotnostní spektrometr QTRAP 6500+ (SCIEX, Framingham, MA, USA).

3.3 Biologický materiál

V experimentu byla použita CSF potkanů kmene SHR (spontánně hypertenzní krysy) a transgenních SHR24, u nichž jsou exprimovány z obou konců zkrácené lidské tau izoformy 2N4R pod myším promotorem Thy1. Zkrácené proteiny odpovídají AMK 151–274 a 306–391 původní 441 AMK velké izoformy 2N4R (Zilka a kol., 2006, Alzforum, 2019). Vzorky CSF byly poskytnuty PharmDr. Andrejem Kováčem, PhD. z Institutu neuroimunologie Slovenské akademie věd.

Zvířata byla chována v laboratorních podmínkách v souladu s etickými normami a mezinárodními standardy. Měla volný přístup k vodě i potravě a 12hodinový cyklus světla (začínající v 7:00) a tmy. Potkani byli uspáni ve věku 4 až 14 měsíců směsí tiletaminu/zolazepamu/xylazinu. Poté byli fixováni v držáku hlavy a z velké mozkové cisterny každého zvířete bylo odebráno asi 80 µl CSF. Po centrifugaci (5 min, 5000 rcf, 4 °C) byly vzorky zmrazeny v tekutém dusíku a uchovány při -80 °C v hlubokomrazicím boxu.

Celkový počet vzorků byl 129, z nichž 67 bylo kontrolních (K) a 62 transgenních (T). Jejich označení a stáří je uvedeno v Tab. 4.

Tab. 4 Stáří, počet a označení transgenních (SHR24) a kontrolních (SHR) potkanů

	Stáří (měsíce)	Počet	Označení	Datum narození	Datum odběru
SHR24	4	8	81–88	7/2018	11/2018
	4	2	103–104	9/2019	1/2019
	6	13	21–33	4/2018	10/2018
	8	10	107–116	10/2018	6/2019
	10	6	66–71	12/2017	10/2018
	10	2	140–141	10/2018	8/2019
	12	8	51–58	10/2017	10/2018
	12	4	77–80	11/2017	11/2018
	14	9	1–9	8/2017	10/2018
SHR	4	8	89–96	7/2018	11/2018
	4	2	101–102	9/2019	1/2020
	6	13	34–46	4/2018	10/2018
	8	8	117–124	10/2018	6/2019
	10	7	59–65	12/2017	10/2018
	10	3	142–144	10/2018	8/2019
	12	4	47–50	10/2017	10/2018
	12	4	97–100	12/2018	12/2018
	12	2	105–106	5/2018	5/2019
	14	11	10–20	8/2017	10/2018
	14	5	72–76	9/2017	11/2018

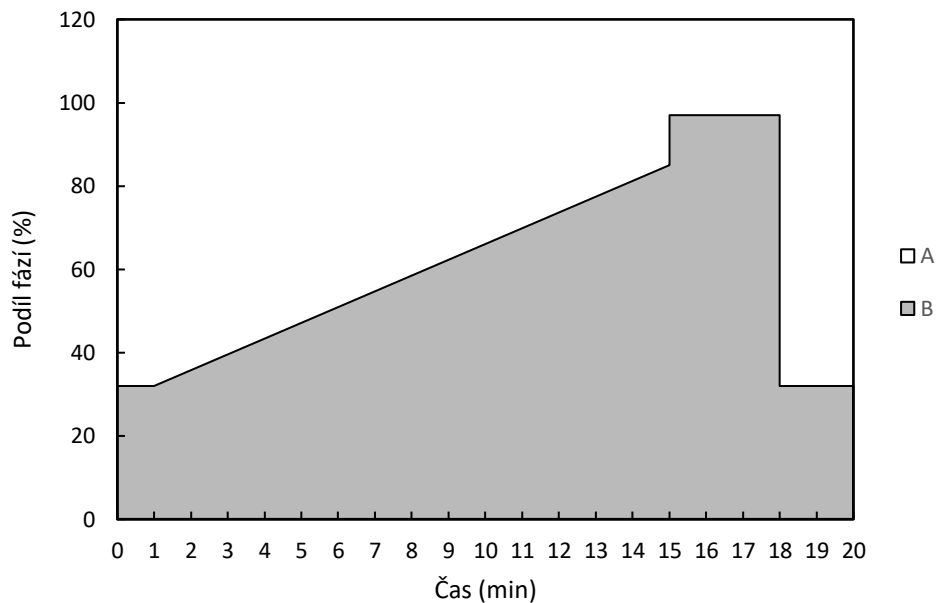
3.4 Postup cílené lipidomické analýzy

3.4.1 Extrakce metabolitů

Vzorky CSF byly nejdříve rozmrazeny při pokojové teplotě a protřepány na vortexu. Poté bylo k 20 μ l každého vzorku přidáno 80 μ l isopropanolu a 2 μ l interního standardu. Vzorky byly znovu protřepány na vortexu a inkubovány do následujícího dne v hlubokomrazicím boxu při -80 °C. Další den byly vzorky rozmrazeny při pokojové teplotě a centrifugovány (10 minut, 4 °C a 15 000 rcf). Z každého vzorku bylo odebráno 50 μ l supernatantu do čisté vialky pro následnou LC-MS analýzu. Vzorek blanku byl připraven stejně, místo biologické matrice však bylo přidáno pouze rozpouštědlo. Vzorek kontroly kvality (QC) byl připraven smícháním 5 μ l supernatantu jednotlivých vzorků.

3.4.2 Chromatografie na reverzní fázi spojená s hmotnostní spektrometrií

Použitá metoda analýzy byla upravena podle publikace Xuan a kol. (2018). Chromatografická separace na reverzní fázi (RPLC) byla provedena na přístroji ExionLC (SCIEX, Framingham, MA, USA) s použitím kolony ACQUITY UPLC BEH C8 (Waters, Milford, MA, USA) o délce 100 mm, průměru 2,1 mm a velikosti částic stacionární fáze 1,7 μ m. Kolona byla nastavena na teplotu 55 °C a autosampler na 15 °C. Nástřik vzorku byl 5 μ l a QC vzorek, byl měřen opakovaně za každým šestým vzorkem CSF. Mobilní fázi A tvořil roztok acetonitrilu a vody v poměru 6:4 s přídavkem 10 mM octanu amonného, mobilní fázi B roztok isopropanolu a acetonitrilu v poměru 9:1 rovněž s přídavkem 10 mM octanu amonného. Pro RPLC byla aplikována gradientová eluce (průběh viz Obr 6) o průtokové rychlosti mobilní fáze 0,4 ml/min. Chromatograf byl spojen s tandemovým hmotnostním spektrometrem QTRAP 6500+ (SCIEX, Framingham, MA, USA). Iontový zdroj (typu ESI) pracoval v pozitivním a negativním módu. Napětí na kapiláře bylo nastaveno na +5500 nebo -4500 V a teplota na 500 °C. Tlak sušícího plynu byl 60 psi, zmlžovacího 50 psi a „curtain gas“ 40 psi. Trojitý kvadrupól pracoval v režimu MRM a parametr kolizního plynu (CAD) byl nastaven na „medium“.



Obr 6 Průběh gradientové eluce vysokoúčinné chromatografie na reverzní fázi u cílené lipidomické analýzy. Mobilní fáze A (oblast nad křivkou): roztok acetonitrilu a vody v poměru 6:4 s přidavkem 10 mM octanu amonného. Mobilní fáze B (oblast pod křivkou): roztok isopropanolu a acetonitrilu v poměru 9:1 rovněž s přidavkem 10 mM octanu amonného. Na počátku analýzy byl podíl mobilních fází 68 % A a 32 % B. Následovalo lineární zvýšení mobilní fáze B na hodnotu 85 % a snížení mobilní fáze A na 15 % s maximem fáze B v čase 15,6–18 min. Poté byl podíl mobilních fází navrácen na počáteční stav, který zůstal neměnný až do konce analýzy.

3.4.3 Zpracování dat a statistická analýza

Data byla zpracována v softwaru MultiQuant™ 3.0 (AB Sciex, Framingham, MA, USA) – byla provedena integrace na základě MRM přechodů a RT. Pro statistické vyhodnocení byla lipidomická data převedena do softwaru R (verze 3.1.2), kde byla interpolována a upravena funkcí LOESS (locally weighted regression), jejíž cílem je odhad trendů a redukce systematického šumu. Z QC vzorků byly následně vypočteny variační koeficienty (CV) a lipidy s CV vyšším než 30 % byly vyřazeny z dalšího zpracování. Dále byla provedena ln transformace, data byla centrována na střední hodnotu (0) a škálována na jednotkový rozptyl. Konečným výsledkem pro statistické zpracování je pak matice s obvyklým tvarem X ($m \times n$). m odpovídají vzorkům a n ploše nebo koncentraci jednotlivých metabolitů (Wojtowitz a kol., 2012). Pomocí t-testu byla vypočtena hodnota p a poté následovala Bonferroniho korekce pro násobné testování hypotéz. Po provedení Mahalanobisova výpočtu bylo odstraněno celkem 5 vzorků ze 129. K vizualizaci dat byla provedena analýza PCA, PLS-DA, OPLS-DA a HM. Rovněž byly zhotoveny boxploty neboli krabicové grafy, které zobrazují dolní kvartil, medián, horní kvartil včetně odlehlých hodnot datového souboru (Spitzer a kol., 2014).

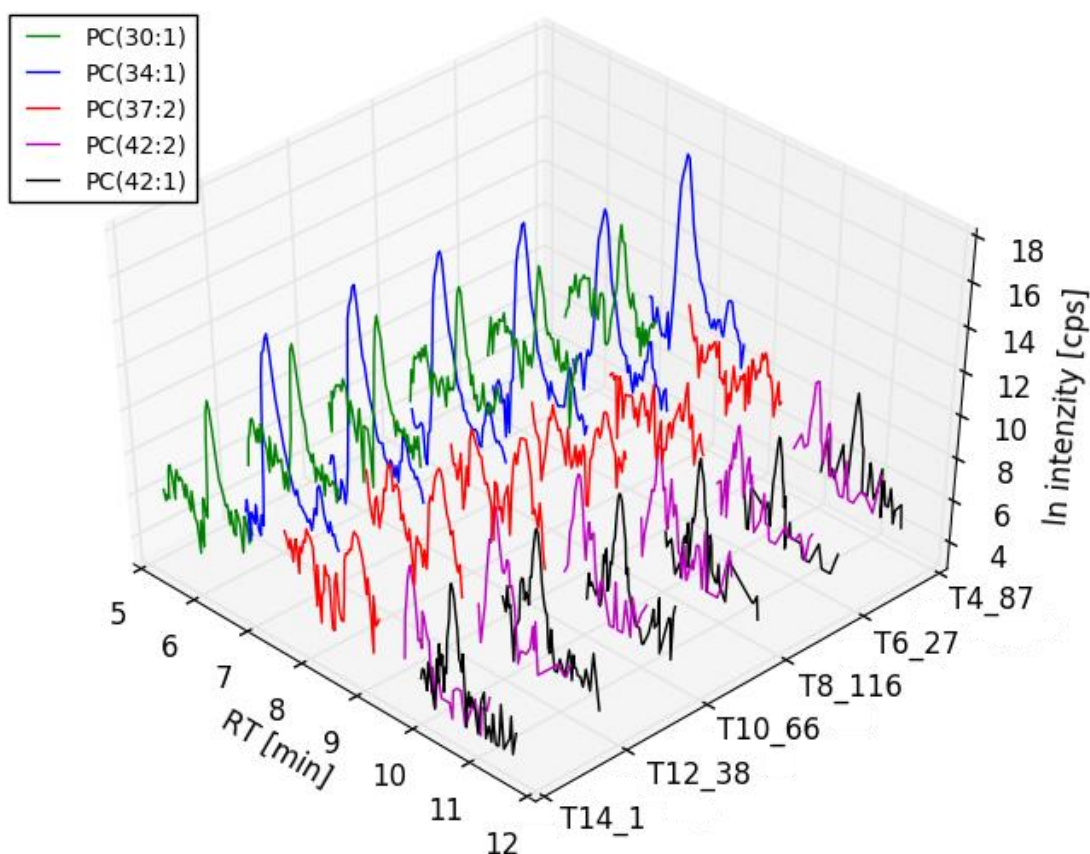
4 VÝSLEDKY

Pomocí cílené lipidomické analýzy bylo identifikováno a kvantifikováno celkem 394 lipidů. Třídy, podtřídy a počty analyzovaných lipidů jsou uvedeny v Tab. 5. Přejechy MRM v pozitivním módu jsou v Příloze 1 a v negativním módu v Příloze 2.

Tab. 5 Kategorie, třídy, podtřídy a počty identifikovaných lipidů v cílené lipidomické analýze transgenních potkanů s tauopatií.

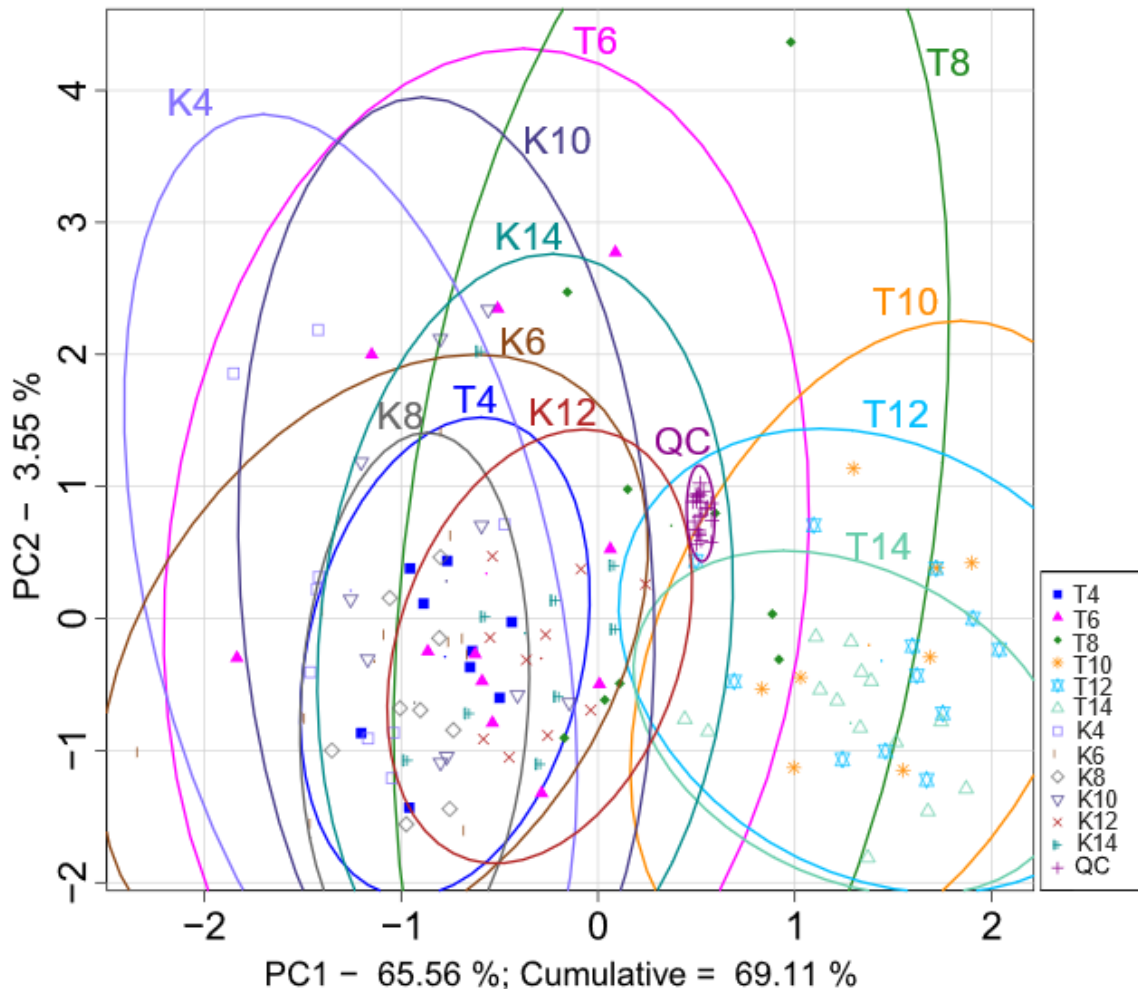
Kategorie	Třída	Podtřída	Počet	
Acyly MK (FAC)	Mastné kyseliny a jejich konjugáty (FA)	Mastné kyseliny (FA)	12	
Glycerolipidy (GL)	Diradylglyceroly (DGL)	Diacylglyceroly (DG)	8	
	Triradylglyceroly (TGL)	Triacylglyceroly (TG)	143	
Glycerofosfolipidy (GPL)	Glycerofosfocholiny (GPC)	Fosfatidylcholiny (PC)	75	
		Lysofosfatidylcholiny (LPC)	16	
		Ethericky vázané PC (PC-O)	52	
	Glycerofosfoethanolaminy (GPE)	Fosfatidylethanolaminy (PE)	Ethericky vázané LPC (LPC-O)	2
			Lysofosfatidylethanolaminy (LPE)	2
		Ethericky vázané PE (PE-O)	Ethericky vázané PE	16
			Ethericky vázané LPE (LPE-O)	3
	Glycerofosfoseriny (GPS)	Fosfatidylseriny (PS)	3	
	Glycerofosfoinositoly (GPI)	Fosfatidylinositoly (PI)	5	
	Sfingolipidy (SP)	Ceramidy (Cer)	Ceramidy (Cer)	5
Fosfosfingolipidy (PSP)		Sfingomyeliny (SM)	33	
Neutrální glykosfingolipidy		Hexosylceramidy (HexCer)	3	
		Dihexosylceramidy (Hex2Cer)	1	

Na Obr. 7 je znázorněn eluční profil vybraných fosfatidylcholinů získaných analýzou vzorků potkanů SHR24 (transgenních potkanů) různého stáří - intenzita se zvyšuje s věkem potkanů. Také je patrná závislost RT na délce acylového řetězce v molekule a dvojných vazbách (dříve dochází k eluci lipidů s nižším počtem uhlíkových atomů a vyšším počtem násobných vazeb).



Obr. 7 Chromatogram pěti vybraných lipidů identifikovaných cílenou lipidomickou analýzou vzorků mozkomíšního moku transgenních potkanů s tauopatií (různého stáří). RT – retenční čas, intenzita píků byla pro přehlednější znázornění zlogaritmována přirozeným logaritmem.

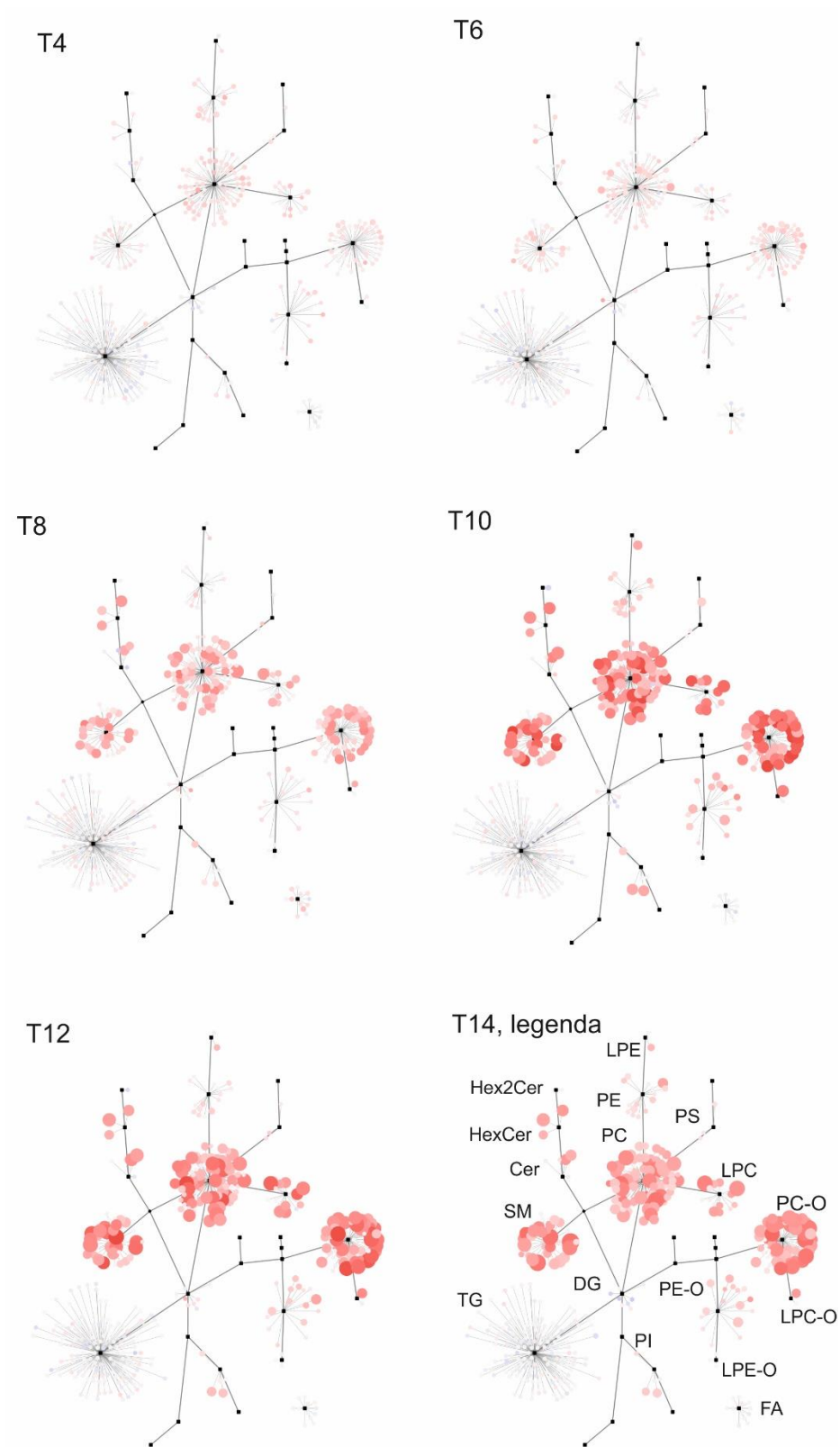
Pro vizualizaci dat byly využity jak supervizované, tak nesupervizované statistické metody. Rozdělení souboru dat po využití nesupervizované metody PCA je znázorněno v Obr. 8. Lze pozorovat výrazné odlišení vzorků všech K od T8, T10, T12 a T14. Nicméně T4 a T6 se neoddělují, vzorky nejevily tak signifikantní změny oproti K, což je patrné rovněž z výsledků DA níže. Vzorky QC se shlukují, vykazují tedy homogenitu a jsou lokalizovány mezi skupinu K a T vzorků.



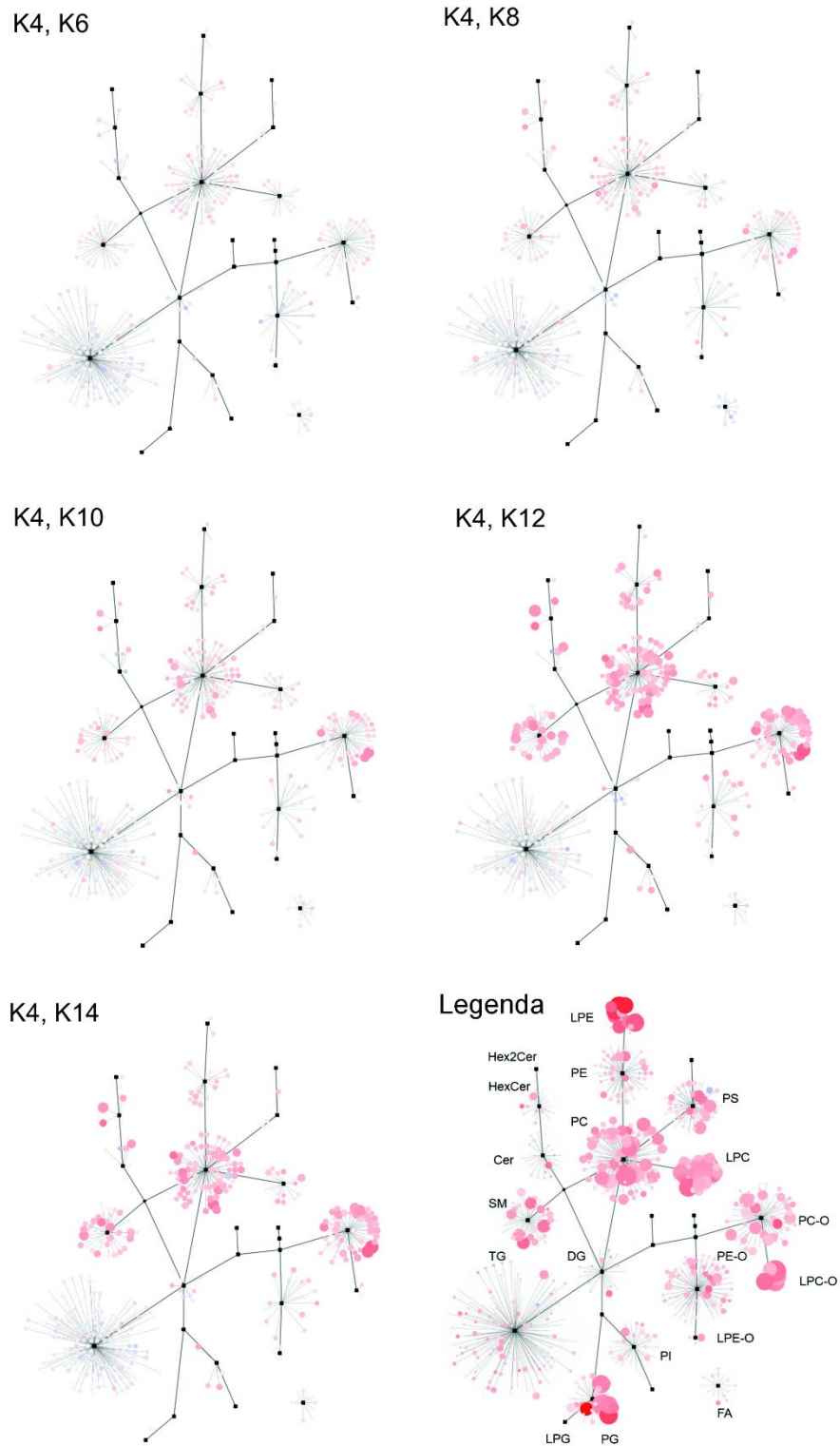
Obr. 8 PCA aplikovaná na data získaná z 124 vzorků mozkomíšního moku kontrolních a transgenních potkanů s tauopatií u cílené lipidomické analýzy. Dochází k oddělování vzorků pocházejících ze starších transgenních potkanů (T8, T10, T12 a T14) od zbytku vzorků. Fialové značky znázorňují vzorky kontroly kvality. Součet hodnot pod osami grafu (69,11 %) udává procento vysvětlené variability souboru.

V rámci DA byla provedena PLS-DA a OPLS-DA a podle CLU HM. Teplotní mapy byly zpracovány dvěma způsoby. Prvním bylo porovnání kvantifikovaných lipidů u vzorků CSF K a T potkanů stejného stáří – lze takto sledovat možný vliv onemocnění na změny v množství identifikovaných látek (viz Příloha 3). Druhým způsobem je porovnání kvantity lipidů u vzorků CSF odebraných T potkanům v jejich 4 měsících se vzorky CSF starších potkanů (6, 8, 10, 12 nebo 14měsíčních), čímž lze sledovat možná závislost stáří na změny v množství identifikovaných látek (viz Příloha 4). Stejně tak byla porovnána data ze vzorků K potkanů.

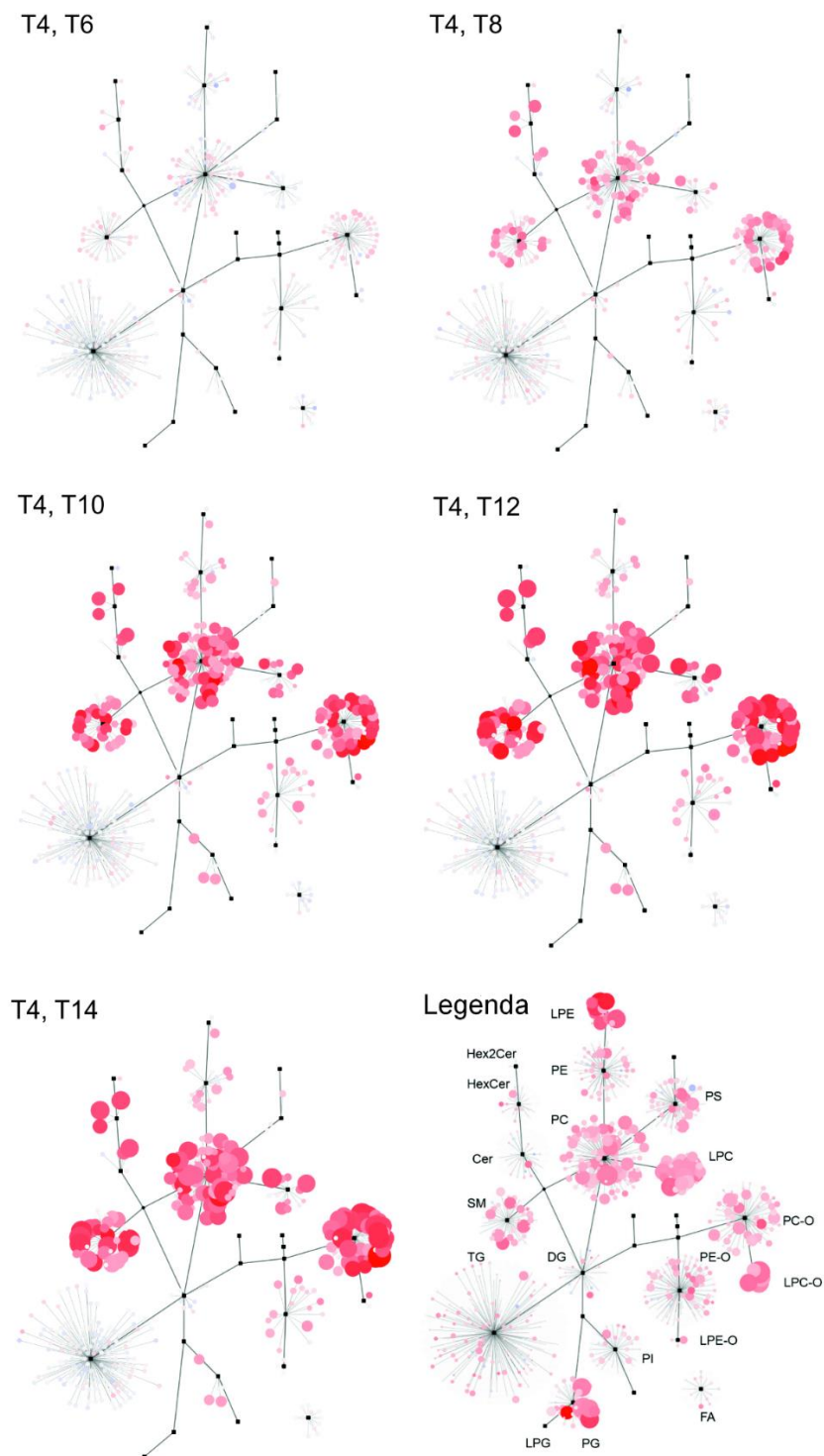
Na Obr. 9 jsou znázorněny změny v množství lipidů v CSF u vzorků transgenních a kontrolních potkanů ve stejném věku, na Obr. 10 změny v závislosti na stáří kontrolních potkanů a na Obr. 11 změny v závislosti na stáří transgenních potkanů. Při srovnání kontrolních a transgenních potkanů stejného stáří i transgenních potkanů různého věku jsou zřejmé nejvýraznější změny u potkanů starých 10, 12 a 14 měsíců, konkrétně u PC, PC-O a LPC z kategorie GPL a SM, Cer a HexCer z kategorie SP. Na tyto skupiny lipidů je práce podrobněji zaměřena.



Obr. 9 Teplotní mapa porovnávající změny v množství lipidů podle lipidových tříd u vzorků mozkomíšního moku kontrolních a transgenických (T) potkanů stejného stáří. Velikost kuličky odpovídá dekadickému logaritmu hodnoty p-value. Intenzita barvy je přímo úměrná fold change (míra změny mezi soubory dat), kdy modrá indikuje snížení a červená zvýšení u vzorků transgenických potkanů v porovnání s kontrolními vzorky. Legenda vysvětlující příslušnost jednotlivých větví k podtřídám lipidů je vysvětlena obrázkem vpravo dole (T14).



Obr. 10 Teplotní mapa porovnávající změny v množství lipidů podle lipidových tříd u vzorků mozkomíšního moku kontrolních (K) potkanů různého stáří. Velikost kuličky odpovídá dekadickému logaritmu hodnoty p-value. Intenzita barvy je přímo úměrná fold change (míra změny mezi soubory dat), kdy modrá indikuje snížení a červená zvýšení u vzorků transgenických potkanů v porovnání s kontrolními vzorky. Legenda vysvětlující příslušnost jednotlivých větví k podtřídám lipidů je uvedena na obrázku vpravo dole.



Obr. 11 Teplotní mapa porovnávající změny v množství lipidů podle lipidových tříd u vzorků mozkomíšního moku transgenních (T) potkanů různého stáří. Velikost kuličky odpovídá dekadickému logaritmu hodnoty p-value. Intenzita barvy je přímo úměrná fold change (míra změny mezi soubory dat), kdy modrá indikuje snížení a červená zvýšení u vzorků transgenních potkanů v porovnání s kontrolními vzorky. Legenda vysvětlující příslušnost jednotlivých větví k podtřídám lipidů je uvedena na obrázku vpravo dole.

Jedním z výsledků OPLS-DA je korelační diagram (scatter plot, S-plot), jehož osy tvoří hodnoty korelace a kovariance. Podle absolutní hodnoty korelace lze určit nejvíce rozdílné neboli diskriminující lipidy. Podle S-plotu skupin vzorků K14 a T14 bylo vybráno z celkového počtu 394 analyzovaných lipidů 25 lipidů, které nejvíce diskriminují skupiny transgenních a kontrolních vzorků mozkomíšního moku potkanů s tauopatií (viz Tab. 6).

Tab. 6 Přehled 25 lipidů nejvíce diskriminující skupiny transgenních a kontrolních vzorků mozkomíšního moku potkanů u cílené lipidomické analýzy. Látky jsou seřazeny dle absolutní hodnoty korelace skupiny vzorků K14 a T14.

Lipid	p1 ^a	p1_corr ^b
PC(34:1)	5,7954	0,9929
PC(32:1)	5,5703	0,9923
PC(36:2-1)	5,3997	0,9923
PC(33:1)	7,0768	0,9911
PC(37:2-1)	6,7874	0,9906
PC(35:1)	7,2575	0,9897
PC-O(36:1-2)	7,1933	0,9897
PC-O(36:3-1)	6,4088	0,9896
SM(34:1)	6,3055	0,9895
PC-O(38:1-1)	7,5253	0,9893
PC(37:4)	7,0635	0,9893
PC-O(32:1-2)	6,0663	0,9892
PC-O(34:1-1)	7,0172	0,9891
PC(33:2)	6,7991	0,9890
PC(42:2-1)	6,2562	0,9889
PC(42:1)	6,5828	0,9887
PC(35:2)	6,9207	0,9886
SM(37:0)	6,9154	0,9878
PC(38:2-1)	5,6708	0,9876
PC(36:1-1)	5,2722	0,9873
PC(30:1)	6,1390	0,9867
PC-O(36:1-1)	7,0552	0,9867
PC-O(36:2-1)	6,9008	0,9865
PC-O(34:2-2)	6,8572	0,9863
PC-O(38:5-1)	6,7673	0,9862

^a Kovariance (míra variability proměnných), osa x.

^b Korelace (lineární závislost mezi proměnnými), osa y.

V závorce (x:y-z) znamená x počet uhlíků, y počet dvojných vazeb a z pořadí přechodu.

PC – fosfatidylcholiny, PC-O – ethericky vázané fosfatidylcholiny, SM – sfingomyeliny.

Podle S-plotu skupin vzorků T4 a T14 nebo K14 a T14 bylo vybráno z kompletní HM (viz Příloha 3 a Příloha 4) obsahující všech 394 analyzovaných lipidů vždy 25 nejvíce diskriminujících, a to z kategorie SP (Tab. 7 a Tab. 8), z podtřídy PC (Tab. 9 a Tab. 10) a PC-O (Tab. 11 a Tab. 12). Z podtřídy LPC je uvedeno všech 16 identifikovaných lipidů (Tab. 13 a Tab. 14).

Teplotní mapy byly vytvořeny na základě hodnot p-value, jež byly vypočítány t-testem a zlogaritmovány. Intenzita barvy závisí na těchto hodnotách nepřímo úměrně, nižší hodnota p-value tedy odpovídá větší intenzitě barvy. Fold change (míra změny mezi soubory dat) je dána druhem barvy, kdy modrá indikuje snížení a červená zvýšení u vzorků transgenních potkanů v porovnání s kontrolními vzorky.

V rámci DA byly vytvořeny rovněž krabicové grafy. Pro ukázkou distribuce naměřených dat byly vybrány vždy dva grafy lipidů nejvíce diskriminující skupiny T a K vzorků v OPLS-DA analýze. Grafy lipidů z kategorie SP jsou na Obr. 12 a Obr. 13, z podtřídy PC na Obr. 14 a Obr. 15, z podtřídy PC-O na Obr. 16 a Obr. 17, a z podtřídy LPC na Obr. 18 a Obr. 19.

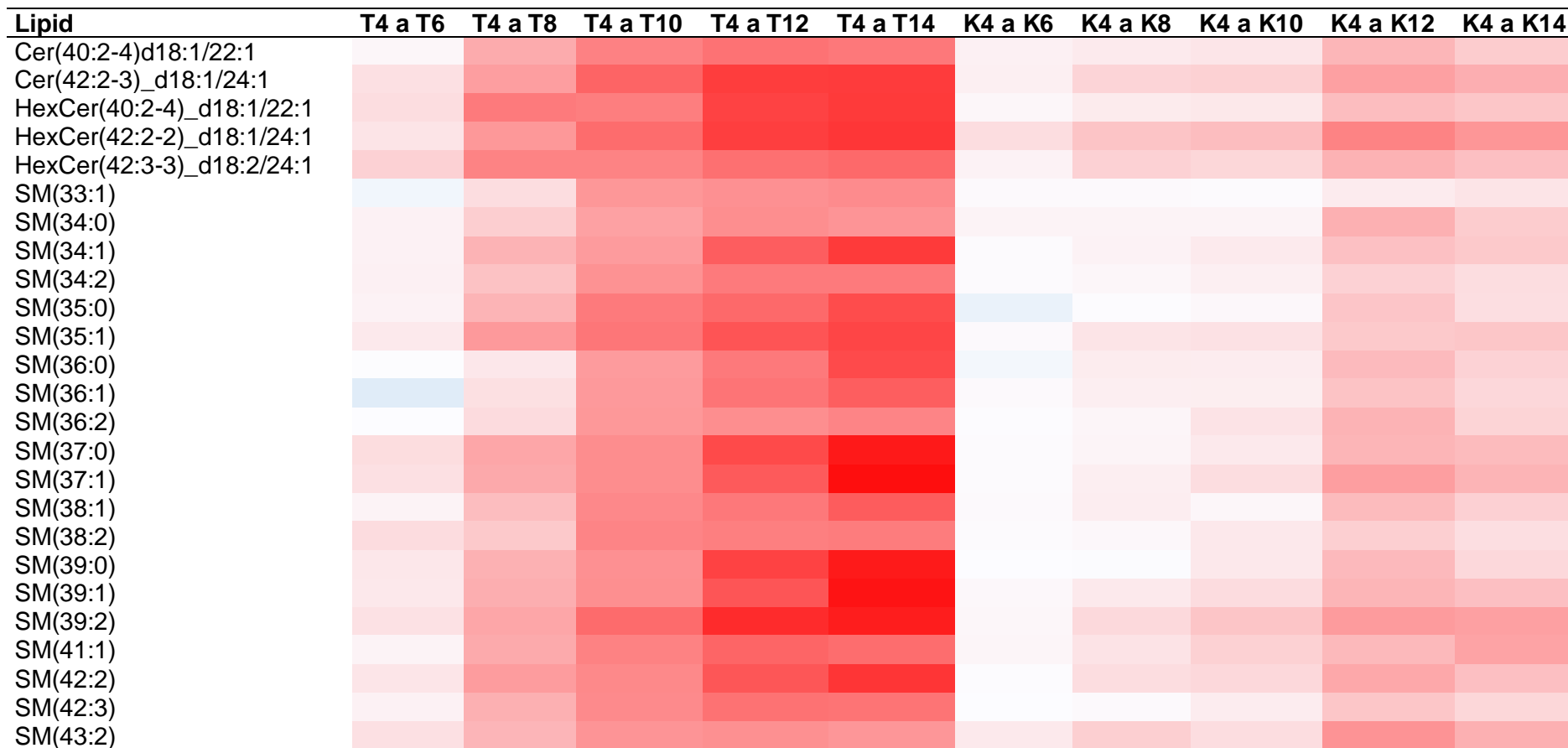
4.1 Sfingolipidy

Tab. 7 Teplotní mapa (HM) porovnávající změny v množství sfingolipidů identifikovaných cílenou lipidomickou analýzou v mozkomíšním moku kontrolních (K) a transgenních (T) potkanů stejného stáří. Z celkového počtu 42 lipidů bylo vybráno do HM podle absolutní hodnoty korelace vzorků K14 a T14 25 nejvíce diskriminujících látek.

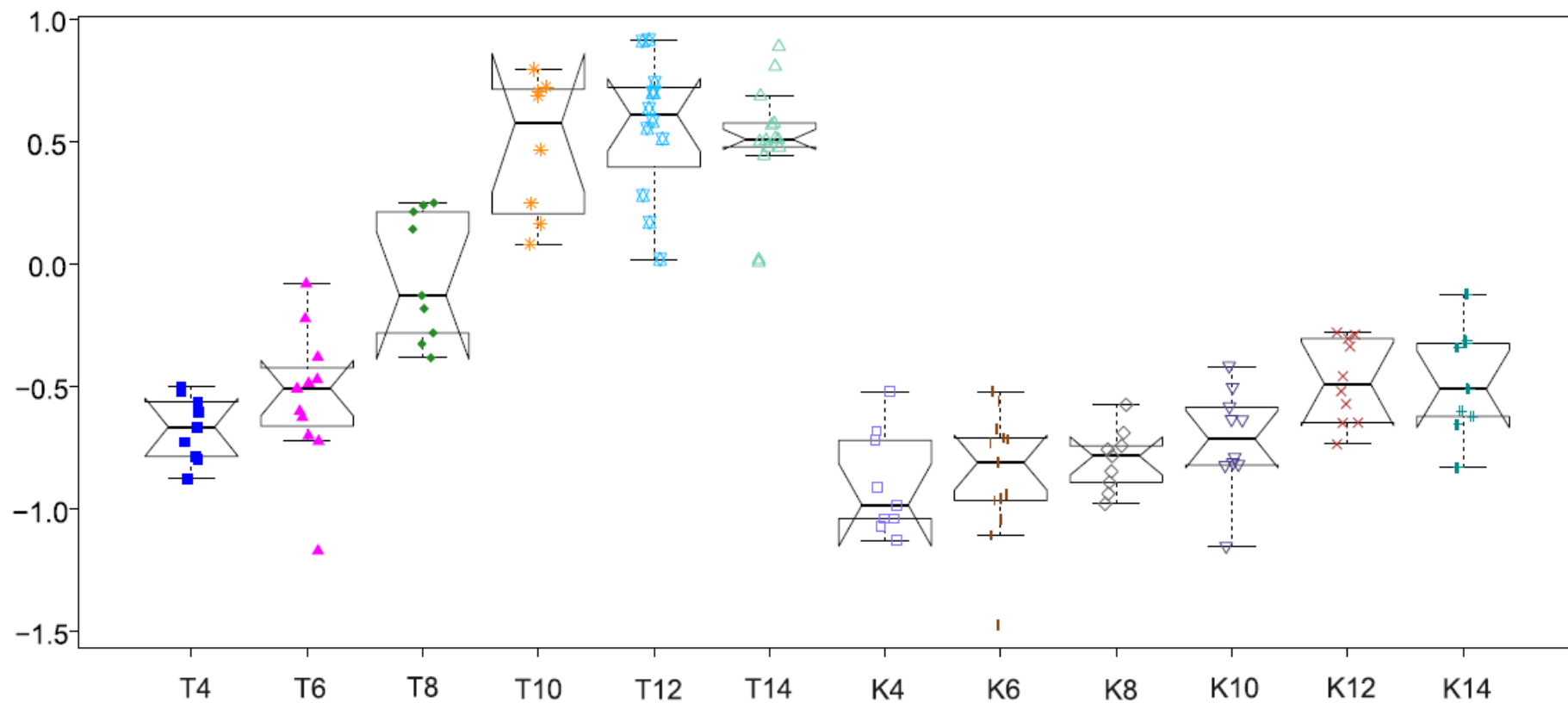
Lipid	T4 a K4	T6 a K6	T8 a K8	T10 a K10	T12 a K12	T14 a K14
Cer(40:2-4)_d18:1/22:1						
Cer(42:2-3)_d18:1/24:1						
HexCer(40:2-4)_d18:1/22:1						
HexCer(42:2-2)_d18:1/24:1						
HexCer(42:3-3)_d18:2/24:1						
SM(33:1)						
SM(34:0)						
SM(34:1)						
SM(34:2)						
SM(35:0)						
SM(35:1)						
SM(36:0)						
SM(36:1)						
SM(36:2)						
SM(37:0)						
SM(37:1)						
SM(38:1)						
SM(38:2)						
SM(39:0)						
SM(39:1)						
SM(39:2)						
SM(41:1)						
SM(42:2)						
SM(42:3)						
SM(43:2)						

Cer – ceramidy, HexCer – hexosylceramidy, SM – sfingomyeliny, v závorce (x:y-z) znamená x počet uhlíků, y počet dvojných vazeb a z pořadí přechodu, d – dihydroxy mastná kyselina.

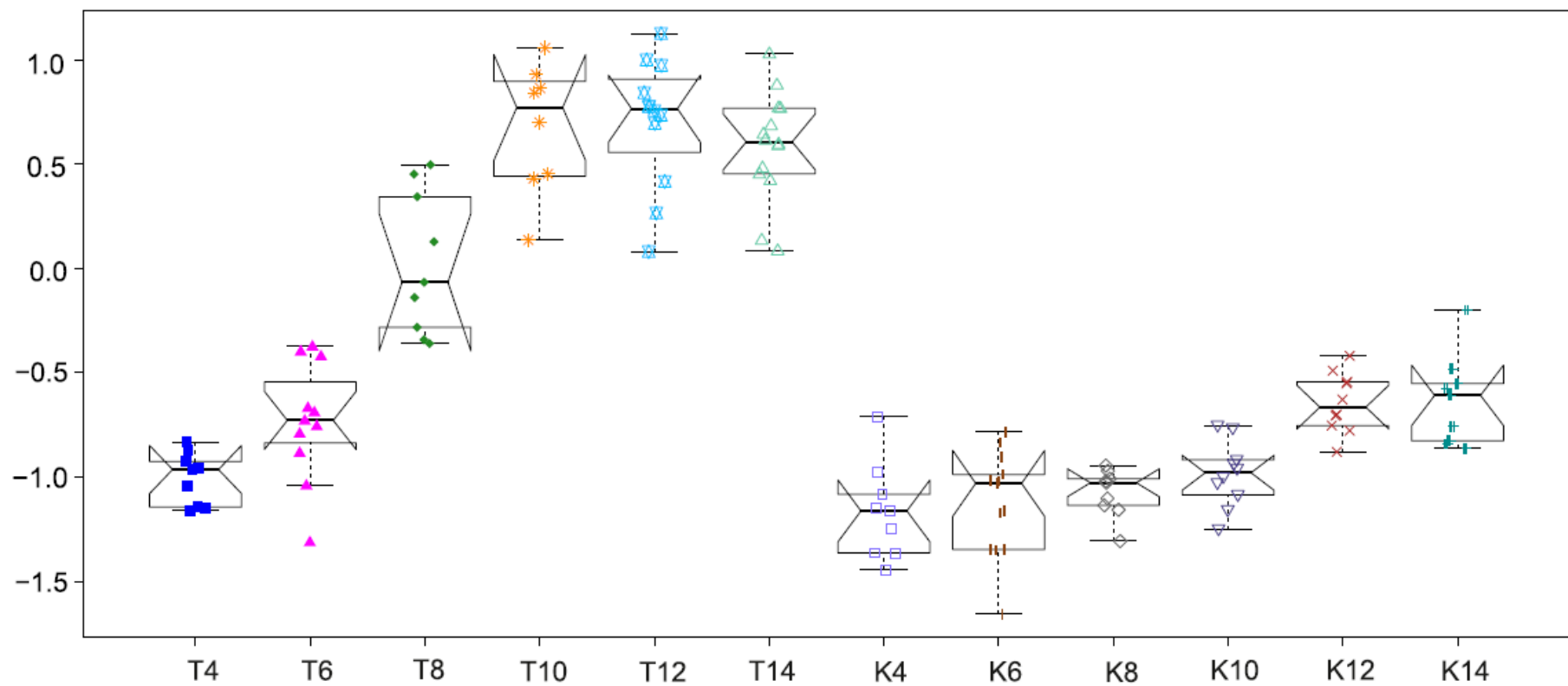
Tab. 8 Teplotní mapa (HM) porovnávající změny v množství sfingolipidů identifikovaných cílenou lipidomickou analýzou v mozkomíšním moku kontrolních (K) potkanů různého stáří a transgenních (T) potkanů různého stáří. Z celkového počtu 42 lipidů bylo vybráno do HM podle absolutní hodnoty korelace vzorků T4 a T14 25 nejvíce diskriminujících látek.



Cer – ceramidy, HexCer – hexosylceramidy, SM – sfingomyeliny, v závorce (x:y-z) znamená x počet uhlíků, y počet dvojných vazeb a z pořadí přechodu, d – dihydroxy masná kyselina.



Obr. 12 Krabicové grafy lipidu SM(34:1) (sfingomyelinu s 34 uhlíky a jednou dvojnou vazbou) identifikovaného cílenou lipidomickou analýzou ve vzorcích mozkomíšního moku transgenních (T) a kontrolních (K) potkanů. Barevné body v grafu znázorňují rozdělení jednotlivých vzorků.



Obr. 13 Krabicové grafy lipidu SM(37:0) (sfingomyelinu s 37 uhlíky bez dvojných vazeb) identifikovaného cílenou lipidomickou analýzou ve vzorcích mozkomíšního moku transgenních (T) a kontrolních (K) potkanů. Barevné body v grafu znázorňují rozdělení jednotlivých vzorků.

4.2 Fosfatidylcholiny

Tab. 9 Teplotní mapa (HM) porovnávající změny v množství fosfatidylcholinů (PC) identifikovaných cílenou lipidomickou analýzou v mozkomíšním moku kontrolních (K) a transgenních (T) potkanů stejného stáří. Z celkového počtu 75 lipidů bylo vybráno do HM podle absolutní hodnoty korelace vzorků K14 a T14 25 nejvíce diskriminujících látek.

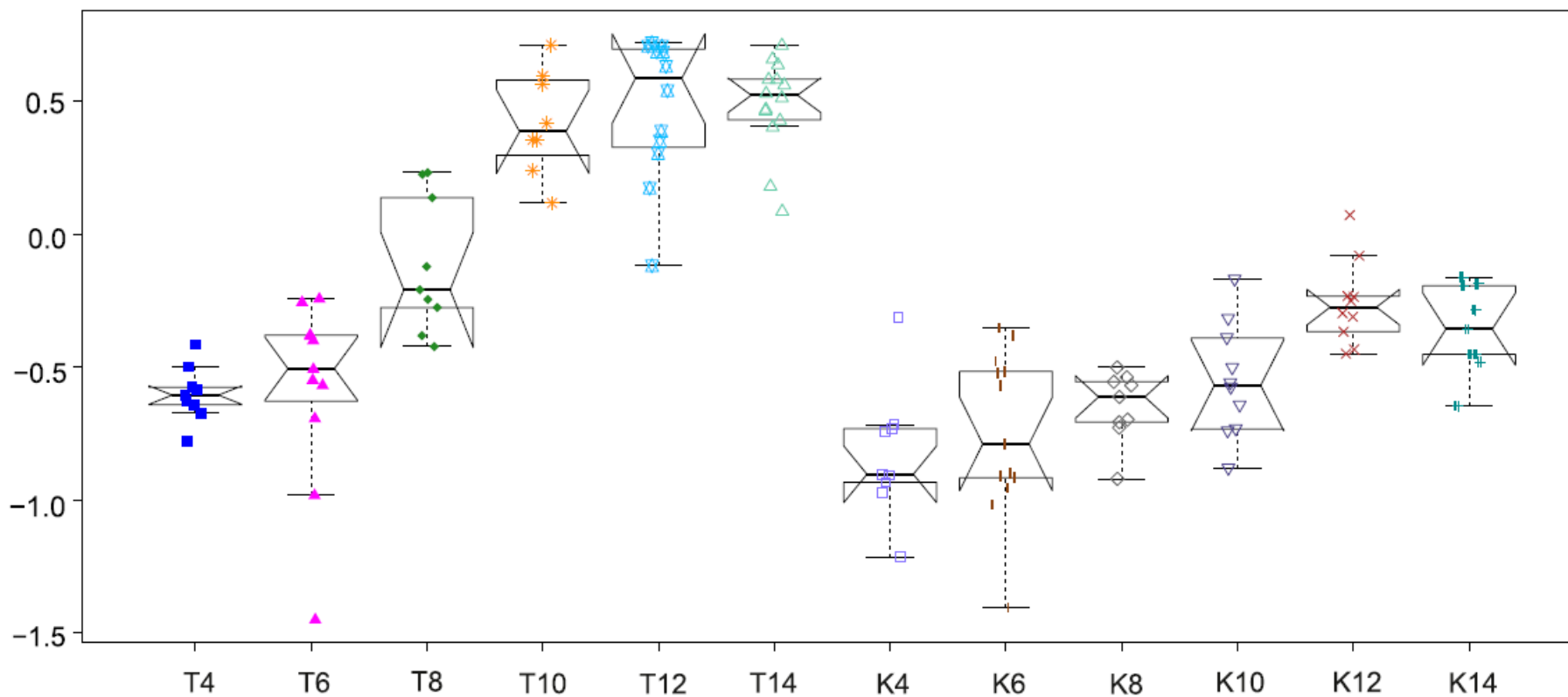
Lipid	T4 a K4	T6 a K6	T8 a K8	T10 a K10	T12 a K12	T14 a K14
PC(21:0)						
PC(30:0)						
PC(30:1)						
PC(31:0)						
PC(31:1)						
PC(32:1)						
PC(33:0)						
PC(33:1)						
PC(33:2)						
PC(34:1)						
PC(34:2)						
PC(35:1)						
PC(35:2)						
PC(36:1)						
PC(36:2)						
PC(37:2)						
PC(37:4)						
PC(38:1)						
PC(38:2)						
PC(39:7)						
PC(40:1)						
PC(40:2)						
PC(41:1)						
PC(42:1)						
PC(42:2)						

V závorce (x:y) znamená x počet uhlíků a y počet dvojných vazeb.

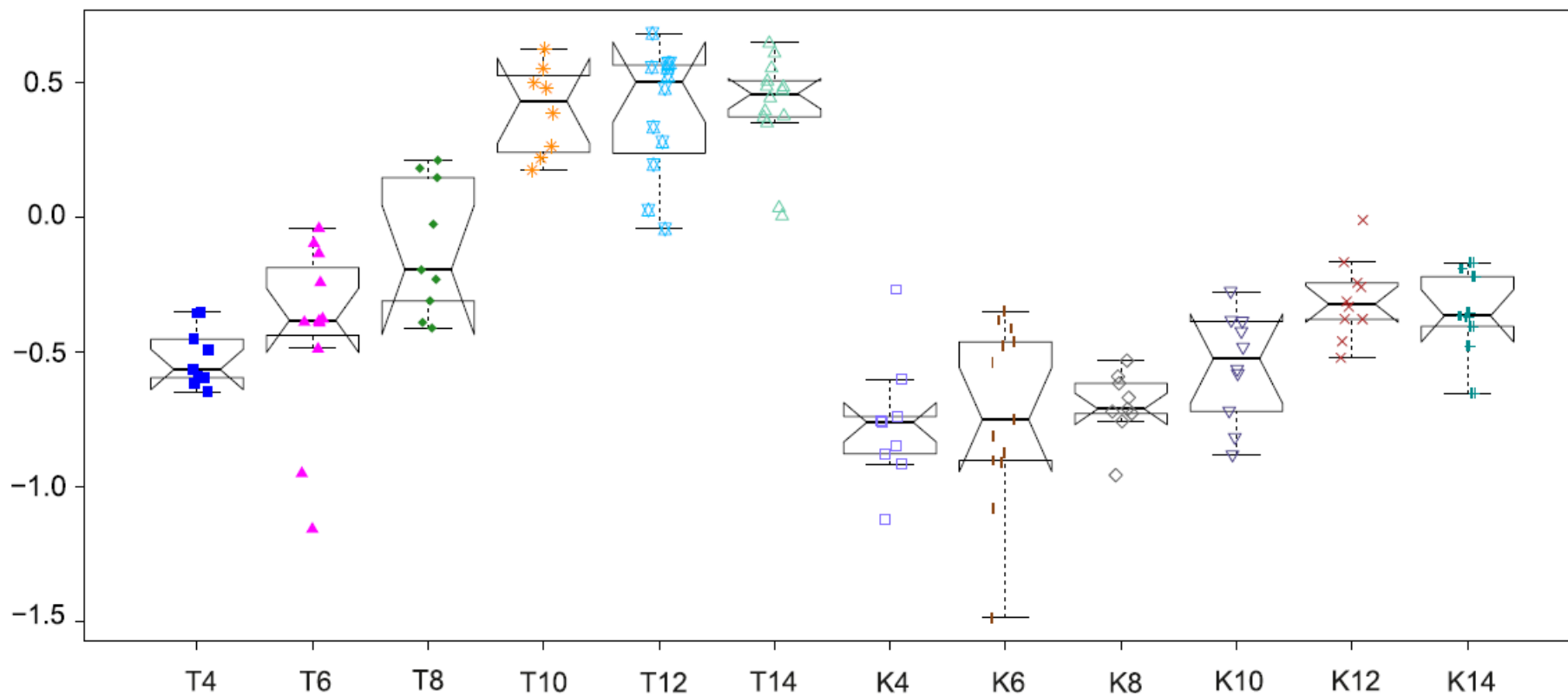
Tab. 10 Teplotní mapa (HM) porovnávající změny v množství fosfatidylcholinů (PC) identifikovaných cílenou lipidomickou analýzou v mozkomíšním moku kontrolních (K) potkanů různého stáří a transgenních (T) potkanů různého stáří. Z celkového počtu 75 lipidů bylo vybráno do HM podle absolutní hodnoty korelace vzorků T4 a T14 25 nejvíce diskriminujících látek.

Lipid	T4 a T6	T4 a T8	T4 a T10	T4 a T12	T4 a T14	K4 a K6	K4 a K8	K4 a K10	K4 a K12	K4 a K14
PC(21:0)										
PC(30:0)										
PC(30:1)										
PC(31:0)										
PC(31:1)										
PC(32:0)										
PC(32:1)										
PC(33:0)										
PC(33:1)										
PC(33:2)										
PC(34:1)										
PC(35:1)										
PC(35:2)										
PC(36:1)										
PC(36:2)										
PC(37:1)										
PC(37:2)										
PC(38:1)										
PC(38:2)										
PC(39:7)										
PC(40:1)										
PC(40:2)										
PC(41:1)										
PC(42:1)										
PC(42:2)										

V závorce (x:y) znamená x počet uhlíků a y počet dvojných vazeb.



Obr. 14 Krabicové grafy lipidu PC(34:1) (fosfatidylcholinu s 34 uhlíky a jednou dvojnou vazbou) identifikovaného cílenou lipidomickou analýzou ve vzorcích mozkomíšního moku transgenních (T) a kontrolních (K) potkanů. Barevné body v grafu znázorňují rozdělení jednotlivých vzorků.



Obr. 15 Krabicové grafy lipidu PC(32:1) (fosfatidylcholinu s 32 uhlíky a jednou dvojnou vazbou) identifikovaného cílenou lipidomickou analýzou ve vzorcích mozkomíšního moku transgenických (T) a kontrolních (K) potkanů. Barevné body v grafu znázorňují rozdělení jednotlivých vzorků.

4.3 Ethericky vázané fosfatidylcholin

Tab. 11 Teplotní mapa (HM) porovnávající změny v množství ethericky vázaných fosfatidylcholinů (PC-O) identifikovaných cílenou lipidomickou analýzou v mozkomíšním moku kontrolních (K) a transgenických (T) potkanů stejného stáří. Z celkového počtu 52 lipidů bylo vybráno do HM podle absolutní hodnoty korelace vzorků K14 a T14 25 nejvíce diskriminujících látek.

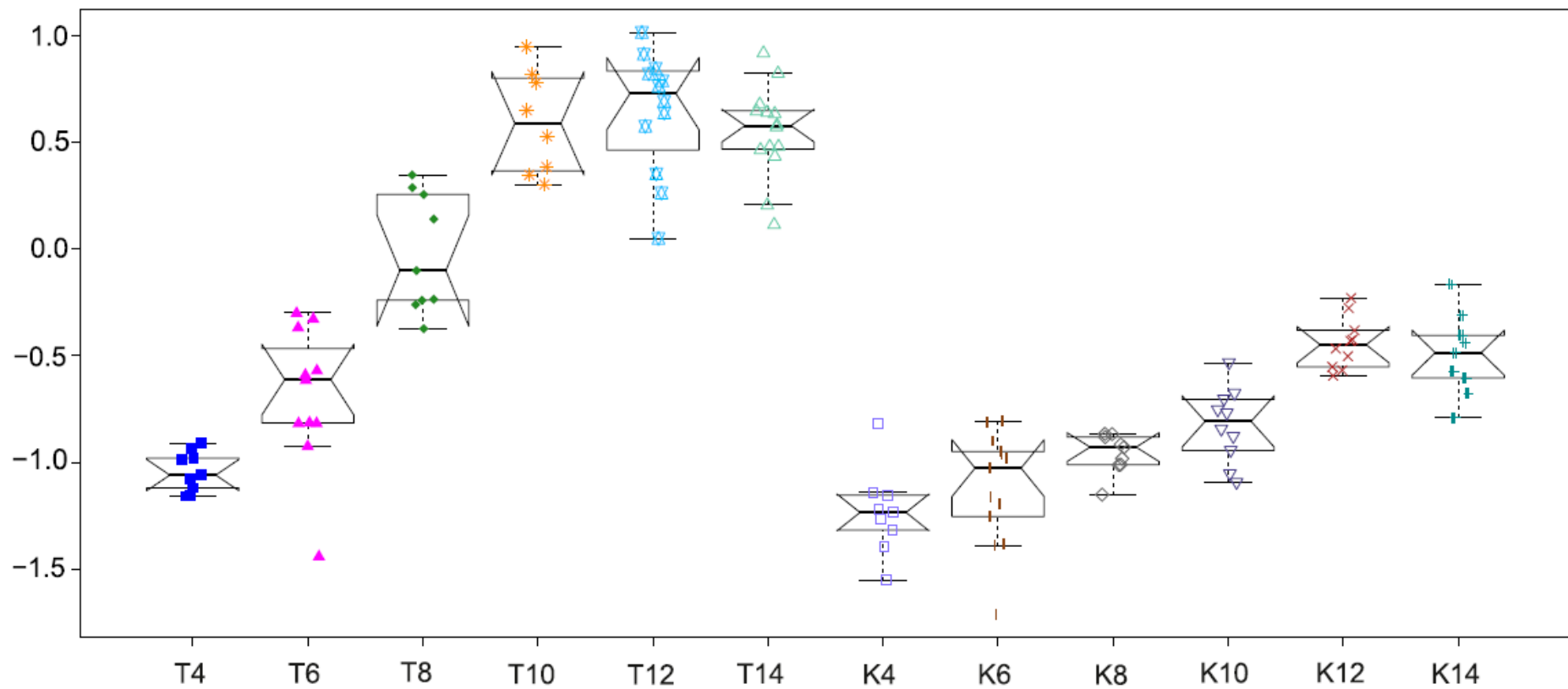
Lipid	T4 a K4	T6 a K6	T8 a K8	T10 a K10	T12 a K12	T14 a K14
PC-O(32:0)						
PC-O(32:1-1)						
PC-O(32:1-2)						
PC-O(33:1-1)						
PC-O(34:0)						
PC-O(34:1-1)						
PC-O(34:2-2)						
PC-O(36:1-1)						
PC-O(36:1-2)						
PC-O(36:2-1)						
PC-O(36:2-2)						
PC-O(36:3-1)						
PC-O(36:3-2)						
PC-O(36:5-1)						
PC-O(36:5-2)						
PC-O(36:6-2)						
PC-O(38:1-1)						
PC-O(38:2-1)						
PC-O(38:3-1)						
PC-O(38:4-1)						
PC-O(38:4-2)						
PC-O(38:5-1)						
PC-O(38:5-2)						
PC-O(38:6-1)						
PC-O(38:7)						

V závorce (x:y-z) znamená x počet uhlíků, y počet dvojných vazeb a z pořadí přechodu.

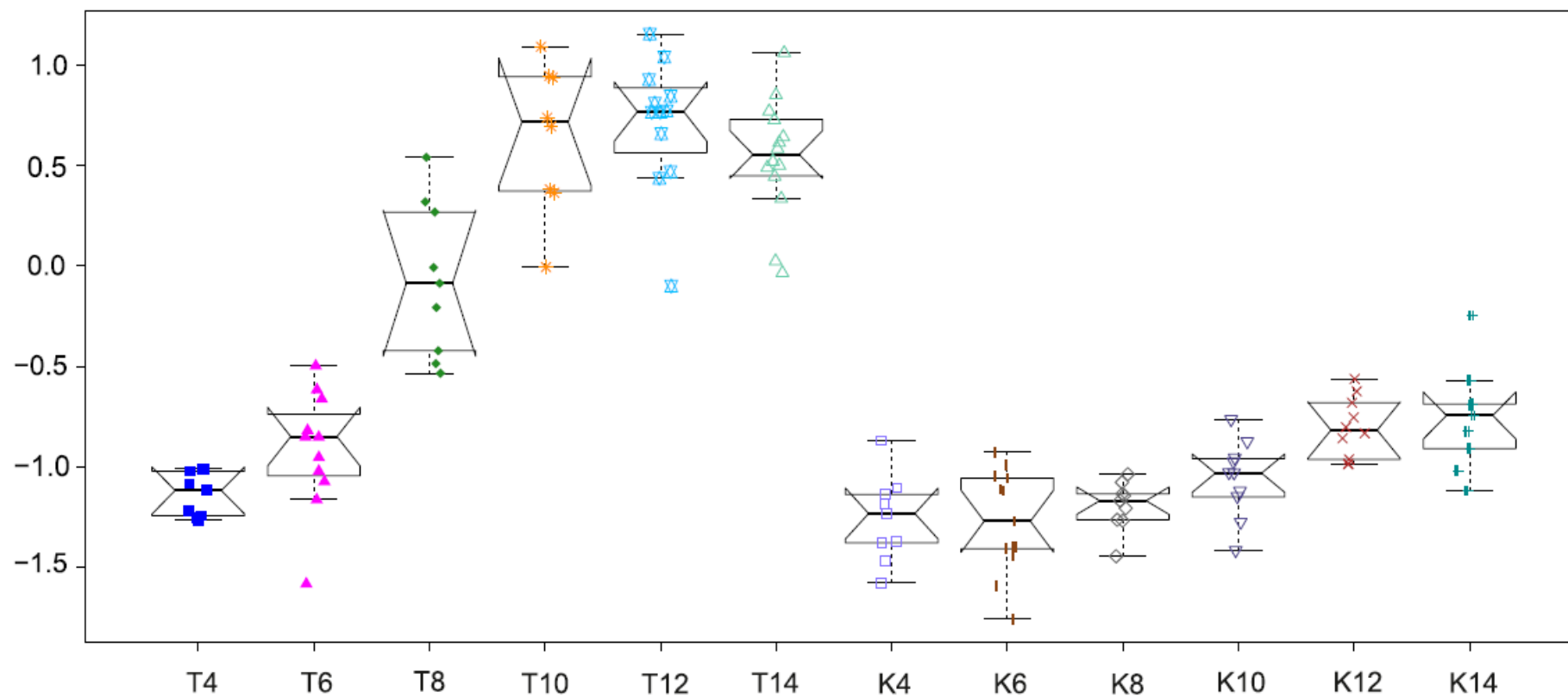
Tab. 12 Teplotní mapa (HM) porovnávající změny v množství ethericky vázaných fosfatidylcholinů (PC-O) identifikovaných cílenou lipidomickou analýzou v mozkomíšním moku kontrolních (K) potkanů různého stáří a transgenních (T) potkanů různého stáří. Z celkového počtu 52 lipidů bylo vybráno do HM podle absolutní hodnoty korelace vzorků T4 a T14 25 nejvíce diskriminujících látek

Lipid	T4 a T6	T4 a T8	T4 a T10	T4 a T12	T4 a T14	K4 a K6	K4 a K8	K4 a K10	K4 a K12	K4 a K14
PC-O(32:0)										
PC-O(32:1-1)										
PC-O(32:1-2)										
PC-O(32:2)										
PC-O(34:0)										
PC-O(34:1-1)										
PC-O(34:2-1)										
PC-O(34:2-2)										
PC-O(36:1-1)										
PC-O(36:1-2)										
PC-O(36:2-1)										
PC-O(36:2-2)										
PC-O(36:3-1)										
PC-O(36:3-2)										
PC-O(36:5-1)										
PC-O(36:5-2)										
PC-O(36:6-2)										
PC-O(38:1-1)										
PC-O(38:2-1)										
PC-O(38:3-2)										
PC-O(38:4-1)										
PC-O(38:4-2)										
PC-O(38:5-1)										
PC-O(38:6-1)										
PC-O(40:6-1)										

V závorce (x:y-z) znamená x počet uhlíků, y počet dvojných vazeb a z pořadí přechodu.



Obr. 16 Krabicové grafy lipidu PC-O(36:3-1) (ethericky vázaného fosfatidylcholinu s 36 uhlíky a třemi dvojnými vazbami, první přechod) identifikovaného cílenou lipidomickou analýzou ve vzorcích mozkomíšního moku transgenních (T) a kontrolních (K) potkanů. Barevné body v grafu znázorňují rozdělení jednotlivých vzorků.



Obr. 17 Krabicové grafy lipidu PC-O(36:1-2) (ethericky vázaného fosfatidylcholinu s 36 uhlíky a jednou dvojnou vazbou, druhý přechod) identifikovaného cílenou lipidomickou analýzou ve vzorcích mozkomíšního moku transgenických (T) a kontrolních (K) potkanů. Barevné body v grafu znázorňují rozdělení jednotlivých vzorků.

4.4 Lysofosfatidylcholiny

Tab. 13 Teplotní mapa porovnávající změny v množství lysofosfatidylcholinů (LPC) identifikovaných cílenou lipidomickou analýzou v mozkomíšním moku kontrolních (K) a transgenních (T) potkanů stejného stáří.

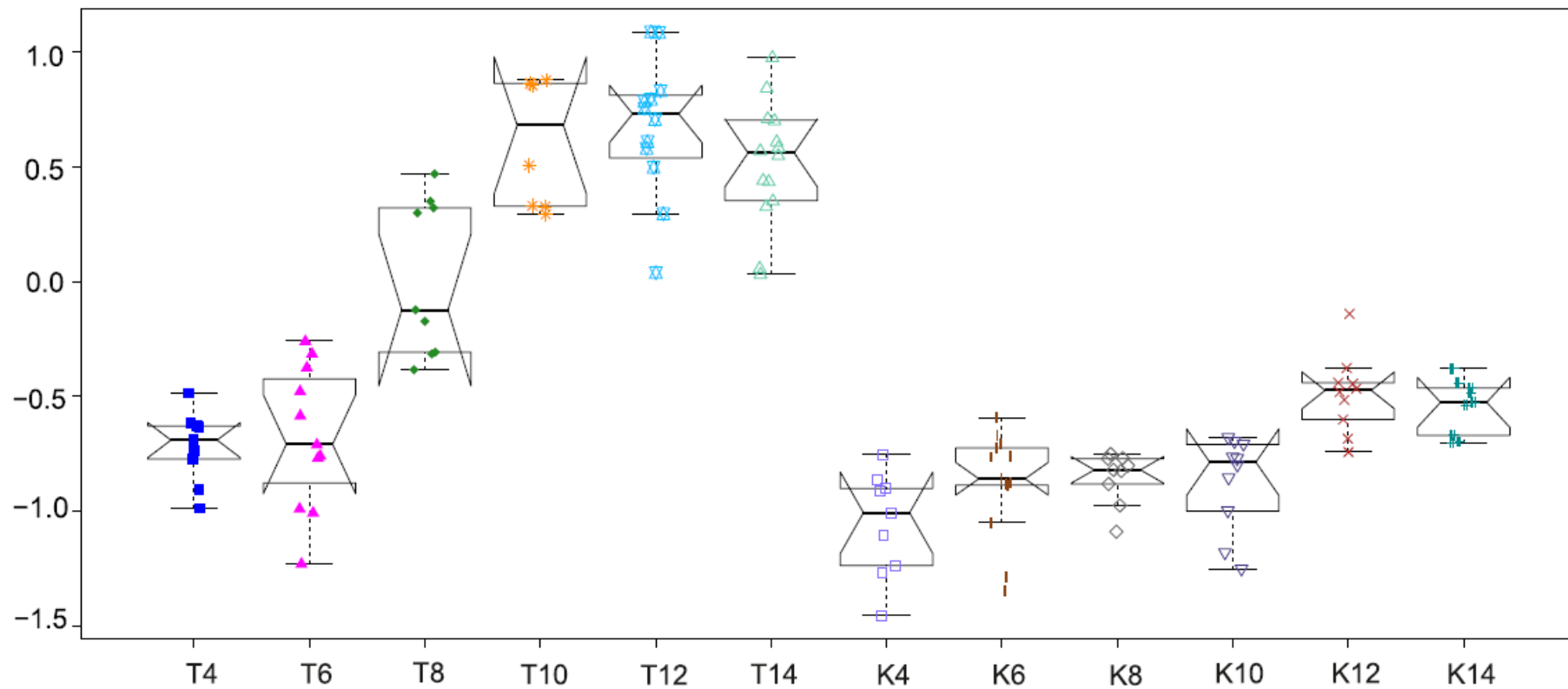
Lipid	T4 a K4	T6 a K6	T8 a K8	T10 a K10	T12 a K12	T14 a K14
LPC(15:0-1)	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue
LPC(16:0)	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red
LPC(17:0)	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red
LPC(18:0)	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red
LPC(18:1)	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red
LPC(18:2)	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red
LPC(18:4-1)	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue
LPC(18:4-2)	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue
LPC(20:0)	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red
LPC(20:1)	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red
LPC(20:3)	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red
LPC(20:4)	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red
LPC(22:0)	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red
LPC(22:6)	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red
LPC(24:0)	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red
LPC(26:0)	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red

V závorce (x:y-z) znamená x počet uhlíků, y počet dvojných vazeb a z pořadí přechodu.

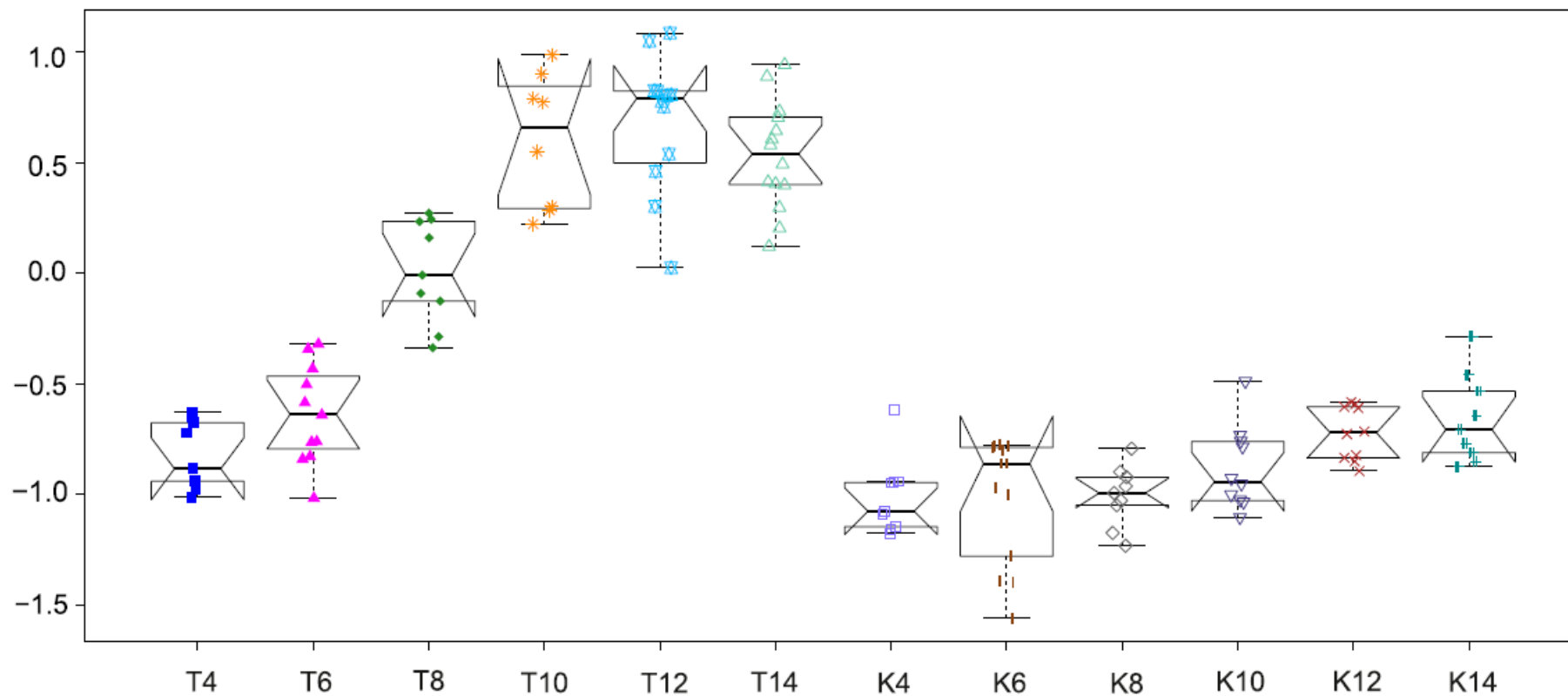
Tab. 14 Teplotní mapa porovnávající změny v množství lysofosfatidylcholinů (LPC) identifikovaných cílenou lipidomickou analýzou v mozkomíšním moku kontrolních (K) potkanů různého stáří a transgenních (T) potkanů různého stáří.

Lipid	T4 a T6	T4 a T8	T4 a T10	T4 a T12	T4 a T14	K4 a K6	K4 a K8	K4 a K10	K4 a K12	K4 a K14
LPC(15:0-1)	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue
LPC(16:0)	Light Blue	Light Blue	Light Red	Light Red	Light Red	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Red	Light Red
LPC(17:0)	Light Blue	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Blue	Light Blue	Light Red	Light Red	Light Red
LPC(18:0)	Light Blue	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Blue	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red
LPC(18:1)	Light Blue	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Blue	Light Blue	Light Red	Light Red	Light Red
LPC(18:2)	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue
LPC(18:4-1)	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue
LPC(18:4-2)	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue
LPC(20:0)	Light Blue	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Blue	Light Blue	Light Red	Light Red	Light Red
LPC(20:1)	Light Blue	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Blue	Light Blue	Light Red	Light Red	Light Red
LPC(20:3)	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue
LPC(20:4)	Light Blue	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Blue	Light Blue	Light Red	Light Red	Light Red
LPC(22:0)	Light Blue	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Blue	Light Blue	Light Red	Light Red	Light Red
LPC(22:6)	Light Blue	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Blue	Light Blue	Light Red	Light Red	Light Red
LPC(24:0)	Light Blue	Light Red	Light Red	Light Red	Light Red	Light Blue	Light Blue	Light Red	Light Red	Light Red
LPC(26:0)	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue

V závorce (x:y-z) znamená x počet uhlíků, y počet dvojných vazeb a z pořadí přechodu.



Obr. 18 Krabicové grafy lipidu LPC(22:0) (lysofosfatidylcholinu s 22 uhlíky a žádnou dvojnou vazbou) identifikovaného cílenou lipidomickou analýzou ve vzorcích mozkomíšního moku transgenních (T) a kontrolních (K) potkanů. Barevné body v grafu znázorňují rozdělení jednotlivých vzorků.



Obr. 19 Krabicové grafy lipidu LPC(24:0) (lysofosfatidylcholinu s 24 uhlíky a žádnou dvojnou vazbou) identifikovaného cílenou lipidomickou analýzou ve vzorcích mozkomíšního moku transgenních (T) a kontrolních (K) potkanů. Barevné body v grafu znázorňují rozdělení jednotlivých vzorků.

5 DISKUZE

Cílem práce bylo provedení lipidomické analýzy CSF transgenních potkanů s tauopatií a porovnání s kontrolními vzorky, za účelem nalezení potenciálních nových biomarkerů k vyhodnocení rizika rozvoje nebo sledování progresu AD. Vzhledem k tomu, že mozek obsahuje velké množství lipidů, může využití lipidomiky nabídnout nové poznatky o patogenezi AD (Wong a kol., 2017a). Dle výsledků je zřejmé, že metabolismus lipidů je zapojen do patofyziologie AD. Souvislosti mezi AD a lipidovými metabolickými cestami však nejsou zcela objasněny, tato práce by tedy mohla být nápomocná k podrobnějšímu výzkumu.

Pomocí programu MultiQuant bylo identifikováno celkem 394 lipidů z kategorií FAC, GL, GPL a SP. Touboul a Gaudin (2014) popsali určité změny v hladinách lipidů v mozku při AD u všech tříd lipidů kromě SL a PK, v této práci analyzující CSF však nebyly identifikovány ani lipidy z kategorie PR a ST.

Plochy píků identifikovaných lipidů v jednotlivých vzorcích byly porovnány mezi sebou a pomocí statistických metod analýzy hlavních komponent, diskriminační analýzy a shlukové analýzy (teplotních map) byly prokázány rozdíly mezi kontrolními a transgenními vzorky. Změny v lipidomu začaly být patrné u vzorků, jež byly odebrány potkanům starším 8 měsíců, především u PC, PC-O a LPC z kategorie GPL a SM, Cer a HexCer z kategorie SP. Relativní kvantita lipidů u vzorků potkanů T4 a T6 odpovídala spíše kontrolním vzorkům pravděpodobně z důvodu nižší progresu onemocnění.

Ačkoli FA slouží jako stavební kameny pro složitější lipidy a koncentrace kyseliny stearové i kyseliny arachidonové byla významně snížena ve frontální a temporální kůře pacientů s AD (Touboul a Gaudin, 2014), v této práci nebyly zjištěny žádné změny u lipidů této kategorie mezi vzorky kontrolních a transgenních potkanů s tauopatií.

Glycerolipidy (GL) jsou složeny z glycerolové jednotky, která je mono-, di- nebo triesterifikována MK. Triacylglyceroly (TG) jsou hlavní zásoby energie v těle, a monoglyceridy a diglyceridy jsou biosyntetické meziprodukty (Burgess a kol., 2006). Více než třetina identifikovaných lipidů v této analýze byla z podtřídy TG, což by mohlo souviset s výše uvedeným faktem. Reitz a kol. (2004) nezjistili žádný vztah mezi změnami hladin GL v plazmě a AD, což odpovídá výsledkům této práce (viz Příloha 3), kde jsou mj. porovnány hladiny GL u vzorků mozkomíšního moku transgenních a kontrolních potkanů s tauopatií.

Glycerofosfolipidy (GPL) jsou důležitou kategorií lipidů vzhledem k jejich zásadní úloze při tvorbě BM. Důležitou podtřídou z hlediska koncentrace a rozmanitosti jsou fosfatidylcholiny (PC) (Touboul a Gaudin, 2014). Pokles množství PC popsal Nitsch a kol. již v roce 1992 ve frontální, temporální a parietální kůře mozku pacientů s AD. Whiley a kol. (2014) popsali významné snížení PC(16:0/20:5), PC(18:0/22:6) a PC(16:0/22:6) ve vzorcích plazmy pacientů s AD a mírnou kognitivní poruchou ve srovnání s kontrolami. V této analýze mozkomíšního moku transgenních potkanů s tauopatií bylo naopak zjištěno podstatně zvýšené množství PC oproti kontrolním vzorkům. Pomocí OPLS-DA analýzy bylo zařazeno 14 lipidů z této podtřídy mezi 25 nejvíce diskriminujících lipidů odlišující skupiny transgenních a kontrolních vzorků (Tab. 6). Vyskytovaly se mezi nimi stejně jako ve studii Whiley a kol. (2014) lipidy s 36, 38 a 40 uhlíky, avšak s nižším množstvím dvojných vazeb. Stejnětak Proitsi a kol. (2017) v krvi pacientů s AD zjistili zvýšené množství PC(40:1) a PC(36:3). Fosfatidylcholin(40:1) byl v této analýze CSF rovněž mezi jeden z 25 nejvíce diskriminujících lipidů podtřídy PC. Změněný metabolismus fosfolipidů je pravděpodobně běžným faktorem AD (Wong a kol., 2017a).

Z celkového počtu 52 identifikovaných ethericky vázaných fosfatidylcholinů (PC-O) byly mezi 25 nejvíce diskriminujícími látkami (Tab. 11) zařazeny lipidy s 32 až 38 uhlíky a větším počtem dvojných vazeb. Pomocí OPLS-DA analýzy bylo 9 lipidů z této podtřídy zařazeno rovněž mezi 25 lipidů, které celkově nejvíce rozdělovaly skupiny T14 a K14 vzorků (viz. Tab. 6). Podle studie publikované Bennett a kol. (2013) je akumulace PC-O(16:0) spojena s progresí patologie tau, což odpovídá výsledkům této práce.

Podle Nitsch a kol. (1992) snížení PE-O(16:0/20:40) a PE-O(16:0/22:6) korelovalo se závažností AD. Han a kol. (2001) v shotgun lipidomické analýze také zaznamenali výrazný úbytek PE-O v bílé hmotě mozkové, přičemž jejich hladina zůstala stabilní i přes vývoj nemoci. V šedé hmotě úbytek PE-O koreloval s kognitivními deficity až do pokročilé fáze AD. Úbytek byl zaznamenán asi 7 let před rozvojem onemocnění, a to kromě mozkové tkáně také v plazmě, séru a CSF (Su a kol., 2019). Ethericky vázané fosfatidylethanolaminy byly identifikovány i v této práci, nicméně jejich hladiny byly u transgenních vzorků mozkomíšního moku vyšší než u kontrolních. Výraznější změna byla pozorována pouze u PE-O(36:3-4) a PE-O(36:2-2). Důvodem odlišných výsledků by mohla být souvislost změn PE-O s patologií A β , která v této analýze nebyla zkoumána. Onodera a kol. (2015) zjistili, že PE-O mohou snížit aktivitu γ -sekretázy (enzym štěpicí APP) a jejich nedostatek má tak vliv na zvýšení množství A β . Podle Su a kol. (2019) by mohly změny v množství PE-O být vhodným biomarkerem AD, nicméně tato práce odhalila mnoho dalších potenciálních biomarkerů patologie tau.

Lysofosfatidylcholin patří spolu s PC a PC-O do kategorie GPL, u kterých byly v této analýze zaznamenány největší změny. Lipidy LPC(22:0) a LPC(24:0) nejvíce diskriminovaly skupiny transgenních a kontrolních vzorků CSF. Mimo jiné byl identifikován lipid LPC(16:0), který slouží jako prekurzor faktoru aktivující destičky (PAF), což je důležitý mediátor zánětlivých procesů (Ryan a kol., 2009). Lipid LPC(16:0) je generován fosfolipázou PL A2 a její zvýšená aktivita byla zaznamenána v CSF u pacientů s AD (Touboul a Gaudin, 2014). Naopak inhibice PL A2 v mozcích T potkanů vedla ke snížení hladin celkového tau (Schaeffer a kol., 2011). V této analýze bylo zaznamenáno zvýšení hladiny LPC(16:0) ve vzorcích CSF transgenních potkanů s tauopatií v průběhu onemocnění, což podle uvedených faktů značí zvýšenou produkci PAF.

Mezi nejjednodušší SP patří ceramidy. Vykazují různé biologické aktivity, jako je buněčná signalizace, diferenciacce, proliferace, nekroza nebo apoptóza (Puglielli a kol., 2003). Ceramidy mohou být tvořeny za podmínek oxidačního stresu a jsou podtřídou SP, u kterých bývají nejvíce zvýšené koncentrace v mozkové tkáni pacientů s AD (Mielke a Lyketsos, 2010), především Cer16, Cer18, Cer20, Cer22 a Cer24 (Filippov a kol., 2012). Zvýšené hodnoty Cer byly nalezeny také v CSF a séru pacientů s AD (Satoi a kol., 2005). Rovněž v této analýze CSF transgenních potkanů byly Cer i HexCer s acylovým zbytkem 18:1 a 22:1 nebo 24:1 významně zvýšeny. Pokles byl závislý na věku, a tedy i progresi onemocnění (Tab. 8).

Navázali-li se na ceramidy fosfocholinové skupiny, vznikají sfingomyeliny, což jsou vysoce polární lipidy umístěné na vnější straně BM (Grimm a kol., 2005). Sfingomyeliny jsou nejhojnějšími SP v mozku a nacházejí se především v myelinových pochvách. Jsou důležitými složkami lipidových raftů, kde působí jako inhibitory γ -sekretázy, čímž snižují syntézu peptidů A β (Grimm a kol., 2005). Varma a kol. (2018) našli zvýšené hladiny SM s acylovými zbytky 16:0, 16:1 a 18:1 v mozkové tkáni AD pacientů pomocí nukleární magnetické rezonance. Následně metabolomickou analýzou zjistili, že vyšší koncentrace SM jsou závislé na závažnosti patologie AD, což odpovídá výsledkům této analýzy CSF transgenních potkanů s tauopatií (viz Tab. 8). Kosicek a kol. (2012) zaznamenali významný nárůst SM s acylovými zbytky 18:1, 20:0 a 24:1. Pravděpodobně i v této analýze byly signifikantní právě SM s výše uvedenými délkami řetězců acylových zbytků spolu s řetězcem dlouhým 18 C atomů, jelikož mezi 25 nejvíce diskriminujícími SM byly zastoupeny hojně SM s 36, 38 a 42 C atomy (Tab. 7). Skupiny transgenních a kontrolních potkanů nejvíce odlišovaly SM(34:1) a SM(37:0). Han a kol. (2011) popsali v metabolomické studii vzorků plazmy pacientů s AD naopak významné snížení především SM s řetězci dlouhými 22 a 24 C atomů. Další výzkum nejen ceramidů a sfingomyelinů je tedy nezbytný pro lepší pochopení metabolismu lipidů při patogenezi AD.

6 ZÁVĚR

Teoretická část práce byla zaměřena na problematiku tauopatií a Alzheimerovy choroby se zaměřením na charakterizaci fyziologické a patologické funkce tau proteinu. Dále byly shrnuty základní poznatky o lipidomice, klasifikaci lipidů a technikách analýzy lipidů. V neposlední řadě byla teoretická část práce zaměřena na teorii statistické analýzy vícerozměrných dat. V experimentální části byla provedena analýza mozkomíšního moku kontrolních potkanů SHR a transgenních potkanů SHR24. Analýza proběhla přístupem cílené lipidomické analýzy s využitím techniky vysokoúčinné kapalinové chromatografie na reverzní fázi ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií. Celkem bylo identifikováno 394 lipidů z kategorií acylů mastných kyselin, glycerolipidů, glycerofosfolipidů a sfingolipidů. Na základě diskriminační analýzy pomocí ortogonální projekce do latentních struktur byly zjištěny nejvýznamnější rozdíly mezi skupinami transgenních a kontrolních vzorků u fosfatidylcholinů, ethericky vázaných fosfatidylcholinů a sfingomyelinů, jež mohou být považovány za potenciální biomarkery tauopatického procesu v mozkomíšním moku.

POUŽITÁ LITERATURA

- Andreadis, A., 2005. Tau gene alternative splicing: expression patterns, regulation and modulation of function in normal brain and neurodegenerative diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease, The Biology and Pathobiology of Tau* 1739, 91–103. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2004.08.010>
- Alzforum, 2019 [online]. Research Models SHR24 [cit. 2020-04-17]. Dostupné z: <https://www.alzforum.org/research-models/shr24>
- Alzheimer, A., 1907. Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. 37. Versammlung Südwestdeutscher Irrenärzte in Tübingen. *Centralbl. f. Nervenheilkunde u. Psych.*, 18, 177-179
- Arendt, T., Stieler, J.T., Holzer, M., 2016. Tau and tauopathies. *Brain Research Bulletin, Cytoskeletal proteins in health and neurodegenerative disease* 126, 238–292. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2016.08.018>
- Bennett, S.A.L., Valenzuela, N., Xu, H., Franko, B., Fai, S., Figeys, D., 2013. Using neurolipidomics to identify phospholipid mediators of synaptic (dys)function in Alzheimer's Disease. *Front Physiol* 4, 168. <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00168>
- Berger, Z., Roder, H., Hanna, A., Carlson, A., Rangachari, V., Yue, M., Wszolek, Z., Ashe, K., Knight, J., Dickson, D., Andorfer, C., Rosenberry, T.L., Lewis, J., Hutton, M., Janus, C., 2007. Accumulation of pathological tau species and memory loss in a conditional model of tauopathy. *J. Neurosci.* 27, 3650–3662. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0587-07.2007>
- Bielschowsky F., Brodmann, K., 1905. Zur feineren Histologie und Histopathologie der Großhirnrinde Ebenda, 6, 173
- Brügger, B., 2014. Lipidomics: Analysis of the Lipid Composition of Cells and Subcellular Organelles by Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Annual Review of Biochemistry* 83, 79–98. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060713-035324>

- Buée, L., Bussièrè, T., Buée-Scherrer, V., Delacourte, A., Hof, P.R., 2000. Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders¹¹These authors contributed equally to this work. *Brain Research Reviews* 33, 95–130. [https://doi.org/10.1016/S0165-0173\(00\)00019-9](https://doi.org/10.1016/S0165-0173(00)00019-9)
- Burgess, B.L., Mclsaac, S.A., Naus, K.E., Chan, J.Y., Tansley, G.H.K., Yang, J., Miao, F., Ross, C.J.D., van Eck, M., Hayden, M.R., van Nostrand, W., St George-Hyslop, P., Westaway, D., Wellington, C.L., 2006. Elevated plasma triglyceride levels precede amyloid deposition in Alzheimer's disease mouse models with abundant A beta in plasma. *Neurobiol. Dis.* 24, 114–127. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2006.06.007>
- Cardenas-Aguayo, M.D.C., Gomez, L., Derosa, S., Meraz-Rios, M., 2014. The Role of Tau Oligomers in the Onset of Alzheimer's Disease Neuropathology. *ACS chemical neuroscience* 5. <https://doi.org/10.1021/cn500148z>
- Contrepolis, K., Mahmoudi, S., Ubhi, B.K., Papsdorf, K., Hornburg, D., Brunet, A., Snyder, M., 2018. Cross-Platform Comparison of Untargeted and Targeted Lipidomics Approaches on Aging Mouse Plasma. *Scientific Reports* 8, 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35807-4>
- Cooper, G.M., 2000. Microtubules. *The Cell: A Molecular Approach*. 2nd edition.
- da Silva, T.F., Sousa, V.F., Malheiro, A.R., Brites, P., 2012. The importance of ether-phospholipids: a view from the perspective of mouse models. *Biochim. Biophys. Acta* 1822, 1501–1508. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2012.05.014>
- Dart, C., 2010. Symposium Review: Lipid microdomains and the regulation of ion channel function. *The Journal of physiology* 588, 3169–78. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.191585>
- Dehmelt, L., Halpain, S., 2004. The MAP2/Tau family of microtubule-associated proteins. *Genome Biology* 6, 204. <https://doi.org/10.1186/gb-2004-6-1-204>
- Desai, A., Mitchison, T.J., 1997. Microtubule polymerization dynamics. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 13, 83–117. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.13.1.83>

- Dickson, D.W., Kouri, N., Murray, M.E., Josephs, K.A., 2011. Neuropathology of Frontotemporal Lobar Degeneration–Tau (FTLD-Tau). *J Mol Neurosci* 45, 384–389. <https://doi.org/10.1007/s12031-011-9589-0>
- Do Carmo, S., Cuello, A.C., 2013. Modeling Alzheimer’s disease in transgenic rats. *Mol Neurodegener* 8, 37. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-8-37>
- Dunn, W.B., Ellis, David.I., 2005. Metabolomics: Current analytical platforms and methodologies. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 24, 285–294. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2004.11.021>
- Fahy, E., Cotter, D., Sud, M., Subramaniam, S., 2011. Lipid classification, structures and tools. *Biochim. Biophys. Acta* 1811, 637–647. <https://doi.org/10.1016/j.bbaliip.2011.06.009>
- Fahy, E., Subramaniam, S., Brown, H.A., Glass, C.K., Merrill, A.H., Murphy, R.C., Raetz, C.R.H., Russell, D.W., Seyama, Y., Shaw, W., Shimizu, T., Spener, F., Meer, G. van, VanNieuwenhze, M.S., White, S.H., Witztum, J.L., Dennis, E.A., 2005. A comprehensive classification system for lipids. *European Journal of Lipid Science and Technology* 107, 337–364. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200405001>
- Fahy, E., Subramaniam, S., Murphy, R.C., Nishijima, M., Raetz, C.R.H., Shimizu, T., Spener, F., Meer, G. van, Wakelam, M.J.O., Dennis, E.A., 2009. Update of the LIPID MAPS comprehensive classification system for lipids. *J. Lipid Res.* 50, S9–S14. <https://doi.org/10.1194/jlr.R800095-JLR200>
- Filippov, V., Song, M.A., Zhang, K., Vinters, H.V., Tung, S., Kirsch, W.M., Yang, J., Duerksen-Hughes, P.J., 2012. Increased ceramide in brains with Alzheimer’s and other neurodegenerative diseases. *J. Alzheimers Dis.* 29, 537–547. <https://doi.org/10.3233/JAD-2011-111202>
- Fischer, O., 1907. Miliare Necrosen mit drusigen Wucherungen der Neurofibrillen, eine regelmässige Veränderung der Hirnrinde bei seniler Demenz. *Monatsschrift für Psychi. Neurol.*, 22, 361-372, <https://doi.org/10.1159/000211873>

- Fuster-Matanzo, A., Hernández, F., Ávila, J., 2018. Tau Spreading Mechanisms; Implications for Dysfunctional Tauopathies. *International journal of molecular sciences*. <https://doi.org/10.3390/ijms19030645>
- Friedecký, D., Lemr, K., 2012. Úvod do hmotnostní spektrometrie. *Klinická biochemie a metabolismus*: 20(41), 152–157
- Garcia, M.L., Cleveland, D.W., 2001. Going new places using an old MAP: tau, microtubules and human neurodegenerative disease. *Current Opinion in Cell Biology* 13, 41–48. [https://doi.org/10.1016/S0955-0674\(00\)00172-1](https://doi.org/10.1016/S0955-0674(00)00172-1)
- Ghetti, B., Oblak, A.L., Boeve, B.F., Johnson, K.A., Dickerson, B.C., Goedert, M., 2015. Invited review: Frontotemporal dementia caused by microtubule-associated protein tau gene (MAPT) mutations: a chameleon for neuropathology and neuroimaging. *Neuropathol Appl Neurobiol* 41, 24–46. <https://doi.org/10.1111/nan.12213>
- Goedert, M., Spillantini, M.G., Jakes, R., Rutherford, D., Crowther, R.A., 1989. Multiple isoforms of human microtubule-associated protein tau: sequences and localization in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *Neuron* 3, 519–526. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(89\)90210-9](https://doi.org/10.1016/0896-6273(89)90210-9)
- Grimm, M.O.W., Grimm, H.S., Pätzold, A.J., Zinser, E.G., Halonen, R., Duering, M., Tschäpe, J.A., De Strooper, B., Müller, U., Shen, J., Hartmann, T., 2005. Regulation of cholesterol and sphingomyelin metabolism by amyloid-beta and presenilin. *Nat. Cell Biol.* 7, 1118–1123. <https://doi.org/10.1038/ncb1313>
- Grundke-Iqbal, I., Iqbal, K., Tung, Y.C., Quinlan, M., Wisniewski, H.M., Binder, L.I., 1986. Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 83, 4913–4917. <https://doi.org/10.1073/pnas.83.13.4913>
- Han, X., Gross, R.W., 2005. Shotgun lipidomics: Electrospray ionization mass spectrometric analysis and quantitation of cellular lipidomes directly from crude extracts of biological samples. *Mass Spectrometry Reviews* 24, 367–412. <https://doi.org/10.1002/mas.20023>

- Han X., Holtzman D.M., McKeel D.W. Jr., 2001. Plasmalogen deficiency in early Alzheimer's disease subjects and in animal models: molecular characterization using electrospray ionization mass spectrometry. *J. Neurochem.* 77, 1168–1180. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2001.00332.x>
- Han, X., Rozen, S., Boyle, S.H., Hellegers, C., Cheng, H., Burke, J.R., Welsh-Bohmer, K.A., Doraiswamy, P.M., Kaddurah-Daouk, R., 2011. Metabolomics in early Alzheimer's disease: identification of altered plasma sphingolipidome using shotgun lipidomics. *PLoS ONE* 6, e21643. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021643>
- Hanes, J., Zilka, N., Bartkova, M., Caletkova, M., Dobrota, D., Novak, M., 2009. Rat tau proteome consists of six tau isoforms: implication for animal models of human tauopathies. *J. Neurochem.* 108, 1167–1176. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2009.05869.x>
- Ho, C., Lam, C., Chan, M., Cheung, R., Law, L., Lit, L., Ng, K., Suen, M., Tai, H., 2003. *Electrospray Ionisation Mass Spectrometry: Principles and Clinical Applications*. *Clin Biochem Rev* 24, 3–12.
- Hollywood, K., Brison, D.R., Goodacre, R., 2006. Metabolomics: Current technologies and future trends. *Proteomics* 6, 4716–4723. <https://doi.org/10.1002/pmic.200600106>
- Huda, M.N., Pan, C.-H., 2018. Tau in Tauopathies That Leads to Cognitive Disorders and in Cancer. *Cognitive Disorders*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.74025>
- Hyötyläinen, T., Orešič, M., 2015. Optimizing the lipidomics workflow for clinical studies—practical considerations. *Anal Bioanal Chem* 407, 4973–4993. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8633-2>
- Jandera, P., 2011. Stationary and mobile phases in hydrophilic interaction chromatography: a review. *Analytica Chimica Acta* 692, 1–25. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.02.047>
- Jansen, S., Melková, K., Trošanová, Z., Hanáková, K., Zachrdla, M., Nováček, J., Župa, E., Zdráhal, Z., Hritz, J., Žídek, L., 2017. Quantitative mapping of

- microtubule-associated protein 2c (MAP2c) phosphorylation and regulatory protein 14-3-3 ζ -binding sites reveals key differences between MAP2c and its homolog Tau. *J. Biol. Chem.* 292, 6715–6727. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.771097>
- Jones, E.L., Margallo-Lana, M., Prasher, V.P., Ballard, C.G., 2008. The Extended Tau Haplotype and the Age of Onset of Dementia in Down Syndrome. *DEM* 26, 199–202. <https://doi.org/10.1159/000152044>
- Josephs, K.A., 2017. Current Understanding of Neurodegenerative Diseases Associated With the Protein Tau. *Mayo Clin Proc* 92, 1291–1303. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2017.04.016>
- Kaddurah-Daouk, R., Kristal, B.S., Weinshilboum, R.M., 2008. Metabolomics: A Global Biochemical Approach to Drug Response and Disease. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 48, 653–683. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.48.113006.094715>
- Kolarova, M., García-Sierra, F., Bartos, A., Ricny, J., Ripova, D., 2012. Structure and Pathology of Tau Protein in Alzheimer Disease. *International Journal of Alzheimer's Disease* 2012, 731526. <https://doi.org/10.1155/2012/731526>
- Kosicek, M., Zetterberg, H., Andreasen, N., Peter-Katalinic, J., Hecimovic, S., 2012. Elevated cerebrospinal fluid sphingomyelin levels in prodromal Alzheimer's disease. *Neurosci. Lett.* 516, 302–305. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2012.04.019>
- Kosik, K.S., 1993. The Molecular and Cellular Biology of Tau. *Brain Pathology* 3, 39–43. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.1993.tb00724.x>
- Li, J., Hu, C., Zhao, X., Dai, W., Chen, S., Lu, X., Xu, G., 2013. Large-scaled human serum sphingolipid profiling by using reversed-phase liquid chromatography coupled with dynamic multiple reaction monitoring of mass spectrometry: Method development and application in hepatocellular carcinoma. *Journal of Chromatography A* 1320, 103–110. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.10.064>

- Liu, C.-C., Kanekiyo, T., Xu, H., Bu, G., 2013. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. *Nature Reviews Neurology*, 9(2), 106–118. doi:10.1038/nrneurol.2012.263
- Lu, W., Bennett, B.D., Rabinowitz, J.D., 2008. Analytical strategies for LC–MS-based targeted metabolomics. *Journal of Chromatography B, Hyphenated Techniques for Global Metabolite Profiling* 871, 236–242. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2008.04.031>
- Mandelkow, E.-M., Mandelkow, E., 2012. Biochemistry and Cell Biology of Tau Protein in Neurofibrillary Degeneration. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006247>
- Martin, L., Latypova, X., Terro, F., 2011. Post-translational modifications of tau protein: implications for Alzheimer's disease. *Neurochem. Int.* 58, 458–471. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2010.12.023>
- Mattson, M.P., 2004. Pathways Towards and Away from Alzheimer's Disease. *Nature* 430, 631–639. <https://doi.org/10.1038/nature02621>
- Meloun M., Militký J., 2002. Statistická analýza vícerozměrných dat. Kompendium statistického zpracování dat, pp.213-350, Academia, Praha, ČR
- Meraz-Rios, M., Lira-De León, K.I., Campos-Peña, V., De Anda, M., Mena-López, R., 2009. Tau oligomers and aggregation in Alzheimer's disease. *Journal of neurochemistry* 112, 1353–67. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2009.06511.x>
- Mielke, M.M., Lyketsos, C.G., 2010. Alterations of the sphingolipid pathway in Alzheimer's disease: new biomarkers and treatment targets? *Neuromol. Med.* 12, 331–340
- Moon, J.-Y., Jung, H.-J., Moon, M.H., Chung, B.C., Choi, M.H., 2009. Heat-map visualization of gas chromatography-mass spectrometry based quantitative signatures on steroid metabolism. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 20, 1626–1637. <https://doi.org/10.1016/j.jasms.2009.04.020>
- Neve, R.L., Harris, P., Kosik, K.S., Kurnit, D.M., Donlon, T.A., 1986. Identification of cDNA clones for the human microtubule-associated protein tau and

- chromosomal localization of the genes for tau and microtubule-associated protein 2. *Molecular Brain Research* 1, 271–280. [https://doi.org/10.1016/0169-328X\(86\)90033-1](https://doi.org/10.1016/0169-328X(86)90033-1)
- Nitsch, R.M., Blusztajn, J.K., Pittas, A.G., Slack, B.E., Growdon, J.H., Wurtman, R.J., 1992. Evidence for a membrane defect in Alzheimer disease brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 89, 1671–1675.
- Onodera, T., Futai, E., Kan, E., Abe, N., Uchida, T., Kamio, Y., Kaneko, J., 2015. Phosphatidylethanolamine plasmalogen enhances the inhibiting effect of phosphatidylethanolamine on γ -secretase activity. *J. Biochem.* 157, 301–309. <https://doi.org/10.1093/jb/mvu074>
- Özbalci, C., Sachsenheimer, T., Brügger, B., 2013. Quantitative Analysis of Cellular Lipids by Nano-Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* 1033, 3–20. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-487-6_1
- Patti, G.J., Tautenhahn, R., Rinehart, D., Cho, K., Shriver, L.P., Manchester, M., Nikolskiy, I., Johnson, C.H., Mahieu, N.G., Siuzdak, G., 2013. A view from above: cloud plots to visualize global metabolomic data. *Anal. Chem.* 85, 798–804. <https://doi.org/10.1021/ac3029745>
- Pauling, J.K., 2019. Computational Lipidomics, in: Ranganathan, S., Gribskov, M., Nakai, K., Schönbach, C. (Eds.), *Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology*. Academic Press, Oxford, pp. 894–899. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.20298-7>
- Proitsi, P., Kim, M., Whiley, L., Simmons, A., Sattlecker, M., Velayudhan, L., Lupton, M.K., Soininen, H., Kloszewska, I., Mecocci, P., Tsolaki, M., Vellas, B., Lovestone, S., Powell, J.F., Dobson, R.J.B., Legido-Quigley, C., 2017. Association of blood lipids with Alzheimer's disease: A comprehensive lipidomics analysis. *Alzheimers Dement* 13, 140–151. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.08.003>
- Puglielli, L., Ellis, B.C., Saunders, A.J., Kovacs, D.M., 2003. Ceramide stabilizes beta-site amyloid precursor protein-cleaving enzyme 1 and promotes

- amyloid beta-peptide biogenesis. *J. Biol. Chem.* 278, 19777–19783.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M300466200>
- Quincy Teng, n.d. *Structural Biology: Practical NMR Applications*. Springer, New York.
- Reitz, C., Tang, M.-X., Luchsinger, J., Mayeux, R., 2004. Relation of Plasma Lipids to Alzheimer Disease and Vascular Dementia. *Arch Neurol* 61, 705–714.
<https://doi.org/10.1001/archneur.61.5.705>
- Revesz, T., Holton, J.L., 2003. Anatomopathological spectrum of tauopathies. *Mov. Disord.* 18 Suppl 6, S13-20. <https://doi.org/10.1002/mds.10558>
- Roy, S., Zhang, B., Lee, V.M.-Y., Trojanowski, J.Q., 2005. Axonal transport defects: a common theme in neurodegenerative diseases. *Acta Neuropathol* 109, 5–13. <https://doi.org/10.1007/s00401-004-0952-x>
- Ruiz-Perez, D., Guan, H., Madhivanan, P., Mathee, K., Narasimhan, G., 2018. So you think you can PLS-DA? 2018 IEEE 8th International Conference on Computational Advances in Bio and Medical Sciences (ICCABS).
<https://doi.org/10.1109/ICCABS.2018.8542038>
- Ryan, S.D., Whitehead, S.N., Swayne, L.A., Moffat, T.C., Hou, W., Ethier, M., Bourgeois, A.J.G., Rashidian, J., Blanchard, A.P., Fraser, P.E., Park, D.S., Figeys, D., Bennett, S.A.L., 2009. Amyloid-beta42 signals tau hyperphosphorylation and compromises neuronal viability by disrupting alkylacylglycerophosphocholine metabolism. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106, 20936–20941. <https://doi.org/10.1073/pnas.0905654106>
- Satoi, H., Tomimoto, H., Ohtani, R., Kitano, T., Kondo, T., Watanabe, M., Oka, N., Akiguchi, I., Furuya, S., Hirabayashi, Y., Okazaki, T., 2005. Astroglial expression of ceramide in Alzheimer's disease brains: a role during neuronal apoptosis. *Neuroscience* 130, 657–666.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.08.056>
- Schaeffer, E.L., De-Paula, V.J., da Silva, E.R., de A Novaes, B., Skaf, H.D., Forlenza, O.V., Gattaz, W.F., 2011. Inhibition of phospholipase A2 in rat brain decreases the levels of total Tau protein. *J Neural Transm (Vienna)* 118, 1273–1279. <https://doi.org/10.1007/s00702-011-0619-4>

- Sleigh, J.N., Rossor, A.M., Fellows, A.D., Tosolini, A.P., Schiavo, G., 2019. Axonal transport and neurological disease. *Nature Reviews Neurology* 15, 691–703. <https://doi.org/10.1038/s41582-019-0257-2>
- Spillantini, M.G., Goedert, M., 1998. Tau protein pathology in neurodegenerative diseases. *Trends in Neurosciences* 21, 428–433. [https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(98\)01337-X](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(98)01337-X)
- Spillantini, M.G., Murrell, J.R., Goedert, M., Farlow, M.R., Klug, A., Ghetti, B., 1998. Mutation in the tau gene in familial multiple system tauopathy with presenile dementia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95, 7737–7741.
- Spitzer, M., Wildenhain, J., Rappsilber, J., Tyers, M., 2014. BoxPlotR: a web tool for generation of box plots. *Nat Methods* 11, 121–122. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2811>
- Su, X.Q., Wang, J., Sinclair, A.J., 2019. Plasmalogens and Alzheimer's disease: a review. *Lipids Health Dis* 18. <https://doi.org/10.1186/s12944-019-1044-1>
- Tacik, P., Sanchez-Contreras, M., Rademakers, R., Dickson, D.W., Wszolek, Z.K., 2016. Genetic disorders with tau pathology: a review of the literature and report of two patients with tauopathy and positive family histories. *Neurodegener Dis* 16, 12–21. <https://doi.org/10.1159/000440840>
- Teng, Q, 2013. *Structural Biology: Practical NMR Applications*. Second edition. New York: Springer. ISBN 978-1-4614-3963-9
- Touboul, D., Gaudin, M., 2014. Lipidomics of Alzheimer's disease. *Bioanalysis*, 6(4), 541–561. doi:10.4155/bio.13.346
- Van, Q.N., 2013. Chapter 6 - Current NMR Strategies for Biomarker Discovery, in: Issaq, H.J., Veenstra, T.D. (Eds.), *Proteomic and Metabolomic Approaches to Biomarker Discovery*. Academic Press, Boston, pp. 87–117. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394446-7.00006-6>
- Varma, V.R., Oommen, A.M., Varma, S., Casanova, R., An, Y., Andrews, R.M., O'Brien, R., Pletnikova, O., Troncoso, J.C., Toledo, J., Baillie, R., Arnold, M., Kastenmueller, G., Nho, K., Doraiswamy, P.M., Saykin, A.J., Kaddurah-Daouk, R., Legido-Quigley, C., Thambisetty, M., 2018. Brain and blood

- metabolite signatures of pathology and progression in Alzheimer disease: A targeted metabolomics study. *PLoS Med.* 15, e1002482. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002482>
- Verwilt, P., Kim, H.S., Kim, S., Kang, C., Kim, J.S., 2018. Shedding light on tau protein aggregation: the progress in developing highly selective fluorophores. *Chem. Soc. Rev.* 47, 2249–2265. <https://doi.org/10.1039/C7CS00706J>
- Vickers, J.C., Dickson, T.C., A. Adlard, P., Saunders, H.L., King, C.E., McCormack, G., 2000. The cause of neuronal degeneration in Alzheimer's disease. *Progress in Neurobiology* 60, 139–165. [https://doi.org/10.1016/S0301-0082\(99\)00023-4](https://doi.org/10.1016/S0301-0082(99)00023-4)
- Wang, Y., Mandelkow, E., 2016. Tau in physiology and pathology. *Nature Reviews Neuroscience* 17, 22–35. <https://doi.org/10.1038/nrn.2015.1>
- Watson, A. D, 2006. Thematic review series: Systems Biology Approaches to Metabolic and Cardiovascular Disorders. Lipidomics: a global approach to lipid analysis in biological systems. *Journal of Lipid Research*, 47(10), 2101–2111. doi:10.1194/jlr.r600022-jlr200
- Weingarten, M.D., Lockwood, A.H., Hwo, S.Y., Kirschner, M.W., 1975. A protein factor essential for microtubule assembly. *PNAS* 72, 1858–1862. <https://doi.org/10.1073/pnas.72.5.1858>
- Wenk, M.R., 2010. Lipidomics: New Tools and Applications. *Cell* 143, 888–895. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.11.033>
- Westerhuis, J. A., van Velzen, E. J. J., Hoefsloot, H. C. J., Smilde, A. K., 2009. Multivariate paired data analysis: multilevel PLSDA versus OPLSDA. *Metabolomics*, 6(1), 119–128. doi:10.1007/s11306-009-0185-z
- Whiley, L., Sen, A., Heaton, J., Proitsi, P., García-Gómez, D., Leung, R., Smith, N., Thambisetty, M., Kloszewska, I., Mecocci, P., Soininen, H., Tsolaki, M., Vellas, B., Lovestone, S., Legido-Quigley, C., AddNeuroMed Consortium, 2014. Evidence of altered phosphatidylcholine metabolism in Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* 35, 271–278. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.08.001>

- Williams, D.R., 2006. Tauopathies: classification and clinical update on neurodegenerative diseases associated with microtubule-associated protein tau. *Internal Medicine Journal* 36, 652–660. <https://doi.org/10.1111/j.1445-5994.2006.01153.x>
- Wojtowicz, P., Janečková, H., Friedecký, D., Adam, T., 2013. Techniky metabolomiky v biomedicině. *Chem. Listy* 107, 3-11
- Wong, M.W., Braidy, N., Poljak, A., Pickford, R., Thambisetty, M., Sachdev, P.S., 2017a. Dysregulation of lipids in Alzheimer's disease and their role as potential biomarkers. *Alzheimers Dement* 13, 810–827. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2017.01.008>
- Wong, M.W., Braidy, N., Poljak, A., Sachdev, P.S., 2017b. The application of lipidomics to biomarker research and pathomechanisms in Alzheimer's disease. *Curr Opin Psychiatry* 30, 136–144. <https://doi.org/10.1097/YCO.0000000000000303>
- World Health Organisation, 2019 [online]. Dementia [cit. 2020-04-17]. Dostupné z: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>
- Xuan, Q., Hu, C., Yu, D., Wang, L., Zhou, Y., Zhao, X., Li, Q., Hou, X., Xu, G., 2018. Development of a High Coverage Pseudotargeted Lipidomics Method Based on Ultra-High Performance Liquid Chromatography–Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry* 90, 7608–7616. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b01331>
- Yang, K., Han, X., 2016. Lipidomics: Techniques, Applications, and Outcomes Related to Biomedical Sciences. *Trends in Biochemical Sciences*, 41(11), 954–969. doi:10.1016/j.tibs.2016.08.010
- Zhao, Y.-Y., Cheng, X., Lin, R.-C., 2014. Lipidomics applications for discovering biomarkers of diseases in clinical chemistry. *Int Rev Cell Mol Biol* 313, 1–26. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800177-6.00001-3>
- Zhou, J., Yin, Y., 2016. Strategies for large-scale targeted metabolomics quantification by liquid chromatography-mass spectrometry. *Analyst* 141, 6362–6373. <https://doi.org/10.1039/c6an01753c>

Zilka, N., Filipcik, P., Koson, P., Fialova, L., Skrabana, R., Zilkova, M., Rolkova, G., Kontsekova, E., Novak, M., 2006. Truncated tau from sporadic Alzheimer's disease suffices to drive neurofibrillary degeneration in vivo. *FEBS Letters* 580, 3582–3588. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2006.05.029>

PŘÍLOHY

Příloha 1 Tabulka MRM (sledování produktu rozpadu iontů) přechodů v pozitivním módu (celkem 693). Uvedena je hodnota m/z molekulového iontu (Q1), hodnota m/z produktového iontu (Q3), retenční čas (RT), deklasterační potenciál (DP), vstupní potenciál kolizní cely (EP), kolizní energie (CE) a výstupní potenciál kolizní cely (CXP) každého lipidu.

Q1	Q3	RT	Lipid	DP (V)	EP(V)	CE (V)	CXP (V)
605,5	346,3	8,90	15:0-18:1(d7) DAG_SPLASH+NH4	60	10	26	15
829,37	570,5	12,75	15:0-18:1(d7)-15:0 TAG_SPLASH	60	10	38	15
675,68	369,4	13,14	18:1(d7) Chol Ester_SPLASH	60	10	43	15
738,663	184,2	6,98	18:1(d9) SM_SPLASH	60	10	43	15
668,6	369,4	13,17	CE(18:1)	100	10	20	6
692,6	369,4	12,84	CE(20:3)	100	10	20	6
690,6	369,4	12,46	CE(20:4)	100	10	20	6
714,6	369,4	12,16	CE(22:6)	100	10	20	6
496,5	264,3	6,49	Cer(31:1-3)_d18:1/13:0	100	10	40	6
494,5	262,2	6,04	Cer(31:2-2)_d18:2/13:0	100	10	40	6
508,5	238,3	6,29	Cer(32:2-1)_d16:0/16:2	100	10	40	6
508,5	264,3	6,29	Cer(32:2-2)_d18:1/14:1	100	10	40	6
508,5	262,2	6,29	Cer(32:2-4)_d18:2/14:0	100	10	40	6
526,5	266,3	7,61	Cer(33:0-2)_d18:0/15:0	100	10	40	6
524,5	310,3	7,40	Cer(33:1-5)_d20:1/13:0	100	10	40	6
540,5	238,3	8,09	Cer(34:0-1)_d16:0/18:0	100	10	40	6
534,5	236,2	6,54	Cer(34:3-2)_d16:1/18:2	100	10	40	6
532,5	238,3	5,93	Cer(34:4-1)_d16:0/18:4	100	10	40	6
552,5	266,3	8,25	Cer(35:1-2)_d18:0/17:1	100	10	40	6
548,5	262,2	7,04	Cer(35:3-2)_d18:2/17:1	100	10	40	6
568,6	266,3	8,95	Cer(36:0-2)_d18:0/18:0	100	10	40	6
566,6	264,3	8,70	Cer(36:1-3)_d18:1/18:0	100	10	40	6
560,5	238,3	6,84	Cer(36:4-1)_d16:0/20:4	100	10	40	6
582,6	238,3	9,20	Cer(37:0-1)_d16:0/21:0	100	10	40	6
578,6	310,3	8,35	Cer(37:2-2)_d18:1/19:1	100	10	40	6
596,6	266,3	9,70	Cer(38:0-2)_d18:0/20:0	100	10	40	6
594,6	238,3	9,45	Cer(38:1-2)_d16:0/22:1	100	10	40	6
586,5	262,2	7,34	Cer(38:5-6)_d18:2/20:3	100	10	40	6
624,6	238,3	10,41	Cer(40:0-1)_d16:0/24:0	100	10	40	6
624,6	266,3	10,41	Cer(40:0-2)_d18:0/22:0	100	10	40	6
622,6	310,3	10,16	Cer(40:1-5)_d20:1/20:0	100	10	40	6
620,6	264,3	9,55	Cer(40:2-4)_d18:1/22:1	100	10	40	6
618,6	312,3	8,95	Cer(40:3-2)_d20:0/20:3	100	10	40	6
616,6	310,3	8,45	Cer(40:4-4)_d20:1/20:3	100	10	40	6
614,6	312,3	7,95	Cer(40:5-2)_d20:0/20:5	100	10	40	6
638,6	312,3	10,81	Cer(41:0-3)_d20:0/21:0	100	10	40	6
636,6	264,3	10,56	Cer(41:1-2)_d18:1/23:0	100	10	40	6
636,6	310,3	10,56	Cer(41:1-3)_d20:1/21:0	100	10	40	6
652,7	266,3	11,21	Cer(42:0-2)_d18:0/24:0	100	10	40	6
648,6	264,3	10,26	Cer(42:2-3)_d18:1/24:1	100	10	40	6

Q1	Q3	RT	Lipid	DP (V)	EP(V)	CE (V)	CXP (V)
648,6	310,3	10,26	Cer(42:2-5)_d20:1/22:1	100	10	40	6
642,6	310,3	8,75	Cer(42:5-2)_d20:1/22:4	100	10	40	6
640,6	312,3	8,35	Cer(42:6-1)_d20:0/22:6	100	10	40	6
680,7	312,3	11,97	Cer(44:0-2)_d20:0/24:0	100	10	40	6
676,7	310,3	11,06	Cer(44:2-1)_d20:1/24:1	100	10	40	6
694,7	312,3	12,22	Cer(45:0)_d20:0/25:0	100	10	40	6
708,7	312,3	12,47	Cer(46:0)_d20:0/26:0	100	10	40	6
706,7	310,3	12,02	Cer(46:1-1)_d20:1/26:0	100	10	40	6
558,5	285,2	8,32	DG(30:0-5)_DG(14:0/16:0)	100	10	30	6
556,5	297,2	7,70	DG(30:1-3)_DG(15:1/15:0)	100	10	30	6
572,5	299,3	8,72	DG(31:0-6)_DG(15:0/16:0)	100	10	30	6
570,5	257,2	8,11	DG(31:1-2)_DG(12:0/19:1)	100	10	30	6
570,5	283,2	8,11	DG(31:1-5)_DG(14:1/17:0)	100	10	30	6
570,5	299,3	8,11	DG(31:1-6)_DG(15:0/16:1)	100	10	30	6
586,5	243,2	9,13	DG(32:0-2)_DG(11:0/21:0)	100	10	30	6
586,5	257,2	9,13	DG(32:0-3)_DG(12:0/20:0)	100	10	30	6
586,5	313,3	9,13	DG(32:0-7)_DG(16:0/16:0)	100	10	30	6
584,5	271,2	8,46	DG(32:1-3)_DG(13:0/19:1)	100	10	30	6
584,5	313,3	8,46	DG(32:1-8)_DG(16:0/16:1)	100	10	30	6
582,5	285,2	7,80	DG(32:2-3)_DG(14:0/18:2)	100	10	30	6
582,5	311,3	7,80	DG(32:2-7)_DG(16:1/16:1)	100	10	30	6
580,5	311,3	7,19	DG(32:3-6)_DG(16:1/16:2)	100	10	30	6
576,5	283,2	6,01	DG(32:5-3)_DG(14:1/18:4)	100	10	30	6
600,6	229,2	9,49	DG(33:0-1)_DG(10:0/23:0)	100	10	30	6
600,6	313,3	9,49	DG(33:0-7)_DG(16:0/17:0)	100	10	30	6
598,5	311,3	8,87	DG(33:1-8)_DG(16:1/17:0)	100	10	30	6
594,5	311,3	7,65	DG(33:3-4)_DG(16:1/17:2)	100	10	30	6
614,6	243,2	9,84	DG(34:0-2)_DG(11:0/23:0)	100	10	30	6
614,6	313,3	9,84	DG(34:0-7)_DG(16:0/18:0)	100	10	30	6
612,6	297,2	9,23	DG(34:1-6)_DG(15:1/19:0)	100	10	30	6
612,6	311,3	9,23	DG(34:1-8)_DG(16:1/18:0)	100	10	30	6
610,5	297,2	8,62	DG(34:2-4)_DG(15:1/19:1)	100	10	30	6
608,5	283,2	8,11	DG(34:3-2)_DG(14:1/20:2)	100	10	30	6
608,5	311,3	8,00	DG(34:3-3)_DG(16:1/18:2)	100	10	30	6
608,5	285,2	8,11	DG(34:3-6)_DG(14:0/20:3)	100	10	30	6
606,5	283,2	7,59	DG(34:4-3)_DG(14:1/20:3)	100	10	30	6
606,5	337,3	7,59	DG(34:4-7)_DG(18:2/16:2)	100	10	30	6
626,6	311,3	9,59	DG(35:1-7)_DG(16:1/19:0)	100	10	30	6
624,6	297,2	8,92	DG(35:2-3)_DG(15:1/20:1)	100	10	30	6
620,5	325,3	7,75	DG(35:4-5)_DG(17:1/18:3)	100	10	30	6
642,6	243,2	10,51	DG(36:0-2)_DG(11:0/25:0)	100	10	30	6
642,6	341,3	10,51	DG(36:0-9)_DG(18:0/18:0)	100	10	30	6
638,6	339,3	9,43	DG(36:2-8)_DG(18:1/18:1)	100	10	30	6
636,6	339,3	8,87	DG(36:3-6)_DG(18:1/18:2)	100	10	30	6
656,6	313,3	10,87	DG(37:0-6)_DG(16:0/21:0)	100	10	30	6

Q1	Q3	RT	Lipid	DP (V)	EP(V)	CE (V)	CXP (V)
652,6	325,3	9,84	DG(37:2-4)_DG(17:1/20:1)	100	10	30	6
652,6	383,4	9,84	DG(37:2-8)_DG(21:0/16:2)	100	10	30	6
670,6	341,3	11,17	DG(38:0-7)_DG(18:0/20:0)	100	10	30	6
668,6	339,3	10,66	DG(38:1-8)_DG(18:1/20:0)	100	10	30	6
662,6	313,3	9,13	DG(38:4-1)_DG(16:0/22:4)	100	10	30	6
662,6	341,3	9,13	DG(38:4-2)_DG(18:0/20:4)	100	10	30	6
658,5	339,3	8,05	DG(38:6-3)_DG(18:1/20:5)	100	10	30	6
658,5	333,2	8,05	DG(38:6-6)_DG(18:4/20:2)	100	10	30	6
658,5	389,3	8,05	DG(38:6-7)_DG(22:4/16:2)	100	10	30	6
654,5	385,3	6,88	DG(38:8-3)_DG(22:6/16:2)	100	10	30	6
682,6	451,4	10,97	DG(39:1-10)_DG(26:1/13:0)	100	10	30	6
678,6	323,3	9,84	DG(39:3-2)_DG(17:2/22:1)	100	10	30	6
678,6	353,3	9,84	DG(39:3-4)_DG(19:1/20:2)	100	10	30	6
678,6	391,3	9,84	DG(39:3-6)_DG(22:3/17:0)	100	10	30	6
676,6	353,3	9,33	DG(39:4-5)_DG(19:1/20:3)	100	10	30	6
672,6	323,3	8,21	DG(39:6-3)_DG(17:2/22:4)	100	10	30	6
694,6	339,3	10,76	DG(40:2-4)_DG(18:1/22:1)	100	10	30	6
694,6	369,3	10,76	DG(40:2-7)_DG(20:0/20:2)	100	10	30	6
690,6	341,3	9,64	DG(40:4-1)_DG(18:0/22:4)	100	10	30	6
688,6	341,3	9,13	DG(40:5-1)_DG(18:0/22:5)	100	10	30	6
688,6	339,3	9,13	DG(40:5-2)_DG(18:1/22:4)	100	10	30	6
686,6	341,3	8,62	DG(40:6-1)_DG(18:0/22:6)	100	10	30	6
684,6	363,3	8,16	DG(40:7-5)_DG(20:3/20:4)	100	10	30	6
682,5	337,3	7,59	DG(40:8-1)_DG(18:2/22:6)	100	10	30	6
682,5	335,3	7,59	DG(40:8-2)_DG(18:3/22:5)	100	10	30	6
680,5	333,2	7,08	DG(40:9-2)_DG(18:4/22:5)	100	10	30	6
712,7	355,3	12,30	DG(41:0-5)_DG(19:0/22:0)	100	10	30	6
708,7	439,4	11,17	DG(41:2-8)_DG(25:0/16:2)	100	10	30	6
704,6	355,3	10,00	DG(41:4-2)_DG(19:0/22:4)	100	10	30	6
702,6	355,3	9,43	DG(41:5-1)_DG(19:0/22:5)	100	10	30	6
726,7	341,3	12,71	DG(42:0-3)_DG(18:0/24:0)	100	10	30	6
726,7	369,3	12,71	DG(42:0-5)_DG(20:0/22:0)	100	10	30	6
706,5	359,3	7,39	DG(42:10-2)_DG(20:5/22:5)	100	10	30	6
722,7	367,3	11,58	DG(42:2-5)_DG(20:1/22:1)	100	10	30	6
716,6	397,4	10,05	DG(42:5-6)_DG(22:0/20:5)	100	10	30	6
714,6	359,3	9,54	DG(42:6-5)_DG(20:5/22:1)	100	10	30	6
736,7	323,3	11,94	DG(43:2-1)_DG(17:2/26:0)	100	10	30	6
734,6	389,3	8,21	DG(44:10-1)_DG(22:4/22:6)	100	10	30	6
734,6	387,3	8,21	DG(44:10-2)_DG(22:5/22:5)	100	10	30	6
752,7	367,3	12,86	DG(44:1-4)_DG(20:1/24:0)	100	10	30	6
748,7	393,3	11,79	DG(44:3-4)_DG(22:2/22:1)	100	10	30	6
748,7	397,4	11,79	DG(44:3-6)_DG(22:0/22:3)	100	10	30	6
742,6	423,4	10,20	DG(44:6-1)_DG(24:1/20:5)	100	10	30	6
742,6	397,4	10,20	DG(44:6-2)_DG(22:0/22:6)	100	10	30	6
768,7	383,4	13,78	DG(45:0-3)_DG(21:0/24:0)	100	10	30	6

Q1	Q3	RT	Lipid	DP (V)	EP(V)	CE (V)	CXP (V)
766,7	451,4	13,22	DG(45:1-5)_DG(26:1/19:0)	100	10	30	6
758,7	439,4	11,07	DG(45:5-2)_DG(25:0/20:5)	100	10	30	6
782,8	369,3	14,14	DG(46:0-1)_DG(20:0/26:0)	100	10	30	6
770,7	451,4	10,81	DG(46:6-3)_DG(26:1/20:5)	100	10	30	6
786,7	439,4	11,84	DG(47:5)_DG(25:0/22:5)	100	10	30	6
972,7	310,3	9,45	Hex2Cer(42:2-3)_d20:1/22:1	100	10	45	6
644,5	236,2	5,63	HexCer(30:1-2)_d16:1/14:0	100	10	45	6
686,6	264,3	6,85	HexCer(33:1-5)_d18:1/15:0	100	10	45	6
782,7	264,3	9,09	HexCer(40:2-4)_d18:1/22:1	100	10	45	6
812,7	264,3	10,41	HexCer(42:1-3)_d18:1/24:0	100	10	45	6
810,7	264,3	9,90	HexCer(42:2-2)_d18:1/24:1	100	10	45	6
808,7	262,2	9,42	HexCer(42:3-3)_d18:2/24:1	100	10	45	6
412,2	184,1	0,58	LPC(10:0)	110	10	40	6
454,3	184,1	1,14	LPC(13:0)	110	10	40	6
482,3	184,1	1,42	LPC(15:0-1)	110	10	40	6
482,3	184,1	2,04	LPC(15:0-2)	110	10	40	6
496,3	184,1	1,60	LPC(16:0)	110	10	40	6
510,4	184,1	1,74	LPC(17:0)	110	10	40	6
508,3	184,1	1,52	LPC(17:1)	110	10	40	6
524,4	184,1	1,98	LPC(18:0)	110	10	40	6
522,4	184,1	1,71	LPC(18:1)	110	10	40	6
529,4	184,1	1,66	LPC(18:1)(d7)_SPLASH	110	10	40	6
520,3	184,1	1,46	LPC(18:2)	110	10	40	6
516,3	184,1	1,23	LPC(18:4-1)	110	10	40	6
516,3	184,1	1,43	LPC(18:4-2)	110	10	40	6
552,4	184,1	2,56	LPC(20:0)	110	10	40	6
550,4	184,1	2,13	LPC(20:1)	110	10	40	6
546,4	184,1	1,56	LPC(20:3)	110	10	40	6
544,3	184,1	1,38	LPC(20:4)	110	10	40	6
580,4	184,1	3,41	LPC(22:0)	110	10	40	6
568,3	184,1	1,37	LPC(22:6)	110	10	40	6
608,5	184,1	4,36	LPC(24:0)	110	10	40	6
622,5	184,1	4,73	LPC(25:0)	110	10	40	6
636,5	184,1	5,30	LPC(26:0)	110	10	40	6
634,5	184,1	4,35	LPC(26:1)	110	10	40	6
482,4	184,1	1,70	LPC-O(16:0)	100	10	40	6
510,4	184,1	2,21	LPC-O(18:0)	100	10	40	6
412,2	271,2	1,13	LPE(13:0)	100	10	25	6
426,3	285,2	1,31	LPE(14:0)	100	10	25	6
440,3	299,3	1,44	LPE(15:0)	100	10	25	6
452,3	311,3	1,35	LPE(16:1)	100	10	25	6
450,3	309,2	1,22	LPE(16:2)	100	10	25	6
482,3	341,3	1,99	LPE(18:0)	100	10	25	6
487,3	346,3	1,67	LPE(18:1)(d7)_SPLASH	100	10	25	6
474,3	333,2	1,13	LPE(18:4)	100	10	25	6

Q1	Q3	RT	Lipid	DP (V)	EP(V)	CE (V)	CXP (V)
526,3	385,3	1,35	LPE(22:6)	100	10	25	6
490,3	349,3	2,31	LPE-O(18:0)	100	10	30	6
488,3	347,3	2,23	LPE-O(18:1)	100	10	30	6
486,3	345,3	1,88	LPE-O(18:2)	100	10	30	6
753,6	184,1	7,39	PC(15:0-18:1)(d7)_SPLASH	100	10	40	6
580,4	184,1	3,05	PC(21:0)	100	10	40	6
594,4	184,1	3,44	PC(22:0)	100	10	40	6
608,4	184,1	3,82	PC(23:0)	100	10	40	6
678,5	184,1	5,81	PC(28:0)	100	10	40	6
676,5	184,1	5,32	PC(28:1)	100	10	40	6
692,5	184,1	6,32	PC(29:0)	100	10	40	6
690,5	184,1	5,83	PC(29:1)	100	10	40	6
706,5	184,1	6,78	PC(30:0)	100	10	40	6
704,5	184,1	6,22	PC(30:1)	100	10	40	6
702,5	184,1	5,71	PC(30:2)	100	10	40	6
720,6	184,1	7,09	PC(31:0)	100	10	40	6
718,5	184,1	6,53	PC(31:1)	100	10	40	6
716,5	184,1	6,02	PC(31:2)	100	10	40	6
734,6	184,1	7,55	PC(32:0)	100	10	40	6
732,6	184,1	6,93	PC(32:1)	100	10	40	6
730,5	184,1	6,34	PC(32:2)	100	10	40	6
728,5	184,1	5,78	PC(32:3)	100	10	40	6
748,6	184,1	8,02	PC(33:0-1)	100	10	40	6
746,6	184,1	7,41	PC(33:1)	100	10	40	6
744,6	184,1	6,80	PC(33:2)	100	10	40	6
742,5	184,1	6,19	PC(33:3)	100	10	40	6
740,5	184,1	5,66	PC(33:4)	100	10	40	6
738,5	184,1	5,10	PC(33:5)	100	10	40	6
736,5	184,1	4,59	PC(33:6)	100	10	40	6
762,6	184,1	8,36	PC(34:0)	100	10	40	6
760,6	184,1	7,77	PC(34:1)	100	10	40	6
758,6	184,1	7,16	PC(34:2)	100	10	40	6
756,6	184,1	6,37	PC(34:3-1)	100	10	40	6
756,6	184,1	6,73	PC(34:3-2)	100	10	40	6
754,5	184,1	5,86	PC(34:4)	100	10	40	6
776,6	184,1	8,82	PC(35:0-1)	100	10	40	6
774,6	184,1	8,28	PC(35:1)	100	10	40	6
772,6	184,1	7,66	PC(35:2)	100	10	40	6
770,6	184,1	6,95	PC(35:3)	100	10	40	6
768,6	184,1	6,47	PC(35:4)	100	10	40	6
766,5	184,1	5,98	PC(35:5-1)	100	10	40	6
790,6	184,1	9,18	PC(36:0)	100	10	40	6
788,6	184,1	8,64	PC(36:1-1)	100	10	40	6
786,6	184,1	7,82	PC(36:2-1)	100	10	40	6
786,6	184,1	8,00	PC(36:2-2)	100	10	40	6

Q1	Q3	RT	Lipid	DP (V)	EP(V)	CE (V)	CXP (V)
784,6	184,1	7,46	PC(36:3-1)	100	10	40	6
782,6	184,1	7,06	PC(36:4-1)	100	10	40	6
782,6	184,1	6,60	PC(36:4-2)	100	10	40	6
780,6	184,1	6,49	PC(36:5)	100	10	40	6
778,5	184,1	5,91	PC(36:6)	100	10	40	6
802,6	184,1	8,93	PC(37:1-1)	100	10	40	6
800,6	184,1	8,44	PC(37:2-1)	100	10	40	6
796,6	184,1	7,39	PC(37:4)	100	10	40	6
794,6	184,1	6,90	PC(37:5)	100	10	40	6
818,7	184,1	10,01	PC(38:0)	100	10	40	6
816,6	184,1	9,30	PC(38:1-1)	100	10	40	6
814,6	184,1	8,67	PC(38:2-1)	100	10	40	6
810,6	184,1	7,65	PC(38:4-1)	100	10	40	6
810,6	184,1	8,02	PC(38:4-2)	100	10	40	6
808,6	184,1	7,41	PC(38:5-1)	100	10	40	6
806,6	184,1	6,55	PC(38:6-1)	100	10	40	6
806,6	184,1	6,85	PC(38:6-2)	100	10	40	6
804,6	184,1	5,90	PC(38:7-1)	100	10	40	6
802,5	184,1	5,42	PC(38:8)	100	10	40	6
832,7	184,1	10,35	PC(39:0)	100	10	40	6
826,6	184,1	8,62	PC(39:3)	100	10	40	6
824,6	184,1	8,43	PC(39:4-1)	100	10	40	6
822,6	184,1	7,49	PC(39:5-1)	100	10	40	6
820,6	184,1	7,29	PC(39:6)	100	10	40	6
818,6	184,1	6,78	PC(39:7)	100	10	40	6
844,7	184,1	10,20	PC(40:1-1)	100	10	40	6
842,7	184,1	9,53	PC(40:2-1)	100	10	40	6
840,6	184,1	9,04	PC(40:3)	100	10	40	6
838,6	184,1	8,82	PC(40:4-1)	100	10	40	6
838,6	184,1	8,47	PC(40:4-2)	100	10	40	6
836,6	184,1	7,95	PC(40:5-1)	100	10	40	6
836,6	184,1	8,28	PC(40:5-3)	100	10	40	6
834,6	184,1	7,71	PC(40:6-1)	100	10	40	6
834,6	184,1	7,33	PC(40:6-2)	100	10	40	6
832,6	184,1	7,05	PC(40:7)	100	10	40	6
830,6	184,1	6,29	PC(40:8-1)	100	10	40	6
858,7	184,1	10,50	PC(41:1)	100	10	40	6
846,6	184,1	7,39	PC(41:7)	100	10	40	6
872,7	184,1	10,83	PC(42:1)	100	10	40	6
854,6	184,1	6,09	PC(42:10)	100	10	40	6
870,7	184,1	10,37	PC(42:2-1)	100	10	40	6
866,7	184,1	9,13	PC(42:4)	100	10	40	6
864,6	184,1	8,84	PC(42:5-1)	100	10	40	6
864,6	184,1	8,41	PC(42:5-2)	100	10	40	6
862,6	184,1	8,13	PC(42:6)	100	10	40	6

Q1	Q3	RT	Lipid	DP (V)	EP(V)	CE (V)	CXP (V)
860,6	184,1	7,80	PC(42:7)	100	10	40	6
858,6	184,1	7,11	PC(42:8)	100	10	40	6
880,7	184,1	9,43	PC(43:4)	100	10	40	6
900,7	184,1	11,49	PC(44:1)	100	10	40	6
882,6	184,1	6,80	PC(44:10)	100	10	40	6
878,6	184,1	5,93	PC(44:12)	100	10	40	6
898,7	184,1	10,88	PC(44:2)	100	10	40	6
894,7	184,1	9,66	PC(44:4)	100	10	40	6
892,7	184,1	9,15	PC(44:5)	100	10	40	6
888,6	184,1	8,11	PC(44:7)	100	10	40	6
886,6	184,1	7,67	PC(44:8)	100	10	40	6
636,5	184,1	5,65	PC-O(26:0)	100	10	40	6
692,6	184,1	7,29	PC-O(30:0)	100	10	40	6
690,5	184,1	6,85	PC-O(30:1-1)	100	10	40	6
688,5	184,1	6,70	PC-O(30:2)	100	10	40	6
704,6	184,1	7,34	PC-O(31:1-1)	100	10	40	6
700,5	184,1	6,65	PC-O(31:3)	100	10	40	6
720,6	184,1	8,14	PC-O(32:0)	100	10	40	6
718,6	184,1	7,54	PC-O(32:1-1)	100	10	40	6
718,6	184,1	8,09	PC-O(32:1-2)	100	10	40	6
716,6	184,1	7,54	PC-O(32:2)	100	10	40	6
714,5	184,1	7,04	PC-O(32:3)	100	10	40	6
732,6	184,1	7,89	PC-O(33:1-1)	100	10	40	6
732,6	184,1	8,34	PC-O(33:1-2)	100	10	40	6
730,6	184,1	7,24	PC-O(33:2-1)	100	10	40	6
726,5	184,1	6,55	PC-O(33:4)	100	10	40	6
748,6	184,1	8,99	PC-O(34:0)	100	10	40	6
746,6	184,1	8,39	PC-O(34:1-1)	100	10	40	6
746,6	184,1	8,89	PC-O(34:1-2)	100	10	40	6
744,6	184,1	7,64	PC-O(34:2-1)	100	10	40	6
744,6	184,1	8,24	PC-O(34:2-2)	100	10	40	6
742,6	184,1	7,34	PC-O(34:3-1)	100	10	40	6
742,6	184,1	7,79	PC-O(34:3-2)	100	10	40	6
740,6	184,1	6,85	PC-O(34:4-1)	100	10	40	6
740,6	184,1	7,29	PC-O(34:4-2)	100	10	40	6
738,5	184,1	6,30	PC-O(34:5-1)	100	10	40	6
738,5	184,1	6,75	PC-O(34:5-2)	100	10	40	6
762,6	184,1	9,33	PC-O(35:0)	100	10	40	6
760,6	184,1	8,74	PC-O(35:1-1)	100	10	40	6
758,6	184,1	8,29	PC-O(35:2-1)	100	10	40	6
756,6	184,1	7,89	PC-O(35:3)	100	10	40	6
754,6	184,1	7,44	PC-O(35:4)	100	10	40	6
752,6	184,1	6,95	PC-O(35:5)	100	10	40	6
776,7	184,1	9,63	PC-O(36:0)	100	10	40	6
774,6	184,1	9,09	PC-O(36:1-1)	100	10	40	6

Q1	Q3	RT	Lipid	DP (V)	EP(V)	CE (V)	CXP (V)
774,6	184,1	9,48	PC-O(36:1-2)	100	10	40	6
772,6	184,1	8,54	PC-O(36:2-1)	100	10	40	6
772,6	184,1	8,99	PC-O(36:2-2)	100	10	40	6
770,6	184,1	7,99	PC-O(36:3-1)	100	10	40	6
770,6	184,1	8,44	PC-O(36:3-2)	100	10	40	6
768,6	184,1	7,54	PC-O(36:4-1)	100	10	40	6
768,6	184,1	7,99	PC-O(36:4-2)	100	10	40	6
766,6	184,1	7,09	PC-O(36:5-1)	100	10	40	6
766,6	184,1	7,54	PC-O(36:5-2)	100	10	40	6
764,6	184,1	6,55	PC-O(36:6-1)	100	10	40	6
764,6	184,1	6,99	PC-O(36:6-2)	100	10	40	6
762,5	184,1	6,55	PC-O(36:7)	100	10	40	6
788,7	184,1	9,58	PC-O(37:1-1)	100	10	40	6
786,6	184,1	9,14	PC-O(37:2-1)	100	10	40	6
784,6	184,1	8,64	PC-O(37:3)	100	10	40	6
782,6	184,1	8,14	PC-O(37:4)	100	10	40	6
802,7	184,1	9,88	PC-O(38:1-1)	100	10	40	6
800,7	184,1	9,33	PC-O(38:2-1)	100	10	40	6
798,6	184,1	8,74	PC-O(38:3-1)	100	10	40	6
798,6	184,1	9,24	PC-O(38:3-2)	100	10	40	6
796,6	184,1	8,14	PC-O(38:4-1)	100	10	40	6
796,6	184,1	8,64	PC-O(38:4-2)	100	10	40	6
794,6	184,1	7,74	PC-O(38:5-1)	100	10	40	6
794,6	184,1	8,19	PC-O(38:5-2)	100	10	40	6
792,6	184,1	7,29	PC-O(38:6-1)	100	10	40	6
792,6	184,1	7,64	PC-O(38:6-2)	100	10	40	6
790,6	184,1	7,14	PC-O(38:7)	100	10	40	6
788,6	184,1	6,65	PC-O(38:8)	100	10	40	6
830,7	184,1	10,63	PC-O(40:1-1)	100	10	40	6
826,7	184,1	10,03	PC-O(40:3-2)	100	10	40	6
824,7	184,1	9,19	PC-O(40:4-1)	100	10	40	6
820,6	184,1	8,19	PC-O(40:6-1)	100	10	40	6
818,6	184,1	8,14	PC-O(40:7)	100	10	40	6
856,7	184,1	10,98	PC-O(42:2-2)	100	10	40	6
846,6	184,1	8,84	PC-O(42:7-2)	100	10	40	6
902,8	184,1	12,92	PC-O(45:0)	100	10	40	6
711,5	570,5	7,57	PE(15:0-18:1)(d7)_SPLASH	100	10	30	6
692,5	551,5	7,83	PE(32:0)	100	10	30	6
718,5	577,5	7,98	PE(34:1)	100	10	30	6
716,5	575,5	7,33	PE(34:2)	100	10	30	6
714,5	573,5	6,87	PE(34:3-1)	100	10	30	6
714,5	573,5	6,62	PE(34:3-2)	100	10	30	6
712,5	571,5	6,17	PE(34:4)	100	10	30	6
722,5	581,5	5,71	PE(35:6)	100	10	30	6
746,6	605,6	8,74	PE(36:1-1)	100	10	30	6

Q1	Q3	RT	Lipid	DP (V)	EP(V)	CE (V)	CXP (V)
744,6	603,5	8,03	PE(36:2-1)	100	10	30	6
740,5	599,5	7,28	PE(36:4)	100	10	30	6
738,5	597,5	6,57	PE(36:5-1)	100	10	30	6
754,5	613,5	7,78	PE(37:4)	100	10	30	6
776,6	635,6	10,25	PE(38:0)	100	10	30	6
772,6	631,6	8,87	PE(38:2)	100	10	30	6
768,6	627,5	7,75	PE(38:4-1)	100	10	30	6
768,6	627,5	8,18	PE(38:4-3)	100	10	30	6
766,5	625,5	7,38	PE(38:5-1)	100	10	30	6
764,5	623,5	7,00	PE(38:6)	100	10	30	6
758,5	617,5	5,21	PE(38:9)	100	10	30	6
788,6	647,6	10,10	PE(39:1)	100	10	30	6
778,5	637,5	7,48	PE(39:6)	100	10	30	6
776,5	635,5	6,87	PE(39:7)	100	10	30	6
792,6	651,5	7,63	PE(40:6-1)	100	10	30	6
790,5	649,5	7,22	PE(40:7)	100	10	30	6
818,7	677,6	11,46	PE(41:0)	100	10	30	6
810,5	669,5	5,76	PE(42:11)	100	10	30	6
814,5	673,5	6,72	PE(42:9)	100	10	30	6
846,7	705,7	12,26	PE(43:0)	100	10	30	6
880,7	739,7	10,85	PE(46:4)	100	10	30	6
914,8	773,7	13,47	PE(48:1)	100	10	30	6
616,4	388,0	5,69	PE-O(28:3)_18:2p/10:0	100	10	30	6
650,5	509,5	7,56	PE-O(30:0)	100	10	30	6
648,5	420,0	7,47	PE-O(30:1-3)_20:0p/10:0	100	10	30	6
662,5	420,0	7,87	PE-O(31:1-3)_20:0p/11:0	100	10	30	6
660,5	390,0	7,35	PE-O(31:2-2)_18:1p/13:0	100	10	30	6
676,5	535,5	7,88	PE-O(32:1)	100	10	30	6
674,5	418,0	7,69	PE-O(32:2-4)_20:1p/12:0	100	10	30	6
686,5	388,0	7,09	PE-O(33:3-3)_18:2p/15:0	100	10	30	6
704,6	563,5	8,58	PE-O(34:1)	100	10	30	6
702,5	561,51	8,04	PE-O(34:2)	100	10	30	6
702,5	364,0	8,47	PE-O(34:2-1)_16:0p/18:1	100	10	30	6
702,5	418,0	8,42	PE-O(34:2-5)_20:1p/14:0	100	10	30	6
700,5	364,0	7,84	PE-O(34:3-1)_16:0p/18:2	100	10	30	6
716,6	575,5	8,42	PE-O(35:2)	100	10	30	6
732,6	591,6	9,36	PE-O(36:1)	100	10	30	6
730,6	589,6	8,81	PE-O(36:2)	100	10	30	6
730,6	392,0	9,38	PE-O(36:2-2)_18:0p/18:1	100	10	30	6
728,6	587,5	8,15	PE-O(36:3)	100	10	30	6
728,6	390,0	8,58	PE-O(36:3-4)_18:1p/18:1	100	10	30	6
726,5	585,5	7,93	PE-O(36:4)	100	10	30	6
726,5	388,0	7,99	PE-O(36:4-5)_18:2p/18:1	100	10	30	6
724,5	364,0	7,79	PE-O(36:5-1)_16:0p/20:4	100	10	30	6
722,5	388,0	7,19	PE-O(36:6-3)_18:2p/18:3	100	10	30	6

Q1	Q3	RT	Lipid	DP (V)	EP(V)	CE (V)	CXP (V)
746,6	605,6	9,65	PE-O(37:1)	100	10	30	6
758,6	418,0	10,08	PE-O(38:2-5)_20:1p/18:0	100	10	30	6
754,6	613,6	8,46	PE-O(38:4)	100	10	30	6
752,6	611,5	8,04	PE-O(38:5)	100	10	30	6
752,6	364,0	8,48	PE-O(38:5-1)_16:0p/22:4	100	10	30	6
752,6	392,0	8,68	PE-O(38:5-2)_18:0p/20:4	100	10	30	6
750,5	609,5	7,39	PE-O(38:6)	100	10	30	6
750,5	364,0	7,79	PE-O(38:6-1)_16:0p/22:5	100	10	30	6
782,6	641,6	9,23	PE-O(40:4)	100	10	30	6
780,6	639,6	8,68	PE-O(40:5)	100	10	30	6
780,6	392,0	9,18	PE-O(40:5-1)_18:0p/22:4	100	10	30	6
780,6	418,0	9,03	PE-O(40:5-7)_20:1p/18:3	100	10	30	6
778,6	637,6	8,09	PE-O(40:6)	100	10	30	6
778,6	390,0	8,48	PE-O(40:6-6)_18:1p/22:4	100	10	30	6
778,6	418,0	8,63	PE-O(40:6-7)_20:1p/20:4	100	10	30	6
776,6	392,0	8,43	PE-O(40:7-2)_18:0p/22:6	100	10	30	6
774,5	390,0	7,69	PE-O(40:8-1)_18:1p/22:6	100	10	30	6
802,7	420,0	11,48	PE-O(41:1-3)_20:0p/21:0	100	10	30	6
842,7	418,0	11,98	PE-O(44:2-4)_20:1p/24:0	100	10	30	6
689,6	184,1	6,28	SM(33:1)	110	10	40	6
705,6	184,1	7,15	SM(34:0)	110	10	40	6
703,6	184,1	6,74	SM(34:1)	110	10	40	6
701,6	184,1	5,92	SM(34:2)	110	10	40	6
697,5	184,1	4,89	SM(34:4)	110	10	40	6
719,6	184,1	7,56	SM(35:0)	110	10	40	6
717,6	184,1	7,05	SM(35:1)	110	10	40	6
715,6	184,1	6,38	SM(35:2)	110	10	40	6
711,5	184,1	5,46	SM(35:4)	110	10	40	6
733,6	184,1	7,97	SM(36:0)	110	10	40	6
731,6	184,1	7,71	SM(36:1)	110	10	40	6
729,6	184,1	6,89	SM(36:2)	110	10	40	6
747,6	184,1	8,58	SM(37:0)	110	10	40	6
745,6	184,1	8,12	SM(37:1)	110	10	40	6
743,6	184,1	7,46	SM(37:2)	110	10	40	6
741,6	184,1	6,89	SM(37:3)	110	10	40	6
759,6	184,1	8,58	SM(38:1)	110	10	40	6
757,6	184,1	7,92	SM(38:2)	110	10	40	6
755,6	184,1	7,05	SM(38:3)	110	10	40	6
753,6	184,1	6,48	SM(38:4)	110	10	40	6
751,6	184,1	5,94	SM(38:5)	110	10	40	6
775,7	184,1	9,40	SM(39:0)	110	10	40	6
773,7	184,1	9,04	SM(39:1)	110	10	40	6
771,6	184,1	8,38	SM(39:2)	110	10	40	6
787,7	184,1	9,35	SM(40:1)	110	10	40	6
785,7	184,1	8,78	SM(40:2)	110	10	40	6

Q1	Q3	RT	Lipid	DP (V)	EP(V)	CE (V)	CXP (V)
783,6	184,1	8,02	SM(40:3)	110	10	40	6
781,6	184,1	7,46	SM(40:4)	110	10	40	6
779,6	184,1	6,84	SM(40:5)	110	10	40	6
777,6	184,1	6,23	SM(40:6)	110	10	40	6
801,7	184,1	9,92	SM(41:1)	110	10	40	6
799,7	184,1	9,10	SM(41:2)	110	10	40	6
815,7	184,1	10,22	SM(42:1)	110	10	40	6
813,7	184,1	9,61	SM(42:2)	110	10	40	6
811,7	184,1	8,84	SM(42:3)	110	10	40	6
809,7	184,1	8,12	SM(42:4)	110	10	40	6
805,6	184,1	6,84	SM(42:6)	110	10	40	6
803,6	184,1	6,23	SM(42:7)	110	10	40	6
829,7	184,1	10,43	SM(43:1)	110	10	40	6
827,7	184,1	9,81	SM(43:2)	110	10	40	6
845,7	184,1	11,56	SM(44:0)	110	10	40	6
712,645	467,4	11,30	TG(40:0)_FA14:0	100	10	35	6
712,645	439,4	11,30	TG(40:0)_FA16:0	100	10	35	6
740,7	551,5	11,89	TG(42:0)_FA10:0	100	10	35	6
740,7	495,4	11,81	TG(42:0)_FA14:0	100	10	35	6
740,7	467,4	11,89	TG(42:0)_FA16:0	100	10	35	6
738,661	493,4	11,50	TG(42:1)_FA14:0	100	10	35	6
738,661	467,4	11,50	TG(42:1)_FA16:1	100	10	35	6
754,7	509,5	12,04	TG(43:0)_FA14:0	100	10	35	6
754,7	481,4	12,06	TG(43:0)_FA16:0	100	10	35	6
752,7	481,4	11,74	TG(43:1)_FA16:1	100	10	35	6
768,7	523,5	12,28	TG(44:0)_FA14:0	100	10	35	6
768,7	495,4	12,27	TG(44:0)_FA16:0	100	10	35	6
766,7	521,5	11,95	TG(44:1)_FA14:0	100	10	35	6
766,7	493,4	11,94	TG(44:1)_FA16:0	100	10	35	6
766,692	495,4	11,99	TG(44:1)_FA16:1	100	10	35	6
766,7	467,4	11,90	TG(44:1)_FA18:1	100	10	35	6
764,676	519,4	11,60	TG(44:2)_FA14:0	100	10	35	6
764,676	491,4	11,60	TG(44:2)_FA16:0	100	10	35	6
764,676	493,4	11,60	TG(44:2)_FA16:1	100	10	35	6
764,7	465,4	11,64	TG(44:2)_FA18:1	100	10	35	6
782,723	537,5	12,48	TG(45:0)_FA14:0	100	10	35	6
782,7	523,5	12,48	TG(45:0)_FA15:0	100	10	35	6
782,7	509,7	12,45	TG(45:0)_FA16:0	100	10	35	6
780,7	507,4	12,23	TG(45:1)_FA16:0	100	10	35	6
780,7	509,5	12,18	TG(45:1)_FA16:1	100	10	35	6
778,7	507,4	11,84	TG(45:2)_FA16:1	100	10	35	6
796,7	551,503	12,67	TG(46:0)_FA14:0	100	10	35	6
796,7	523,5	12,68	TG(46:0)_FA16:0	100	10	35	6
796,7	495,4	12,67	TG(46:0)_FA18:0	100	10	35	6
794,7	549,5	12,38	TG(46:1)_FA14:0	100	10	35	6

Q1	Q3	RT	Lipid	DP (V)	EP(V)	CE (V)	CXP (V)
794,7	521,5	12,34	TG(46:1)_FA16:0	100	10	35	6
794,7	523,5	12,38	TG(46:1)_FA16:1	100	10	35	6
794,7	495,4	12,38	TG(46:1)_FA18:1	100	10	35	6
792,7	547,5	11,99	TG(46:2)_FA14:0	100	10	35	6
792,7	519,4	11,96	TG(46:2)_FA16:0	100	10	35	6
792,7	521,5	11,96	TG(46:2)_FA16:1	100	10	35	6
792,7	495,4	11,96	TG(46:2)_FA18:2	100	10	35	6
790,7	519,4	11,60	TG(46:3)_FA16:1	100	10	35	6
790,7	491,7	11,55	TG(46:3)_FA18:1	100	10	35	6
788,7	599,5	11,15	TG(46:4)_FA10:0	100	10	35	6
788,7	491,4	11,20	TG(46:4)_FA18:2	100	10	35	6
810,7	565,5	12,87	TG(47:0)_FA14:0	100	10	35	6
810,8	537,8	12,90	TG(47:0)_FA16:0	100	10	35	6
810,7	523,5	12,87	TG(47:0)_FA17:0	100	10	35	6
808,7	563,5	12,58	TG(47:1)_FA14:0	100	10	35	6
808,7	535,5	12,62	TG(47:1)_FA16:0	100	10	35	6
808,7	537,4	12,58	TG(47:1)_FA16:1	100	10	35	6
808,7	521,4	12,58	TG(47:1)_FA17:0	100	10	35	6
808,7	509,5	12,58	TG(47:1)_FA18:1	100	10	35	6
806,7	561,5	12,33	TG(47:2)_FA14:0	100	10	35	6
806,7	547,5	12,23	TG(47:2)_FA15:0	100	10	35	6
806,7	533,5	12,43	TG(47:2)_FA16:0	100	10	35	6
806,7	535,7	12,23	TG(47:2)_FA16:1	100	10	35	6
806,7	507,4	12,38	TG(47:2)_FA18:1	100	10	35	6
806,7	509,4	12,38	TG(47:2)_FA18:2	100	10	35	6
804,7	533,5	11,99	TG(47:3)_FA16:1	100	10	35	6
824,7	579,5	13,07	TG(48:0)_FA14:0	100	10	35	6
824,8	565,4	13,07	TG(48:0)_FA15:0	100	10	35	6
824,8	551,5	13,06	TG(48:0)_FA16:0	100	10	35	6
824,8	523,5	13,30	TG(48:0)_FA18:0	100	10	35	6
822,7	577,5	12,77	TG(48:1)_FA14:0	100	10	35	6
822,8	549,5	12,73	TG(48:1)_FA16:0	100	10	35	6
822,7	551,4	12,77	TG(48:1)_FA16:1	100	10	35	6
822,8	523,5	12,73	TG(48:1)_FA18:1	100	10	35	6
820,7	575,5	12,38	TG(48:2)_FA14:0	100	10	35	6
820,7	547,4	12,38	TG(48:2)_FA16:0	100	10	35	6
820,7	549,5	12,37	TG(48:2)_FA16:1	100	10	35	6
820,7	521,5	12,39	TG(48:2)_FA18:1	100	10	35	6
820,7	523,5	12,38	TG(48:2)_FA18:2	100	10	35	6
818,7	547,5	12,00	TG(48:3)_FA16:1	100	10	35	6
818,7	519,4	12,02	TG(48:3)_FA18:1	100	10	35	6
818,7	521,5	12,03	TG(48:3)_FA18:2	100	10	35	6
816,7	545,5	11,79	TG(48:4)_FA16:1	100	10	35	6
816,7	521,4	11,79	TG(48:4)_FA18:3	100	10	35	6
838,8	593,6	13,31	TG(49:0)_FA14:0	100	10	35	6

Q1	Q3	RT	Lipid	DP (V)	EP(V)	CE (V)	CXP (V)
838,8	565,5	13,22	TG(49:0)_FA16:0	100	10	35	6
838,8	551,5	13,26	TG(49:0)_FA17:0	100	10	35	6
838,8	537,5	13,26	TG(49:0)_FA18:0	100	10	35	6
836,8	591,6	12,97	TG(49:1)_FA14:0	100	10	35	6
836,8	563,5	12,97	TG(49:1)_FA16:0	100	10	35	6
836,8	565,5	12,97	TG(49:1)_FA16:1	100	10	35	6
836,8	549,5	12,97	TG(49:1)_FA17:0	100	10	35	6
836,8	537,5	12,97	TG(49:1)_FA18:1	100	10	35	6
834,8	589,6	12,58	TG(49:2)_FA14:0	100	10	35	6
834,8	561,5	12,58	TG(49:2)_FA16:0	100	10	35	6
834,8	563,5	12,60	TG(49:2)_FA16:1	100	10	35	6
834,8	547,5	12,67	TG(49:2)_FA17:0	100	10	35	6
834,8	549,5	12,60	TG(49:2)_FA17:1	100	10	35	6
834,8	535,5	12,77	TG(49:2)_FA18:1	100	10	35	6
834,8	537,5	12,67	TG(49:2)_FA18:2	100	10	35	6
832,7	561,5	12,28	TG(49:3)_FA16:1	100	10	35	6
832,7	533,5	12,23	TG(49:3)_FA18:1	100	10	35	6
832,7	535,5	12,33	TG(49:3)_FA18:2	100	10	35	6
852,8	607,6	13,65	TG(50:0)_FA14:0	100	10	35	6
852,8	579,5	13,60	TG(50:0)_FA16:0	100	10	35	6
852,8	551,5	13,56	TG(50:0)_FA18:0	100	10	35	6
850,8	605,6	13,16	TG(50:1)_FA14:0	100	10	35	6
850,8	577,5	13,11	TG(50:1)_FA16:0	100	10	35	6
850,8	579,5	13,16	TG(50:1)_FA16:1	100	10	35	6
850,8	549,5	13,16	TG(50:1)_FA18:0	100	10	35	6
850,8	551,5	13,16	TG(50:1)_FA18:1	100	10	35	6
848,8	603,6	12,87	TG(50:2)_FA14:0	100	10	35	6
848,8	575,5	12,77	TG(50:2)_FA16:0	100	10	35	6
848,8	577,5	12,87	TG(50:2)_FA16:1	100	10	35	6
848,8	547,5	12,87	TG(50:2)_FA18:0	100	10	35	6
848,8	549,5	12,87	TG(50:2)_FA18:1	100	10	35	6
848,8	551,5	12,87	TG(50:2)_FA18:2	100	10	35	6
848,8	523,5	12,87	TG(50:2)_FA20:2	100	10	35	6
846,8	601,6	12,48	TG(50:3)_FA14:0	100	10	35	6
846,8	573,5	12,48	TG(50:3)_FA16:0	100	10	35	6
846,8	575,5	12,46	TG(50:3)_FA16:1	100	10	35	6
846,8	547,5	12,48	TG(50:3)_FA18:1	100	10	35	6
846,8	551,5	12,48	TG(50:3)_FA18:3	100	10	35	6
844,6	599,4	12,18	TG(50:4)_FA14:0	100	10	35	6
844,7	573,5	12,08	TG(50:4)_FA16:1	100	10	35	6
844,7	547,5	12,09	TG(50:4)_FA18:2	100	10	35	6
844,7	551,5	12,34	TG(50:4)_FA18:4	100	10	35	6
842,7	569,5	11,99	TG(50:5)_FA16:0	100	10	35	6
866,8	593,6	13,64	TG(51:0)_FA16:0	100	10	35	6
866,8	579,5	13,65	TG(51:0)_FA17:0	100	10	35	6

Q1	Q3	RT	Lipid	DP (V)	EP(V)	CE (V)	CXP (V)
866,8	565,5	13,60	TG(51:0)_FA18:0	100	10	35	6
864,8	591,5	13,29	TG(51:1)_FA16:0	100	10	35	6
864,8	577,5	13,26	TG(51:1)_FA17:0	100	10	35	6
864,8	563,5	13,26	TG(51:1)_FA18:0	100	10	35	6
864,8	565,5	13,26	TG(51:1)_FA18:1	100	10	35	6
862,8	589,5	12,97	TG(51:2)_FA16:0	100	10	35	6
862,8	591,5	12,97	TG(51:2)_FA16:1	100	10	35	6
862,8	575,5	12,97	TG(51:2)_FA17:0	100	10	35	6
862,8	563,5	12,99	TG(51:2)_FA18:1	100	10	35	6
862,8	565,5	12,97	TG(51:2)_FA18:2	100	10	35	6
860,8	587,5	12,62	TG(51:3)_FA16:0	100	10	35	6
860,8	589,5	12,77	TG(51:3)_FA16:1	100	10	35	6
860,8	563,5	12,67	TG(51:3)_FA18:2	100	10	35	6
858,8	561,5	12,30	TG(51:4)_FA18:2	100	10	35	6
880,8	607,5	13,75	TG(52:0)_FA16:0	100	10	35	6
880,8	579,5	13,76	TG(52:0)_FA18:0	100	10	35	6
880,8	551,5	13,65	TG(52:0)_FA20:0	100	10	35	6
878,8	605,8	13,57	TG(52:1)_FA16:0	100	10	35	6
878,8	607,5	13,56	TG(52:1)_FA16:1	100	10	35	6
878,8	577,5	13,47	TG(52:1)_FA18:0	100	10	35	6
878,8	579,5	13,46	TG(52:1)_FA18:1	100	10	35	6
878,8	549,5	13,46	TG(52:1)_FA20:0	100	10	35	6
878,8	551,5	13,46	TG(52:1)_FA20:1	100	10	35	6
876,8	631,6	13,26	TG(52:2)_FA14:0	100	10	35	6
876,8	603,5	13,21	TG(52:2)_FA16:0	100	10	35	6
876,8	605,5	13,26	TG(52:2)_FA16:1	100	10	35	6
876,8	575,5	13,26	TG(52:2)_FA18:0	100	10	35	6
876,8	577,5	13,26	TG(52:2)_FA18:1	100	10	35	6
874,8	601,5	12,84	TG(52:3)_FA16:0	100	10	35	6
874,8	603,5	12,86	TG(52:3)_FA16:1	100	10	35	6
874,8	575,5	12,87	TG(52:3)_FA18:1	100	10	35	6
874,8	577,5	12,87	TG(52:3)_FA18:2	100	10	35	6
872,8	599,5	12,58	TG(52:4)_FA16:0	100	10	35	6
872,8	601,5	12,58	TG(52:4)_FA16:1	100	10	35	6
872,8	573,5	12,58	TG(52:4)_FA18:1	100	10	35	6
872,8	575,5	12,50	TG(52:4)_FA18:2	100	10	35	6
868,7	595,5	11,99	TG(52:6)_FA16:0	100	10	35	6
894,8	621,5	13,95	TG(53:0)_FA16:0	100	10	35	6
892,8	619,5	13,65	TG(53:1)_FA16:0	100	10	35	6
890,8	617,5	13,61	TG(53:2)_FA16:0	100	10	35	6
890,8	603,5	13,33	TG(53:2)_FA17:0	100	10	35	6
890,8	589,5	13,56	TG(53:2)_FA18:0	100	10	35	6
890,8	591,5	13,46	TG(53:2)_FA18:1	100	10	35	6
888,8	615,5	13,07	TG(53:3)_FA16:0	100	10	35	6
908,8	635,5	14,14	TG(54:0)_FA16:0	100	10	35	6

Q1	Q3	RT	Lipid	DP (V)	EP(V)	CE (V)	CXP (V)
908,9	607,6	14,14	TG(54:0)_FA18:0	100	10	35	6
906,8	633,5	13,95	TG(54:1)_FA16:0	100	10	35	6
906,8	605,6	13,90	TG(54:1)_FA18:0	100	10	35	6
906,8	607,5	13,95	TG(54:1)_FA18:1	100	10	35	6
906,8	577,5	13,95	TG(54:1)_FA20:0	100	10	35	6
904,8	603,5	13,60	TG(54:2)_FA18:0	100	10	35	6
904,8	605,5	13,65	TG(54:2)_FA18:1	100	10	35	6
904,8	607,5	13,65	TG(54:2)_FA18:2	100	10	35	6
904,8	577,5	13,65	TG(54:2)_FA20:1	100	10	35	6
902,8	631,6	13,31	TG(54:3)_FA16:1	100	10	35	6
902,8	601,5	13,36	TG(54:3)_FA18:0	100	10	35	6
902,8	603,5	13,21	TG(54:3)_FA18:1	100	10	35	6
902,8	605,5	13,36	TG(54:3)_FA18:2	100	10	35	6
902,8	575,5	13,36	TG(54:3)_FA20:1	100	10	35	6
902,8	577,5	13,36	TG(54:3)_FA20:2	100	10	35	6
900,8	599,5	13,08	TG(54:4)_FA18:0	100	10	35	6
900,8	601,5	12,97	TG(54:4)_FA18:1	100	10	35	6
900,8	603,5	13,07	TG(54:4)_FA18:2	100	10	35	6
900,8	605,5	13,07	TG(54:4)_FA18:3	100	10	35	6
898,8	625,5	12,72	TG(54:5)_FA16:0	100	10	35	6
898,8	597,5	13,00	TG(54:5)_FA18:0	100	10	35	6
898,8	599,5	12,61	TG(54:5)_FA18:1	100	10	35	6
898,8	601,5	12,55	TG(54:5)_FA18:2	100	10	35	6
898,8	603,5	12,77	TG(54:5)_FA18:3	100	10	35	6
898,8	577,5	12,77	TG(54:5)_FA20:4	100	10	35	6
896,8	623,5	12,62	TG(54:6)_FA16:0	100	10	35	6
896,8	597,5	12,21	TG(54:6)_FA18:1	100	10	35	6
896,8	599,5	12,18	TG(54:6)_FA18:2	100	10	35	6
896,8	575,5	12,39	TG(54:6)_FA20:4	100	10	35	6
896,8	577,8	12,50	TG(54:6)_FA20:5	100	10	35	6
894,8	599,5	11,85	TG(54:7)_FA18:3	100	10	35	6
890,7	571,5	11,60	TG(54:9)_FA20:5	100	10	35	6
920,8	577,5	14,05	TG(55:1)_FA21:0	100	10	35	6
912,8	639,5	12,96	TG(55:5)_FA16:0	100	10	35	6
910,8	637,5	12,48	TG(55:6)_FA16:0	100	10	35	6
910,8	623,5	12,77	TG(55:6)_FA17:0	100	10	35	6
936,9	663,6	14,53	TG(56:0)_FA16:0	100	10	35	6
934,9	661,6	14,24	TG(56:1)_FA16:0	100	10	35	6
930,8	659,6	13,83	TG(56:3)_FA16:1	100	10	35	6
930,8	603,5	13,64	TG(56:3)_FA20:1	100	10	35	6
928,8	629,5	13,36	TG(56:4)_FA18:1	100	10	35	6
926,8	625,5	13,26	TG(56:5)_FA18:0	100	10	35	6
920,8	647,5	12,19	TG(56:8)_FA16:0	100	10	35	6
946,9	675,6	14,19	TG(57:2)_FA16:1	100	10	35	6
940,8	639,5	13,38	TG(57:5)_FA18:0	100	10	35	6

Q1	Q3	RT	Lipid	DP (V)	EP(V)	CE (V)	CXP (V)
938,8	651,5	13,07	TG(57:6)_FA17:0	100	10	35	6
964,9	691,7	14,80	TG(58:0)_FA16:0	100	10	35	6
964,9	663,6	14,76	TG(58:0)_FA18:0	100	10	35	6
962,9	689,6	14,45	TG(58:1)_FA16:0	100	10	35	6
940,7	669,5	11,46	TG(58:12)_FA16:1	100	10	35	6
960,9	689,6	14,34	TG(58:2)_FA16:1	100	10	35	6
960,9	661,6	13,95	TG(58:2)_FA18:1	100	10	35	6
958,9	687,6	13,99	TG(58:3)_FA16:1	100	10	35	6
952,8	651,5	13,26	TG(58:6)_FA18:0	100	10	35	6
952,8	603,5	13,26	TG(58:6)_FA22:4	100	10	35	6
950,8	649,5	12,97	TG(58:7)_FA18:0	100	10	35	6
950,8	653,5	12,87	TG(58:7)_FA18:2	100	10	35	6
988,9	689,6	14,49	TG(60:2)_FA18:1	100	10	35	6
810,8	537,5	13,03	TG(e)(48:0)_FA16:0	100	10	35	6
838,8	565,5	13,23	TG(e)(50:0)_FA16:0	100	10	35	6
836,8	563,5	12,93	TG(e)(50:1)_FA16:0	100	10	35	6
864,8	565,6	13,23	TG(e)(52:1)_FA18:1	100	10	35	6
860,8	561,5	12,68	TG(e)(52:3)_FA18:1	100	10	35	6
890,9	591,6	13,40	TG(e)(54:2)_FA18:1	100	10	35	6
808,8	535,5	12,71	TG(p)(48:1)_FA16:0	100	10	35	6
864,8	591,6	13,31	TG(P)(52:1)_FA16:0	100	10	35	6
862,8	589,6	12,89	TG(P)(52:2)_FA16:0	100	10	35	6
890,9	617,6	13,38	TG(p)(54:2)_FA16:0	100	10	35	6

Cer – ceramidy, DG – diacylglyceroly, FA – mastné kyseliny, Hex2Cer – dihexosylceramidy, LPC – lysofosfatidylcholin, LPC-O – ethericky vázané lysofosfatidylcholin, LPE – lysofosfatidylethanolaminy, LPE-O – ethericky vázané lysofosfatidylethanolaminy, PC – fosfatidylcholin, PC-O – ethericky vázané fosfatidylcholin, PE – fosfatidylethanolaminy, PE-O – ethericky vázané fosfatidylethanolaminy, PI – fosfatidylinositol, PS – fosfatidylserin, SM – sfingomyeliny, TG – triacylglyceroly.

V závorce (x:y-z) znamená x počet uhlíků, y počet dvojných vazeb a z pořadí přechodu.

Příloha 2 Tabulka MRM (sledování produktu rozpadu iontů) přechodů v negativním módu (celkem 32). Uvedena je hodnota m/z molekulového iontu (Q1), hodnota m/z produktového iontu (Q3), retenční čas (RT), deklasterační potenciál (DP), vstupní potenciál kolizní cely (EP), kolizní energie (CE) a výstupní potenciál kolizní cely (CXP) každého lipidu.

Q1	Q3	RT	Lipid	DP (V)	EP (V)	CE (V)	CXP(V)
740,552	288,298	5,49	15:0-18:1(d7) PG_SPLASH_1	-80	-10	-50	-15
740,552	153	5,49	15:0-18:1(d7) PG_SPLASH_2	-80	-10	-50	-15
828,56	288,298	5,27	15:0-18:1(d7) PI_SPLASH_1	-80	-10	-50	-15
828,56	241	5,27	15:0-18:1(d7) PI_SPLASH_2	-80	-10	-50	-15
753,547	288,298	5,36	15:0-18:1(d7) PS_SPLASH_1	-80	-10	-50	-15
753,547	666,547	5,36	15:0-18:1(d7) PS_SPLASH_2	-80	-10	-50	-15
171,1	171,1	1,09	FA 10:0	-80	-10	-25	-16
199,2	199,2	1,49	FA 12:0	-80	-10	-25	-16
227,2	227,2	1,56	FA 14:0	-80	-10	-25	-16
241,2	241,2	1,67	FA 15:0	-80	-10	-25	-16
255,2	255,2	1,82	FA 16:0	-80	-10	-25	-16
258,3	258,3	1,84	FA 16:0_d3	-80	-10	-25	-16
253,2	253,2	1,97	FA 16:1	-80	-10	-25	-16
251,2	251,2	1,92	FA 16:2	-80	-10	-25	-16
269,2	269,2	1,95	FA 17:0	-80	-10	-25	-16
265,2	265,2	2,11	FA 17:2	-80	-10	-25	-16
283,3	283,3	2,21	FA 18:0	-80	-10	-25	-16
286,3	286,3	2,23	FA 18:0_d3	-80	-10	-25	-16
279,2	279,2	2,38	FA 18:2	-80	-10	-25	-16
311,3	311,3	2,78	FA 20:0	-80	-10	-25	-16
309,3	309,3	2,99	FA 20:1	-80	-10	-25	-16
749,5	153	6,57	PG(34:0)	-80	-10	-45	-16
823,5	241	5,89	PI(33:0)	-70	-10	-60	-16
821,5	241	5,29	PI(33:1)	-70	-10	-60	-16
885,55	283,3	5,69	PI(38:4)_PI(18:0/20:4)	-70	-10	-60	-16
885,5	241	5,64	PI(38:4-3)	-70	-10	-60	-16
909,5	241	5,59	PI(40:6-1)	-70	-10	-60	-16
993,6	241	7,68	PI(46:6)	-70	-10	-60	-16
790,56	283,264	7,33	PS(36:0)_PS(18:0/18:0)	-50	-10	-35	-16
788,5	701,5	6,64	PS(36:1-1)	-50	-10	-35	-16
810,5	723,5	5,91	PS(38:4-1)	-50	-10	-35	-16
834,5	747,5	5,7	PS(40:6-2)	-50	-10	-35	-16

FA – mastné kyseliny, PG -fosfoglyceroly, PI – fosfatidylinositoly, PS – fosfatidylseriny.

V závorce (x:y-z) znamená x počet uhlíků, y počet dvojných vazeb a z pořadí přechodu

Příloha 3 Teplotní mapa charakterizující změny hladin lipidů identifikovaných cílenou lipidomickou analýzou mozkomíšního moku u kontrolních (K) a transgenních (T) potkanů stejného stáří. Kvantitativní stránka datového souboru je zde vyjádřena pomocí barevné škály na základě hodnoty p-value.

Lipid	T4 a K4	T6 a K6	T8 a K8	T10 a K10	T12 a K12	T14 a K14
Cer(32:2-1)_d16:0/16:2	-0,54	0,70	-1,27	0,40	-0,76	-0,15
Cer(40:2-4)_d18:1/22:1	1,54	1,22	6,06	6,56	8,19	6,57
Cer(40:3-2)_d20:0/20:3	-0,06	0,02	-1,52	0,31	0,48	0,58
Cer(42:2-3)_d18:1/24:1	1,22	1,92	4,70	8,06	8,78	6,77
Cer(44:0-2)_d20:0/24:0	-0,14	-0,03	-0,69	0,41	0,23	-1,03
DG(31:1-6)_DG(15:0/16:1)	0,32	-0,13	0,46	-0,66	-1,33	0,33
DG(32:0-7)_DG(16:0/16:0)	-0,33	0,30	0,81	0,22	0,52	-0,67
DG(33:1-8)_DG(16:1/17:0)	-0,74	-0,10	0,65	-0,20	0,30	0,76
DG(33:3-4)_DG(16:1/17:2)	-0,52	-0,31	0,60	-0,69	0,16	-0,15
DG(34:0-7)_DG(16:0/18:0)	0,35	0,18	0,87	0,03	0,44	-1,48
DG(36:0-9)_DG(18:0/18:0)	0,02	0,65	0,58	0,23	0,48	-1,42
DG(36:2-8)_DG(18:1/18:1)	-0,53	0,17	-0,14	-1,00	-0,79	0,24
DG(40:5-1)_DG(18:0/22:5)	-0,90	1,19	-0,37	-0,08	0,68	-0,09
FA-12:0	0,04	0,68	1,35	-0,60	0,16	0,48
FA-14:0	-0,54	0,88	1,82	0,06	0,59	-0,01
FA-15:0	0,64	0,70	1,44	-0,18	-0,03	-0,22
FA-16:0	-0,40	0,44	2,48	-0,21	-0,08	-0,11
FA-16:1	-0,23	-0,65	0,74	-0,32	-0,08	-0,29
FA-16:2	-1,05	-0,56	-0,58	0,30	-0,60	0,57
FA-17:0	-0,81	1,18	1,83	-0,10	0,84	0,04
FA-17:2	-0,42	-0,40	-0,20	-0,15	-0,07	0,48
FA-18:0	-0,45	0,90	2,08	-0,04	0,42	-0,08
FA-18:2	0,04	0,04	-0,78	0,35	-0,09	0,82
FA-20:0	0,08	1,03	1,51	0,05	0,37	-0,50
FA-20:1	0,22	-0,31	-0,86	0,57	-0,24	0,82
Hex2Cer(42:2-3)_d20:1/22:1	-0,03	0,01	0,15	-2,44	-1,45	0,12
HexCer(40:2-4)_d18:1/22:1	0,54	1,92	7,17	7,61	6,86	7,25
HexCer(42:2-2)_d18:1/24:1	2,01	1,62	5,30	7,78	8,56	8,48
HexCer(42:3-3)_d18:2/24:1	0,55	2,24	5,75	4,90	5,58	5,23
LPC(15:0-1)	-0,15	0,44	-0,02	-0,07	-0,35	-0,13
LPC(16:0)	1,53	1,39	2,83	6,55	5,57	3,60
LPC(17:0)	1,21	1,27	4,05	5,60	7,40	3,99
LPC(18:0)	2,13	1,38	3,19	6,53	6,63	4,73
LPC(18:1)	0,66	0,58	2,62	4,37	5,04	4,49
LPC(18:2)	1,60	0,70	0,98	1,80	1,30	2,94
LPC(18:4-1)	-0,20	-0,57	0,03	-0,34	-0,27	1,62
LPC(18:4-2)	0,08	0,04	-1,02	-0,25	-0,44	-0,18
LPC(20:0)	1,38	1,70	5,22	6,62	7,58	6,08
LPC(20:1)	1,29	1,10	2,86	6,29	7,07	3,97
LPC(20:3)	0,96	-0,02	0,06	-0,28	-0,48	0,44
LPC(20:4)	2,01	0,09	1,61	3,31	3,71	2,81
LPC(22:0)	2,62	1,03	4,52	7,86	8,90	10,25

Lipid	T4 a K4	T6 a K6	T8 a K8	T10 a K10	T12 a K12	T14 a K14
LPC(22:6)	1,03	-0,31	1,29	1,75	2,61	1,66
LPC(24:0)	1,53	2,88	7,32	7,04	9,53	10,28
LPC(26:0)	0,78	0,49	0,13	-0,36	-0,08	-0,29
LPC-O(16:0)	-0,12	-0,50	-0,17	-0,06	-0,48	-0,25
LPC-O(18:0)	0,56	1,02	3,30	7,35	6,01	5,23
LPE(15:0)	-0,40	-0,09	0,01	-0,05	-0,71	0,15
LPE(18:0)	1,16	0,23	1,04	5,46	3,10	3,81
LPE-O(18:0)	0,53	0,10	0,06	-0,09	-0,34	-0,14
LPE-O(18:1)	0,73	-0,44	0,61	-0,14	-0,97	0,16
LPE-O(18:2)	0,74	0,61	-0,31	-0,30	-0,69	0,58
PC(21:0)	1,23	2,32	5,24	6,57	8,53	9,48
PC(28:0)	1,16	0,33	1,61	2,54	2,58	4,33
PC(28:1)	1,10	1,76	2,73	4,20	5,10	5,50
PC(29:0)	0,23	0,73	3,04	6,26	5,54	6,53
PC(29:1)	1,20	0,29	0,74	4,56	3,90	4,60
PC(30:0)	1,91	2,17	4,10	8,65	7,67	8,38
PC(30:1)	1,56	2,33	5,96	7,82	8,84	8,50
PC(30:2)	0,67	2,51	3,65	6,70	5,86	5,37
PC(31:0)	1,71	1,52	3,99	8,13	7,66	8,79
PC(31:1)	1,03	1,74	5,87	8,72	8,76	7,83
PC(32:0)	1,97	0,65	2,92	5,93	4,60	6,72
PC(32:1)	1,81	1,40	4,37	8,16	7,15	8,95
PC(32:2)	0,94	0,38	1,70	6,50	3,48	6,35
PC(33:0-1)	1,01	3,08	5,13	8,50	10,00	10,73
PC(33:1)	1,38	2,93	6,01	7,89	9,42	10,30
PC(33:2)	1,01	3,91	5,58	8,89	8,96	8,06
PC(33:3)	-0,10	0,03	-0,16	0,09	0,09	0,93
PC(33:4)	-0,26	0,00	-0,11	-0,31	-1,71	0,15
PC(33:6)	-0,12	0,66	-0,39	0,55	0,16	0,04
PC(34:0)	1,75	0,28	1,76	4,91	1,68	2,73
PC(34:1)	1,55	0,62	3,90	7,48	6,71	9,14
PC(34:2)	2,08	0,84	4,38	7,99	7,82	6,40
PC(34:3-1)	1,36	1,26	-0,03	-1,19	-1,56	-0,01
PC(34:3-2)	0,04	-0,23	0,37	0,05	-2,45	-0,37
PC(34:4)	2,31	0,83	2,36	5,76	5,48	5,11
PC(35:1)	1,39	1,52	5,34	7,13	9,13	10,68
PC(35:2)	1,22	2,35	5,33	7,47	9,38	9,74
PC(35:4)	-0,49	-0,78	-0,24	-1,63	-0,52	1,44
PC(35:5-1)	1,36	1,63	4,43	5,81	7,00	4,62
PC(36:0)	1,73	0,41	3,19	4,06	3,88	3,52
PC(36:1-1)	1,40	0,68	3,96	7,73	6,25	9,23
PC(36:2-1)	2,13	0,87	4,29	7,31	7,41	6,71
PC(36:2-2)	1,85	0,69	4,01	7,22	7,80	5,79
PC(36:3-1)	1,54	1,15	3,88	6,79	5,37	4,79
PC(36:4-1)	1,90	0,32	1,84	5,77	5,23	5,40

Lipid	T4 a K4	T6 a K6	T8 a K8	T10 a K10	T12 a K12	T14 a K14
PC(36:4-2)	2,16	0,37	2,17	5,28	5,54	4,71
PC(36:5)	1,08	0,84	2,21	4,07	5,76	4,69
PC(37:1-1)	1,22	1,71	5,03	7,70	9,69	10,06
PC(37:2-1)	1,87	2,97	4,87	6,92	9,04	9,29
PC(37:4)	1,68	0,62	4,81	7,66	8,89	6,60
PC(37:5)	0,48	0,99	4,64	6,42	6,07	5,62
PC(38:1-1)	1,48	1,17	4,95	7,42	7,95	7,72
PC(38:2-1)	0,96	0,92	6,06	7,45	7,75	7,06
PC(38:4-1)	1,69	0,32	1,64	4,79	5,24	4,31
PC(38:4-2)	1,42	0,56	1,72	4,83	5,08	3,92
PC(38:5-1)	1,56	0,32	1,99	3,82	2,23	4,22
PC(38:6-1)	1,72	0,29	0,92	4,57	1,31	4,68
PC(38:6-2)	1,90	0,27	0,79	4,20	1,23	4,19
PC(38:7-1)	2,33	0,27	0,49	3,42	2,67	3,00
PC(39:6)	1,68	-0,37	2,72	2,96	2,70	6,13
PC(39:7)	0,64	2,12	5,83	6,44	7,84	10,06
PC(40:1-1)	1,74	3,62	7,26	8,54	8,84	7,73
PC(40:2-1)	0,36	0,96	5,40	6,60	8,14	7,23
PC(40:4-1)	2,25	0,65	2,54	6,59	4,60	6,05
PC(40:4-2)	1,64	1,02	2,55	7,10	4,03	4,39
PC(40:5-1)	0,61	0,11	0,74	2,48	1,88	3,07
PC(40:5-3)	1,89	1,38	0,96	3,42	1,87	3,91
PC(40:6-1)	2,29	0,42	0,48	3,42	1,33	3,13
PC(40:6-2)	1,73	0,23	0,57	4,81	1,26	3,77
PC(40:7)	1,56	0,27	1,13	4,14	1,89	4,92
PC(41:1)	1,91	2,24	6,50	7,77	9,78	8,55
PC(42:1)	1,81	4,53	8,68	7,88	9,16	7,45
PC(42:10)	1,44	-0,52	0,83	3,81	1,27	1,98
PC(42:2-1)	1,90	2,24	5,62	7,92	9,17	9,47
PC(42:4)	0,73	1,17	5,71	7,32	7,89	5,06
PC(42:5-1)	0,15	0,71	2,48	3,51	3,54	4,09
PC(42:5-2)	0,26	0,42	4,24	5,24	5,87	5,08
PC(42:7)	0,57	-0,31	0,82	2,19	1,17	3,99
PC(42:8)	1,85	0,61	1,02	4,50	4,53	5,29
PC(43:4)	1,03	0,86	3,09	6,72	7,39	6,51
PC(44:1)	0,77	3,86	4,19	3,55	6,29	3,19
PC(44:12)	1,30	0,25	0,84	3,92	3,14	6,00
PC(44:2)	1,86	1,00	5,40	6,40	7,96	8,63
PC(44:4)	2,00	2,11	4,44	8,20	7,86	5,44
PC(44:5)	2,58	1,07	2,49	6,10	8,08	5,57
PC-O(26:0)	0,76	0,36	-0,30	-0,22	-0,27	-0,08
PC-O(30:0)	-0,24	1,71	2,12	4,76	5,99	5,34
PC-O(32:0)	2,60	2,54	6,24	8,07	10,01	9,91
PC-O(32:1-1)	1,64	2,33	6,79	7,28	8,89	9,12
PC-O(32:1-2)	0,92	2,13	4,54	7,66	7,86	6,13

Lipid	T4 a K4	T6 a K6	T8 a K8	T10 a K10	T12 a K12	T14 a K14
PC-O(32:2)	0,89	2,95	5,88	7,37	8,53	8,98
PC-O(32:3)	0,06	0,45	0,30	3,74	3,17	2,55
PC-O(33:1-1)	1,89	0,34	2,71	7,34	5,66	7,99
PC-O(33:2-1)	1,90	0,47	2,83	6,82	4,87	5,17
PC-O(33:4)	-0,02	0,79	-0,54	-0,83	-0,49	0,02
PC-O(34:0)	2,35	1,70	3,93	6,60	9,50	8,80
PC-O(34:1-1)	2,00	3,12	6,07	7,64	9,62	10,07
PC-O(34:1-2)	0,40	0,67	2,44	4,72	1,89	1,97
PC-O(34:2-1)	0,77	4,04	6,03	7,47	8,16	8,40
PC-O(34:2-2)	1,74	2,52	5,58	8,12	9,56	10,56
PC-O(34:3-1)	2,13	1,19	3,64	5,18	5,97	4,88
PC-O(34:3-2)	1,37	2,53	3,94	4,82	6,32	4,40
PC-O(34:4-1)	-0,52	0,55	0,66	-0,01	-0,51	-0,21
PC-O(34:4-2)	0,46	0,42	0,30	0,22	0,02	-0,18
PC-O(34:5-1)	0,32	0,91	0,20	0,37	-0,44	0,00
PC-O(34:5-2)	-0,82	0,50	1,53	-0,28	-0,56	0,08
PC-O(35:1-1)	1,30	2,20	5,56	6,13	6,32	7,74
PC-O(35:2-1)	0,52	1,02	3,18	7,82	6,85	4,25
PC-O(35:3)	1,14	0,47	0,82	3,02	3,51	3,53
PC-O(35:4)	0,01	0,23	0,00	0,16	-0,81	-0,56
PC-O(35:5)	2,05	0,53	-0,03	-1,08	-1,83	0,04
PC-O(36:1-1)	1,27	2,17	5,33	6,19	9,91	11,10
PC-O(36:1-2)	0,81	2,27	5,00	6,45	9,82	9,00
PC-O(36:2-1)	1,61	3,02	4,88	8,53	9,54	10,17
PC-O(36:2-2)	0,86	1,19	5,23	7,84	7,55	8,08
PC-O(36:3-1)	1,60	2,61	5,56	8,22	8,41	9,62
PC-O(36:3-2)	0,68	3,07	5,33	8,05	8,53	9,79
PC-O(36:5-1)	1,88	2,20	4,67	7,92	8,43	6,18
PC-O(36:5-2)	2,16	1,38	4,09	6,86	8,03	6,10
PC-O(36:6-2)	1,81	0,92	3,45	7,18	6,50	8,05
PC-O(36:7)	0,20	0,39	1,77	5,76	5,36	5,80
PC-O(37:1-1)	2,02	1,74	3,37	4,91	5,63	3,59
PC-O(37:2-1)	0,37	2,84	1,09	2,04	2,71	0,96
PC-O(37:4)	-0,19	-0,37	0,41	0,71	-0,38	-0,53
PC-O(38:1-1)	0,87	1,27	5,55	7,59	9,75	8,62
PC-O(38:2-1)	0,35	2,43	4,95	6,78	9,56	9,85
PC-O(38:3-1)	0,43	2,25	4,69	6,75	9,79	9,39
PC-O(38:3-2)	0,92	1,71	4,42	7,81	9,01	10,43
PC-O(38:4-1)	0,87	1,90	5,66	7,38	9,18	7,25
PC-O(38:4-2)	0,62	1,76	5,15	8,04	9,08	8,85
PC-O(38:5-1)	1,49	3,29	5,46	8,00	9,52	8,23
PC-O(38:5-2)	2,25	0,73	2,44	7,20	5,37	6,85
PC-O(38:6-1)	1,59	2,27	4,87	7,01	8,41	11,07
PC-O(38:6-2)	0,64	2,09	3,90	6,94	6,38	7,62
PC-O(38:7)	2,66	0,35	3,57	8,57	6,55	6,88

Lipid	T4 a K4	T6 a K6	T8 a K8	T10 a K10	T12 a K12	T14 a K14
PC-O(40:6-1)	1,22	0,47	3,23	6,53	6,71	6,19
PC-O(40:7)	1,12	0,15	0,55	2,97	0,62	2,84
PE(34:1)	1,95	0,85	-0,09	2,97	1,25	3,13
PE(34:2)	1,79	0,43	0,06	-0,18	1,63	0,78
PE(34:3-1)	1,19	-0,12	0,04	0,20	-0,13	-0,33
PE(34:3-2)	-0,46	0,95	0,18	-0,45	-0,46	-0,14
PE(36:1-1)	0,26	-0,01	2,16	3,87	2,12	2,31
PE(36:2-1)	1,67	0,23	0,15	2,86	2,14	3,75
PE(36:4)	2,88	0,19	0,36	3,20	3,40	1,81
PE(38:4-1)	2,63	0,05	0,22	2,53	1,36	1,52
PE(38:4-3)	2,86	0,06	-0,22	2,31	2,05	1,71
PE(38:5-1)	1,78	0,12	1,17	2,91	1,90	1,77
PE(38:6)	2,05	0,19	-0,15	3,17	1,03	1,90
PE(39:6)	-0,02	0,01	1,38	2,10	1,18	2,93
PE(39:7)	1,93	-0,02	0,85	2,81	2,36	6,06
PE(40:6-1)	1,75	0,50	0,29	2,62	0,73	3,13
PE(40:7)	2,04	0,19	0,69	2,33	1,02	2,64
PE-O(34:1)	0,19	0,46	0,93	0,64	2,96	1,48
PE-O(34:2-1)_16:0p/18:1	0,86	1,93	1,05	5,26	4,71	4,10
PE-O(36:2)	-0,44	0,96	1,00	2,23	0,58	0,58
PE-O(36:2-2)_18:0p/18:1	0,52	0,77	1,65	3,88	1,68	1,76
PE-O(36:3-4)_18:1p/18:1	0,46	0,39	1,70	6,23	3,34	6,05
PE-O(36:4)	0,49	0,50	1,12	1,91	3,00	4,86
PE-O(36:5-1)_16:0p/20:4	0,91	0,38	0,85	3,59	2,69	1,57
PE-O(38:5-1)_16:0p/22:4	1,04	0,25	0,69	3,49	1,34	1,93
PE-O(38:5-2)_18:0p/20:4	0,76	-0,02	0,95	3,95	2,92	2,22
PE-O(38:6)	1,24	-0,22	1,47	2,79	1,36	4,33
PE-O(40:4)	0,85	0,30	0,92	1,30	1,26	1,24
PE-O(40:5-1)_18:0p/22:4	1,92	0,58	1,98	2,40	0,60	1,20
PE-O(40:6)	1,52	1,13	0,03	2,53	1,22	1,23
PE-O(40:6-6)_18:1p/22:4	0,71	-0,28	2,05	3,26	6,14	2,55
PE-O(40:7-2)_18:0p/22:6	2,09	0,16	0,04	2,26	0,87	2,33
PE-O(40:8-1)_18:1p/22:6	1,51	0,45	2,41	4,54	3,33	4,61
PI(33:0)	-0,18	-0,28	0,82	-0,61	2,25	-0,01
PI(33:1)	0,46	0,34	0,45	-0,36	0,12	-1,18
PI(38:4)_PI(18:0/20:4)	1,82	0,37	2,71	6,86	5,55	4,37
PI(38:4-3)	1,80	0,56	2,85	6,63	5,22	5,09
PI(40:6-1)	1,03	0,22	3,73	4,44	2,75	1,67
PS(36:1-1)	0,11	1,67	0,72	1,56	1,54	0,81
PS(38:4-1)	1,96	0,98	-0,30	1,01	1,07	0,58
PS(40:6-2)	1,05	0,02	0,65	5,08	0,78	2,02
SM(33:1)	1,52	1,48	2,88	6,93	6,78	5,76
SM(34:0)	1,81	2,59	1,74	7,24	7,79	7,03
SM(34:1)	1,79	2,03	5,20	6,62	8,67	8,16
SM(34:2)	0,53	1,11	3,96	6,27	5,95	5,74

Lipid	T4 a K4	T6 a K6	T8 a K8	T10 a K10	T12 a K12	T14 a K14
SM(34:4)	0,16	-0,04	0,12	-1,13	0,24	-0,09
SM(35:0)	0,73	1,61	5,03	8,26	7,30	8,20
SM(35:1)	0,68	2,35	5,56	7,43	8,17	11,04
SM(35:4)	0,05	0,14	0,86	0,00	0,33	0,27
SM(36:0)	1,83	0,86	1,42	5,17	3,95	6,90
SM(36:1)	1,37	0,11	2,34	5,68	4,75	7,86
SM(36:2)	1,18	0,54	2,75	6,00	3,66	6,85
SM(37:0)	1,07	2,73	5,39	7,03	9,52	9,84
SM(37:1)	1,73	2,64	5,31	7,78	8,73	11,73
SM(37:3)	-0,25	-0,31	-0,01	-0,74	-0,25	-1,29
SM(38:1)	1,06	1,42	3,96	6,50	6,18	5,37
SM(38:2)	0,48	2,71	3,36	6,31	5,98	5,82
SM(38:3)	0,43	0,20	0,51	0,06	-1,39	-0,04
SM(38:4)	-0,20	-0,01	0,04	-1,14	-0,98	-0,26
SM(39:0)	0,52	1,97	4,71	6,34	9,67	8,27
SM(39:1)	0,96	1,52	4,64	6,74	8,23	8,52
SM(39:2)	1,27	2,28	4,69	8,29	9,87	9,00
SM(40:1)	-0,16	2,44	3,54	4,99	4,20	3,44
SM(40:2)	-0,23	0,79	3,40	3,47	0,76	2,96
SM(40:4)	0,06	-0,39	0,94	-0,50	-1,37	-0,58
SM(40:6)	0,59	1,94	5,40	4,96	5,19	2,69
SM(41:1)	1,25	1,88	5,07	7,09	10,30	10,62
SM(42:1)	1,25	1,69	4,22	5,86	7,30	2,88
SM(42:2)	2,10	3,07	5,87	6,93	8,67	6,42
SM(42:3)	1,39	2,27	5,93	7,06	7,63	4,92
SM(42:4)	0,14	0,63	-0,28	-0,08	0,59	-0,32
SM(42:6)	0,99	-0,16	-0,04	3,78	-0,22	1,54
SM(43:1)	1,02	0,21	3,23	5,59	6,49	3,64
SM(43:2)	0,77	3,09	5,74	7,36	9,73	6,96
TG(40:0)_FA14:0	-0,65	0,46	0,04	-1,43	-1,65	0,76
TG(40:0)_FA16:0	0,24	0,48	1,05	-0,13	-0,30	-0,42
TG(42:0)_FA14:0	-0,36	0,23	0,08	0,39	-0,73	-0,42
TG(42:0)_FA16:0	-0,06	-0,27	0,47	0,06	0,08	-0,14
TG(42:1)_FA14:0	0,03	0,62	-0,37	-0,18	-0,15	0,86
TG(42:1)_FA16:1	-0,09	0,51	-0,55	-0,05	0,24	0,20
TG(43:0)_FA14:0	-0,58	-0,04	1,25	-0,01	0,12	0,05
TG(43:0)_FA16:0	0,03	-0,71	1,42	-0,38	-1,13	-0,17
TG(43:1)_FA16:1	0,01	0,17	0,19	-1,69	0,15	0,07
TG(44:0)_FA14:0	-0,32	-2,01	-0,93	0,61	-0,19	-0,32
TG(44:0)_FA16:0	-1,09	-0,51	-0,12	0,74	-0,04	0,17
TG(44:1)_FA14:0	0,24	2,39	-0,28	0,34	-0,14	-0,21
TG(44:1)_FA16:0	0,33	0,31	0,53	0,57	0,29	-0,33
TG(44:1)_FA16:1	-0,16	0,35	0,67	0,12	-0,51	-0,32
TG(44:1)_FA18:1	0,18	-1,27	-0,95	-0,05	-1,78	-0,47
TG(44:2)_FA16:1	-1,51	0,39	-0,28	0,65	-0,43	0,11

Lipid	T4 a K4	T6 a K6	T8 a K8	T10 a K10	T12 a K12	T14 a K14
TG(45:0)_FA14:0	0,40	0,38	-0,15	0,00	-0,05	-0,54
TG(45:0)_FA15:0	-0,80	0,64	0,63	-0,40	-0,08	-0,64
TG(45:0)_FA16:0	1,10	1,44	0,18	-0,04	-0,18	-0,53
TG(45:1)_FA16:0	0,05	-0,51	-0,10	-0,33	-0,57	-0,32
TG(45:1)_FA16:1	0,22	-0,24	0,11	0,54	0,11	0,29
TG(45:2)_FA16:1	-0,27	-0,72	0,08	0,43	0,18	-0,26
TG(46:0)_FA14:0	-0,79	0,00	-0,29	0,66	-0,28	-0,14
TG(46:0)_FA16:0	-1,13	0,09	0,04	-0,06	-1,98	-0,31
TG(46:0)_FA18:0	0,30	-0,88	-0,04	0,03	0,24	-0,71
TG(46:1)_FA14:0	-0,87	-0,20	-0,18	0,21	-0,04	-0,49
TG(46:1)_FA16:0	-0,90	-0,59	-0,06	1,05	0,71	-0,09
TG(46:1)_FA16:1	-0,51	0,37	-0,01	0,60	0,05	-0,09
TG(46:1)_FA18:1	-0,40	0,65	-0,06	-1,31	0,42	-0,44
TG(46:2)_FA14:0	-0,15	0,27	1,28	-0,71	1,21	-0,42
TG(46:2)_FA16:0	-0,12	-0,57	-0,21	-1,65	-1,20	0,48
TG(46:2)_FA16:1	-0,87	0,60	0,06	0,30	0,22	-0,49
TG(46:3)_FA16:1	0,26	-0,46	0,84	-0,92	-0,50	0,08
TG(47:0)_FA14:0	0,13	-0,36	-0,12	1,19	0,04	0,51
TG(47:0)_FA16:0	-0,51	-0,13	-0,90	0,42	0,31	-0,28
TG(47:0)_FA17:0	0,11	0,38	0,52	0,04	0,37	-0,80
TG(47:1)_FA14:0	0,67	-0,18	0,71	0,46	0,02	-0,09
TG(47:1)_FA16:0	-0,18	0,00	0,60	-0,09	-0,48	0,16
TG(47:1)_FA16:1	0,13	0,74	0,00	-0,46	-0,05	-0,12
TG(47:1)_FA17:0	-0,44	-0,21	0,33	-0,74	-0,07	-0,08
TG(47:1)_FA18:1	0,85	0,48	0,45	0,09	-0,16	0,01
TG(47:2)_FA15:0	-0,06	0,22	0,63	0,41	1,02	0,34
TG(47:2)_FA16:1	-0,39	0,02	0,12	0,09	0,91	-0,09
TG(47:3)_FA16:1	-0,12	-0,14	0,00	0,22	-0,35	0,01
TG(48:0)_FA14:0	-0,71	-0,21	1,57	-0,29	-0,29	-0,10
TG(48:0)_FA15:0	-0,10	0,33	0,58	-0,77	-0,02	0,42
TG(48:0)_FA16:0	0,31	0,81	0,64	-0,57	0,00	-0,12
TG(48:0)_FA18:0	0,28	0,49	0,71	-0,03	-0,58	0,01
TG(48:1)_FA14:0	0,10	-0,07	-0,07	-0,18	-0,08	0,04
TG(48:1)_FA16:0	-0,12	0,26	0,53	0,01	0,61	-0,49
TG(48:1)_FA16:1	-0,28	0,27	0,40	0,16	0,59	-0,06
TG(48:1)_FA18:1	-0,16	-0,30	0,04	0,08	-0,17	0,23
TG(48:2)_FA14:0	0,53	0,10	-0,28	-0,12	-0,62	-0,74
TG(48:2)_FA16:0	0,09	0,53	0,11	-0,22	0,04	0,09
TG(48:2)_FA16:1	0,20	-0,03	0,16	-0,04	-0,07	-0,47
TG(48:2)_FA18:1	-0,26	0,01	-0,79	-1,08	-0,05	-0,17
TG(48:3)_FA16:1	-0,76	0,27	-0,02	-0,15	-1,04	0,20
TG(49:0)_FA14:0	1,18	0,13	-0,38	-0,39	0,51	0,35
TG(49:0)_FA16:0	-0,21	0,72	-0,04	0,29	-0,15	0,07
TG(49:0)_FA17:0	-0,49	0,04	0,07	-0,10	-0,89	-0,37
TG(49:0)_FA18:0	-0,20	0,00	-0,18	-0,51	-0,23	-0,21

Lipid	T4 a K4	T6 a K6	T8 a K8	T10 a K10	T12 a K12	T14 a K14
TG(49:1)_FA16:1	0,03	-0,27	1,12	0,93	-0,15	0,03
TG(49:1)_FA17:0	-0,30	0,75	0,48	-1,00	-0,61	-0,71
TG(49:1)_FA18:1	-0,05	0,33	0,12	-0,84	0,49	0,51
TG(49:2)_FA16:0	-0,36	-0,06	0,61	-0,97	0,22	-0,25
TG(49:2)_FA16:1	-0,91	0,06	0,31	-0,25	0,48	-1,75
TG(49:2)_FA17:1	0,17	1,47	-0,32	0,08	0,15	0,17
TG(49:2)_FA18:1	-0,03	0,50	0,13	0,22	0,32	-0,13
TG(50:0)_FA14:0	0,14	-0,28	-0,10	-0,54	0,06	-0,44
TG(50:0)_FA16:0	-0,78	-0,22	0,91	0,45	0,21	0,24
TG(50:0)_FA18:0	0,10	0,34	0,13	-0,84	-0,23	-0,38
TG(50:1)_FA14:0	-0,66	0,39	-0,06	0,21	0,31	-0,03
TG(50:1)_FA16:0	-0,46	0,04	0,30	-0,05	0,17	-0,19
TG(50:1)_FA16:1	0,25	0,06	-0,15	0,39	-0,84	0,18
TG(50:1)_FA18:0	0,22	-0,84	0,37	0,09	-0,40	0,60
TG(50:1)_FA18:1	-1,17	-0,93	0,85	-0,11	0,14	-0,13
TG(50:2)_FA14:0	0,64	-0,18	0,51	-0,30	1,48	-0,29
TG(50:2)_FA16:0	0,62	1,05	-0,04	-0,06	-0,17	-0,43
TG(50:2)_FA16:1	-0,10	0,20	0,07	-0,05	0,06	0,43
TG(50:2)_FA18:1	0,62	0,34	-0,22	0,59	-0,12	-0,70
TG(50:2)_FA18:2	-0,80	-0,30	-0,14	0,07	0,15	-0,53
TG(50:3)_FA16:1	-0,05	-0,25	2,28	0,77	-0,54	0,28
TG(50:3)_FA18:1	0,15	-1,04	0,84	-0,03	0,22	-0,29
TG(51:0)_FA16:0	0,26	-0,63	1,70	0,33	1,08	0,42
TG(51:0)_FA17:0	-0,10	-0,38	0,83	0,12	0,28	0,34
TG(51:0)_FA18:0	0,08	-0,10	0,06	0,68	0,35	0,32
TG(51:1)_FA17:0	-1,68	-0,09	0,40	0,29	-0,73	0,06
TG(51:1)_FA18:0	-0,57	0,06	-0,05	-0,24	-0,16	0,21
TG(51:1)_FA18:1	-0,22	0,06	-0,61	-0,50	-0,05	0,22
TG(51:2)_FA16:0	-0,31	-0,84	-0,89	-0,25	0,66	0,00
TG(51:2)_FA16:1	-1,55	0,57	0,17	-0,07	-0,32	0,08
TG(51:2)_FA17:0	-0,59	-0,19	-0,05	0,21	0,52	-0,83
TG(51:2)_FA18:1	-0,74	1,25	0,59	0,25	0,15	1,38
TG(51:2)_FA18:2	-0,81	-0,47	-0,36	0,45	0,87	0,89
TG(51:3)_FA16:1	-0,61	-0,90	0,04	-0,06	-0,03	0,17
TG(52:0)_FA16:0	1,11	0,82	1,44	0,15	-0,22	0,11
TG(52:0)_FA18:0	0,43	0,86	0,95	-0,28	0,45	-0,45
TG(52:0)_FA20:0	-0,04	-0,12	0,68	2,17	0,70	-0,09
TG(52:1)_FA16:0	-0,13	-0,42	1,15	-0,18	-0,92	0,48
TG(52:1)_FA16:1	-0,26	0,90	-0,08	1,45	0,46	0,14
TG(52:1)_FA18:0	-0,28	-0,03	-0,39	0,27	-0,02	0,49
TG(52:1)_FA18:1	0,06	-1,07	0,12	0,54	-0,18	0,11
TG(52:2)_FA16:0	0,32	-1,39	-1,24	0,23	0,59	0,00
TG(52:2)_FA18:0	0,06	-0,50	0,16	0,37	-0,23	0,13
TG(52:2)_FA18:1	-0,19	-1,40	0,35	1,41	-0,14	-0,90
TG(52:3)_FA16:0	0,86	-0,24	0,01	-0,20	-0,77	-0,07

Lipid	T4 a K4	T6 a K6	T8 a K8	T10 a K10	T12 a K12	T14 a K14
TG(52:3)_FA16:1	1,29	0,46	-0,54	0,47	0,16	-0,45
TG(52:3)_FA18:1	0,32	-2,02	-0,88	0,56	-0,18	-0,01
TG(52:4)_FA16:0	1,84	-0,57	-0,12	0,13	1,33	-0,06
TG(52:4)_FA18:2	0,10	0,16	0,67	0,29	-0,17	-0,25
TG(53:0)_FA16:0	0,64	-0,04	0,19	-0,43	0,18	-0,13
TG(53:2)_FA18:1	-0,46	-0,60	-0,41	-0,55	-1,21	-0,06
TG(54:0)_FA16:0	0,03	0,29	0,14	0,01	0,36	-0,50
TG(54:0)_FA18:0	-0,14	0,23	0,90	-0,63	-0,10	0,21
TG(54:1)_FA16:0	-0,04	0,01	1,93	-0,56	-0,14	-0,31
TG(54:1)_FA18:0	-0,17	-0,42	-0,52	0,46	1,15	0,01
TG(54:1)_FA18:1	0,23	2,46	0,78	0,11	0,24	-0,56
TG(54:2)_FA18:0	-0,22	-0,61	0,06	-0,82	0,96	-0,36
TG(54:2)_FA18:1	-0,02	-0,12	0,18	-0,18	0,07	0,36
TG(54:3)_FA18:0	0,74	0,39	-0,74	-0,68	0,21	0,05
TG(54:3)_FA18:1	2,04	-0,10	0,52	-0,66	0,68	0,05
TG(54:4)_FA18:1	0,98	0,58	0,43	0,55	0,11	-0,29
TG(54:4)_FA18:2	0,98	0,14	0,48	0,00	0,02	-0,49
TG(54:5)_FA18:1	0,05	-0,76	-0,81	-0,31	0,38	-0,23
TG(54:5)_FA18:2	-0,28	0,44	0,74	0,03	0,45	-0,50
TG(54:6)_FA18:2	0,64	0,13	-0,11	0,00	0,16	0,18
TG(56:0)_FA16:0	-0,20	0,45	0,21	0,15	0,18	0,32
TG(56:1)_FA16:0	0,35	-0,12	0,35	0,82	0,04	0,08
TG(56:3)_FA20:1	0,38	-0,28	1,67	0,17	-0,41	0,78
TG(57:2)_FA16:1	-0,14	0,68	0,57	-0,11	-0,31	-2,24
TG(58:0)_FA16:0	0,42	0,22	0,42	0,30	-0,23	-0,07
TG(58:0)_FA18:0	-0,09	0,20	0,44	0,09	-0,11	0,07
TG(58:1)_FA16:0	-0,75	0,66	0,66	0,02	-1,20	0,17
TG(58:2)_FA16:1	0,03	0,18	0,41	0,07	-0,62	-0,57
TG(60:2)_FA18:1	-0,31	0,02	-0,21	0,45	-0,39	1,39
TG(e)(48:0)_FA16:0	0,67	0,25	-0,32	0,17	-0,59	0,30
TG(e)(50:0)_FA16:0	-0,16	0,20	-0,65	0,61	-0,05	0,34
TG(e)(50:1)_FA16:0	0,09	1,05	-0,53	0,34	-0,11	0,64
TG(e)(52:1)_FA18:1	0,23	0,20	0,72	0,72	-0,22	0,22
TG(e)(54:2)_FA18:1	-0,97	-0,42	0,34	-0,04	-0,49	0,25
TG(p)(48:1)_FA16:0	-0,70	0,22	0,79	0,08	0,26	0,64
TG(P)(52:1)_FA16:0	-0,37	0,56	-0,21	-0,09	-0,78	0,11
TG(P)(52:2)_FA16:0	0,11	0,39	0,54	-0,15	0,01	-1,31

Cer – ceramidy, DG – diacylglyceroly, FA – mastné kyseliny, Hex2Cer – dihexosylceramidy, LPC – lysofosfatidylcholíny, LPC-O – ethericky vázané lysofosfatidylcholíny, LPE – lysofosfatidylethanolaminy, LPE-O – ethericky vázané lysofosfatidylethanolaminy, PC – fosfatidylcholíny, PC-O – ethericky vázané fosfatidylcholíny, PE – fosfatidylethanolaminy, PE-O – ethericky vázané fosfatidylethanolaminy, PI – fosfatidylinositoly, PS – fosfatidylseriny, SM – sfingomyeliny, TG – triacylglyceroly.

V závorce (x:y-z) znamená x počet uhlíků, y počet dvojných vazeb a z pořadí přechodu.

Příloha 4 Teplotní mapa charakterizující změny hladin lipidů identifikované cílenou lipidomickou analýzou mozkomíšního moku u kontrolních (K) nebo transgenických (T) potkanů různého stáří. Kvantitativní stránka datového souboru je zde vyjádřena pomocí barevné škály na základě hodnoty p-value.

Lipid	T4 a T6	T4 a T8	T4 a T10	T4 a T12	T4 a T14	K4 a K6	K4 a K8	K4 a K10	K4 a K12	K4 a K14
Cer(32:2-1)_d16:0/16:2	0,37	-1,02	0,25	-0,66	0,67	-0,99	-0,19	-0,55	-0,57	0,08
Cer(40:2-4)_d18:1/22:1	0,37	4,95	7,46	8,36	7,99	0,75	1,13	1,41	4,25	2,94
Cer(40:3-2)_d20:0/20:3	-0,27	0,32	0,03	0,24	0,13	-0,16	1,02	-0,33	-0,58	-0,27
Cer(42:2-3)_d18:1/24:1	1,70	5,70	9,22	11,59	11,67	0,83	2,44	2,66	5,59	4,72
Cer(44:0-2)_d20:0/24:0	-0,03	-0,21	0,20	-0,05	-0,62	-0,08	-0,34	-0,04	-0,07	-0,10
DG(31:1-6)_DG(15:0/16:1)	-0,54	-0,38	-0,14	-0,27	-0,15	0,24	-0,37	0,53	0,33	-0,22
DG(32:0-7)_DG(16:0/16:0)	0,30	0,97	0,54	0,36	-0,43	-0,32	-0,31	0,20	-0,46	0,19
DG(33:1-8)_DG(16:1/17:0)	-0,06	0,10	0,12	0,10	0,38	-0,64	-0,20	0,21	-0,99	-1,16
DG(33:3-4)_DG(16:1/17:2)	-0,39	-0,14	-0,24	0,03	-0,05	-0,67	-0,15	-0,14	-0,87	-0,89
DG(34:0-7)_DG(16:0/18:0)	-0,52	0,72	0,93	0,64	-0,19	-0,06	-0,47	0,35	0,17	0,01
DG(36:0-9)_DG(18:0/18:0)	0,76	0,33	0,92	0,42	-0,40	-0,06	0,16	0,77	0,03	0,50
DG(36:2-8)_DG(18:1/18:1)	0,59	1,64	0,25	0,46	0,97	-0,02	0,26	0,51	0,34	-0,12
DG(40:5-1)_DG(18:0/22:5)	1,90	0,84	0,60	0,55	0,80	-0,34	0,46	-0,03	-0,98	-0,01
FA-12:0	-0,51	0,86	-0,07	0,47	0,47	-0,12	-0,25	0,70	0,28	0,02
FA-14:0	0,93	1,64	0,75	0,91	0,73	-0,46	-0,85	0,32	0,21	0,09
FA-15:0	-0,65	-1,00	-0,11	-0,21	-0,05	-0,69	-1,03	0,22	0,49	0,42
FA-16:0	0,50	1,99	0,26	0,51	0,74	-0,32	-0,84	-0,22	-0,01	-0,01
FA-16:1	0,04	0,09	-0,70	-0,27	0,34	-0,88	-0,68	-0,62	-0,48	0,28
FA-16:2	-0,86	-0,07	-0,45	-0,50	0,38	-1,52	-0,65	-1,37	-1,20	-1,21
FA-17:0	1,09	1,52	-0,55	0,66	0,27	-0,96	-1,37	-0,12	-0,95	-0,61
FA-17:2	-0,74	0,24	-0,43	-0,23	-0,07	-0,57	0,02	-1,01	-0,55	-0,92
FA-18:0	-0,99	1,95	-0,71	-0,63	0,61	-0,33	-0,69	0,33	-0,22	0,09
FA-18:2	0,06	-0,21	-0,07	-0,44	0,51	-0,08	-0,43	-0,55	-0,30	-0,30
FA-20:0	1,26	1,31	0,77	0,66	0,20	0,12	-0,26	0,60	0,21	0,52
FA-20:1	-0,34	-0,39	-0,12	-0,54	0,69	0,19	0,79	-0,36	0,02	0,01

Lipid	T4 a T6	T4 a T8	T4 a T10	T4 a T12	T4 a T14	K4 a K6	K4 a K8	K4 a K10	K4 a K12	K4 a K14
Hex2Cer(42:2-3)_d20:1/22:1	0,11	0,41	-0,82	-0,36	0,49	-0,06	0,20	0,40	0,50	0,29
HexCer(40:2-4)_d18:1/22:1	1,91	7,87	7,66	11,24	11,76	0,42	1,09	1,26	3,85	3,31
HexCer(42:2-2)_d18:1/24:1	1,47	6,09	8,73	11,48	11,99	1,91	3,43	3,85	7,35	6,21
HexCer(42:3-3)_d18:2/24:1	2,61	7,35	7,36	8,50	8,90	0,61	2,61	2,27	4,49	3,69
LPC(15:0-1)	-0,50	-0,45	-0,01	-0,13	0,01	-0,15	-0,57	-0,03	-0,01	-0,27
LPC(16:0)	-0,33	0,54	3,25	3,56	2,53	0,25	0,10	0,21	1,39	1,07
LPC(17:0)	-0,22	1,71	5,04	6,14	4,55	0,10	0,07	1,05	1,02	1,03
LPC(18:0)	-0,29	0,82	3,96	4,43	3,76	0,02	0,76	0,77	2,25	2,20
LPC(18:1)	-0,32	0,94	3,56	4,75	4,24	0,30	0,23	0,29	1,59	0,75
LPC(18:2)	-0,58	-0,97	0,10	0,15	0,02	0,16	0,06	0,15	0,28	0,20
LPC(18:4-1)	-0,53	0,12	-0,28	0,43	0,29	0,17	-0,05	0,26	-0,07	-0,52
LPC(18:4-2)	0,02	-0,94	-0,05	-0,13	-0,08	0,13	0,19	0,31	0,32	0,33
LPC(20:0)	-0,03	3,59	6,14	8,29	7,81	0,06	0,40	0,83	1,93	2,22
LPC(20:1)	-0,18	1,39	4,47	4,85	3,66	-0,23	0,46	0,41	1,69	1,82
LPC(20:3)	0,57	-0,80	-0,73	-1,07	0,19	0,39	-0,20	0,53	0,37	-0,15
LPC(20:4)	0,98	0,14	1,34	2,12	1,27	-0,13	0,53	0,78	1,93	0,74
LPC(22:0)	-0,14	4,01	6,87	10,00	11,35	1,05	1,46	1,08	4,65	4,19
LPC(22:6)	-0,68	0,06	1,05	2,42	1,95	0,37	-0,17	0,18	2,04	0,49
LPC(24:0)	1,39	6,41	6,60	10,43	12,72	0,03	0,02	0,84	2,98	2,95
LPC(26:0)	-0,34	-0,66	-0,02	-0,02	-1,75	0,61	-0,12	0,30	0,60	0,23
LPC-O(16:0)	-0,46	-0,37	-0,07	-0,23	0,06	-0,08	-0,80	-0,15	-0,01	0,31
LPC-O(18:0)	-0,26	1,00	3,35	3,67	2,87	-0,79	-0,05	0,06	1,38	1,10
LPE(15:0)	-0,20	0,01	-0,15	-0,03	0,32	-0,64	-0,40	-0,50	-0,02	-0,21
LPE(18:0)	-1,44	0,18	4,20	4,02	5,18	-0,03	0,40	-0,21	1,11	0,48
LPE-O(18:0)	-0,11	0,05	-0,04	-0,13	0,25	0,55	0,33	0,20	0,84	0,77
LPE-O(18:1)	-0,03	-0,82	-0,65	-1,07	-0,32	0,23	-0,71	0,14	0,63	0,07
LPE-O(18:2)	0,26	-1,22	-0,42	-1,11	0,05	0,36	0,10	0,63	0,43	0,12
PC(21:0)	0,37	4,20	6,53	10,16	10,46	0,01	-0,14	0,90	3,89	2,72

Lipid	T4 a T6	T4 a T8	T4 a T10	T4 a T12	T4 a T14	K4 a K6	K4 a K8	K4 a K10	K4 a K12	K4 a K14
PC(28:0)	-0,37	1,06	4,04	3,57	7,30	0,10	0,22	0,16	0,27	0,41
PC(28:1)	0,48	2,00	6,37	6,93	10,18	0,11	0,28	0,17	3,23	1,69
PC(29:0)	1,37	3,23	6,46	7,32	7,11	1,04	0,06	1,00	1,04	1,87
PC(29:1)	-0,10	0,56	3,30	4,17	3,59	0,82	1,05	0,98	1,31	1,31
PC(30:0)	0,77	2,76	7,60	8,34	9,82	0,12	0,09	0,85	3,52	2,72
PC(30:1)	0,88	5,18	7,55	9,72	11,20	0,02	0,60	1,35	3,40	3,15
PC(30:2)	1,00	2,66	6,29	6,80	7,28	0,05	-0,03	0,35	2,32	1,71
PC(31:0)	0,30	3,75	7,27	8,54	10,37	0,09	1,30	1,35	3,50	2,68
PC(31:1)	0,83	4,95	8,26	9,28	9,15	-0,43	-0,35	0,88	2,70	2,82
PC(32:0)	0,07	1,99	7,99	7,06	9,73	0,31	1,00	1,18	3,58	2,60
PC(32:1)	0,40	3,03	7,82	8,76	11,93	0,13	0,34	1,29	3,65	3,17
PC(32:2)	0,05	1,95	7,18	7,07	7,76	0,14	0,96	0,90	3,28	2,04
PC(33:0-1)	1,47	5,00	8,18	11,10	11,16	0,00	0,34	0,60	4,10	4,02
PC(33:1)	1,83	5,61	7,12	10,90	13,37	0,12	0,70	1,37	4,82	3,75
PC(33:2)	3,04	5,15	8,88	10,01	12,20	0,12	0,38	1,03	2,70	2,53
PC(33:3)	0,36	-0,32	0,04	0,60	0,39	0,53	0,02	-0,06	0,98	-0,22
PC(33:4)	0,27	-0,03	0,42	-0,40	0,60	0,04	-0,35	0,67	0,48	0,07
PC(33:6)	0,35	-0,64	0,26	0,07	0,06	-0,01	-0,11	-0,01	-0,19	0,15
PC(34:0)	0,28	0,35	4,73	3,54	3,78	0,34	0,58	0,96	3,37	1,68
PC(34:1)	0,06	3,52	7,07	8,77	13,85	0,29	1,10	1,68	4,32	3,50
PC(34:2)	-0,74	0,47	2,29	2,54	2,23	0,14	0,81	0,32	1,43	1,39
PC(34:3-1)	0,38	-1,17	-1,29	-1,49	-0,38	0,44	0,22	1,27	1,41	0,50
PC(34:3-2)	-0,09	-0,36	-0,09	-0,56	-0,48	0,46	-0,79	-0,16	0,82	-0,02
PC(34:4)	-0,57	-0,28	4,54	4,38	3,98	0,26	0,15	0,35	2,26	1,42
PC(35:1)	1,17	5,51	6,90	10,87	13,85	0,63	2,17	3,27	5,03	5,36
PC(35:2)	1,47	4,99	6,76	10,90	14,06	0,16	0,64	1,41	4,74	4,02
PC(35:4)	-0,19	-0,14	-0,14	0,14	0,01	0,56	-0,22	1,56	0,18	-3,73
PC(35:5-1)	1,22	2,80	6,29	7,06	7,08	0,94	-0,04	1,45	1,96	1,77

Lipid	T4 a T6	T4 a T8	T4 a T10	T4 a T12	T4 a T14	K4 a K6	K4 a K8	K4 a K10	K4 a K12	K4 a K14
PC(36:0)	-0,33	1,17	4,10	5,43	3,77	0,32	-0,12	0,56	1,69	1,35
PC(36:1-1)	0,20	3,61	8,25	8,91	12,71	0,36	1,02	1,65	4,33	3,27
PC(36:2-1)	-0,23	2,71	6,90	7,44	7,24	0,23	1,38	1,03	3,29	2,91
PC(36:2-2)	-0,14	2,90	7,15	8,08	7,01	0,38	1,25	1,06	3,14	2,63
PC(36:3-1)	0,11	1,18	2,86	2,99	3,12	0,32	0,50	0,14	2,27	1,84
PC(36:4-1)	-0,40	0,60	5,08	5,18	5,09	0,27	1,12	0,94	3,24	2,30
PC(36:4-2)	-0,43	0,46	4,51	4,70	4,38	0,38	1,22	1,04	3,22	2,38
PC(36:5)	-0,17	-0,06	2,94	3,62	3,97	0,04	0,09	0,39	1,31	1,52
PC(37:1-1)	1,75	4,97	6,97	10,72	14,90	0,05	1,30	2,61	5,12	5,19
PC(37:2-1)	2,31	5,07	7,97	11,43	12,35	1,41	2,25	4,76	6,74	6,74
PC(37:4)	-0,10	3,33	6,54	7,61	6,96	0,42	1,60	1,57	3,35	2,86
PC(37:5)	0,86	3,81	7,02	7,63	8,26	0,60	0,00	1,08	0,98	2,03
PC(38:1-1)	0,61	4,87	7,38	9,93	10,70	0,49	1,21	1,72	4,06	3,54
PC(38:2-1)	0,42	6,04	7,61	10,38	11,57	0,22	0,83	1,55	4,25	3,38
PC(38:4-1)	-0,38	0,21	3,18	3,79	3,09	0,35	0,94	0,70	2,35	1,83
PC(38:4-2)	0,25	0,28	3,26	3,63	3,39	0,15	0,83	0,59	2,03	1,56
PC(38:5-1)	-3,33	2,94	4,01	3,62	2,64	-0,60	3,00	0,44	2,47	0,39
PC(38:6-1)	0,16	0,09	5,42	4,57	5,97	0,46	0,86	1,68	3,85	2,97
PC(38:6-2)	0,11	0,07	5,78	4,58	6,40	0,71	1,09	1,82	3,84	2,90
PC(38:7-1)	-0,34	-0,29	3,08	2,68	3,63	0,63	0,61	1,37	2,99	2,46
PC(39:6)	-0,13	1,12	2,66	3,66	4,27	1,02	0,85	1,03	2,18	2,16
PC(39:7)	1,22	4,88	6,28	9,45	11,74	-0,04	-0,06	0,81	2,61	2,66
PC(40:1-1)	1,56	6,70	7,76	11,07	11,04	-0,10	0,41	1,01	3,11	2,93
PC(40:2-1)	1,02	5,15	7,53	8,28	7,54	0,54	1,11	4,13	5,35	4,16
PC(40:4-1)	0,37	1,69	6,00	5,70	6,63	0,12	1,20	0,56	2,86	1,65
PC(40:4-2)	0,05	2,64	6,91	6,46	6,85	-0,04	1,64	0,83	3,68	1,65
PC(40:5-1)	-1,74	2,14	2,62	3,07	1,96	-0,99	1,49	0,01	0,91	0,16
PC(40:5-3)	-2,12	1,55	2,38	1,95	-0,13	-0,44	2,61	-0,23	1,18	0,18

Lipid	T4 a T6	T4 a T8	T4 a T10	T4 a T12	T4 a T14	K4 a K6	K4 a K8	K4 a K10	K4 a K12	K4 a K14
PC(40:6-1)	0,21	0,24	3,69	2,66	3,35	0,68	1,19	1,39	3,41	2,55
PC(40:6-2)	0,23	0,06	4,27	3,05	3,82	0,71	1,04	1,36	2,86	2,29
PC(40:7)	0,12	0,26	4,34	3,55	4,63	0,48	0,86	1,31	3,33	2,66
PC(41:1)	2,40	7,31	8,71	12,78	13,00	1,21	3,57	4,75	7,74	6,61
PC(42:1)	2,78	7,76	7,84	11,49	11,39	0,07	0,66	1,99	4,21	3,47
PC(42:10)	0,21	0,07	2,92	2,07	2,77	0,40	0,91	1,20	2,89	1,63
PC(42:2-1)	1,17	5,75	7,83	11,42	12,34	0,70	1,90	2,46	4,92	4,40
PC(42:4)	0,20	5,68	9,57	9,78	8,86	-0,30	0,35	0,50	2,98	1,86
PC(42:5-1)	-0,34	2,74	3,95	4,19	4,40	0,05	1,04	1,50	2,64	1,14
PC(42:5-2)	0,56	5,83	6,96	10,26	9,59	0,16	0,62	0,57	2,18	0,82
PC(42:7)	-0,02	0,98	3,97	3,32	5,92	0,04	0,61	0,75	2,51	1,72
PC(42:8)	-0,58	0,64	3,07	2,76	2,54	0,18	2,26	1,12	1,20	2,25
PC(43:4)	0,20	3,94	7,45	9,34	8,64	0,06	2,14	2,25	3,81	4,15
PC(44:1)	2,11	3,77	3,29	6,67	7,32	0,02	0,44	0,45	0,77	0,30
PC(44:12)	0,03	0,43	4,63	5,10	5,61	0,72	0,75	1,51	2,94	2,10
PC(44:2)	0,41	4,63	6,54	8,82	9,83	0,82	0,85	1,70	3,01	3,50
PC(44:4)	1,09	4,10	8,54	10,76	8,92	0,31	1,60	1,95	4,70	2,92
PC(44:5)	0,54	2,38	7,40	10,15	10,28	1,68	2,53	3,14	5,89	4,82
PC-O(26:0)	0,24	-0,97	-0,32	0,07	-0,38	0,39	-0,37	0,68	1,02	0,34
PC-O(30:0)	0,34	3,11	4,88	7,12	7,33	-0,79	0,30	-0,14	1,52	0,82
PC-O(32:0)	0,45	5,57	6,86	9,97	11,01	0,17	0,78	0,98	3,20	3,26
PC-O(32:1-1)	2,13	6,03	7,13	10,41	12,81	0,49	-0,57	2,19	4,42	4,13
PC-O(32:1-2)	1,26	4,44	7,73	9,01	9,23	0,20	0,88	0,95	3,27	2,07
PC-O(32:2)	1,87	4,96	6,55	11,94	11,13	0,09	0,01	0,53	2,27	1,96
PC-O(32:3)	0,30	0,55	4,22	4,32	3,90	0,16	0,28	0,57	0,79	0,47
PC-O(33:1-1)	0,27	1,44	8,57	8,00	9,95	0,55	0,61	1,62	3,69	2,66
PC-O(33:2-1)	0,06	1,71	6,56	6,56	7,14	0,59	1,19	1,61	3,29	2,15
PC-O(33:4)	0,57	-0,50	-0,76	-0,45	-0,22	-0,03	-0,08	-0,13	-0,05	-0,23

Lipid	T4 a T6	T4 a T8	T4 a T10	T4 a T12	T4 a T14	K4 a K6	K4 a K8	K4 a K10	K4 a K12	K4 a K14
PC-O(34:0)	0,22	2,93	6,42	10,55	10,07	0,16	0,43	1,39	4,32	2,62
PC-O(34:1-1)	1,76	5,50	6,66	10,28	13,30	0,09	0,87	1,55	5,22	4,11
PC-O(34:1-2)	0,08	1,38	3,17	2,71	2,97	-0,14	0,02	-0,34	1,35	1,29
PC-O(34:2-1)	2,62	5,25	6,00	10,22	11,87	-0,50	0,12	-0,11	2,48	3,28
PC-O(34:2-2)	1,68	5,13	7,47	10,81	13,99	0,50	0,84	2,45	5,24	4,76
PC-O(34:3-1)	0,14	1,83	4,24	5,79	7,84	0,36	-0,31	0,72	2,02	0,86
PC-O(34:3-2)	0,92	2,84	4,94	6,66	6,24	0,25	0,04	1,94	1,89	1,10
PC-O(34:4-1)	0,10	0,49	-0,26	-1,05	-0,27	-0,07	-0,78	-0,12	-0,19	-0,01
PC-O(34:4-2)	0,60	0,01	0,21	0,00	0,01	0,46	0,05	0,33	0,39	0,12
PC-O(34:5-1)	0,57	-0,35	0,09	-0,14	-0,08	0,02	-0,35	0,01	0,61	0,16
PC-O(34:5-2)	0,69	0,41	0,03	0,07	0,39	-0,69	-2,11	-0,54	0,21	-0,56
PC-O(35:1-1)	2,30	6,87	8,48	9,12	11,09	0,38	3,10	2,14	2,67	3,75
PC-O(35:2-1)	0,25	3,64	6,82	7,83	7,33	0,11	1,56	1,61	3,37	1,65
PC-O(35:3)	-0,24	0,31	2,32	3,27	3,57	0,18	0,65	0,69	0,62	1,38
PC-O(35:4)	-0,45	-0,17	0,02	-0,14	-0,49	0,21	-0,16	-0,16	0,79	0,15
PC-O(35:5)	-0,10	-1,13	-1,07	-2,18	-2,01	0,56	0,28	2,06	1,92	-0,20
PC-O(36:1-1)	1,27	4,71	6,71	11,15	13,36	0,35	0,08	2,39	4,38	4,61
PC-O(36:1-2)	1,40	4,76	6,00	10,46	12,70	-0,04	0,35	1,29	3,94	3,39
PC-O(36:2-1)	1,83	4,74	7,75	10,87	14,30	0,27	1,00	1,63	4,70	3,96
PC-O(36:2-2)	0,82	5,50	8,39	10,15	11,88	0,22	1,17	2,30	4,70	4,19
PC-O(36:3-1)	2,28	5,91	7,56	10,64	15,20	0,58	2,49	3,60	6,81	6,23
PC-O(36:3-2)	3,09	5,79	8,18	11,42	15,22	0,23	1,75	3,14	6,25	5,65
PC-O(36:5-1)	0,47	3,88	7,29	9,79	10,78	-0,10	0,86	1,13	3,90	2,95
PC-O(36:5-2)	0,23	3,38	5,90	9,30	10,96	0,01	1,10	1,34	4,01	3,17
PC-O(36:6-2)	0,11	2,65	6,89	8,11	11,39	0,18	0,89	1,22	3,46	2,55
PC-O(36:7)	1,33	3,27	5,63	6,45	6,14	1,66	3,16	4,21	5,59	4,86
PC-O(37:1-1)	0,14	2,01	4,53	6,47	5,90	0,26	0,64	1,37	2,36	1,49
PC-O(37:2-1)	1,06	0,76	2,75	3,14	2,04	0,27	0,11	0,84	2,37	1,45

Lipid	T4 a T6	T4 a T8	T4 a T10	T4 a T12	T4 a T14	K4 a K6	K4 a K8	K4 a K10	K4 a K12	K4 a K14
PC-O(37:4)	-0,05	-0,04	0,64	-0,20	0,56	0,00	-0,66	-0,20	0,29	0,83
PC-O(38:1-1)	0,33	5,11	7,79	10,02	9,79	0,11	0,65	0,58	2,61	2,11
PC-O(38:2-1)	1,20	5,38	7,88	8,52	7,96	0,06	2,07	2,83	3,97	3,70
PC-O(38:3-1)	1,53	5,60	8,36	9,57	8,96	0,90	2,71	5,38	7,39	7,43
PC-O(38:3-2)	2,82	5,65	9,49	12,97	15,20	1,88	3,98	6,29	8,52	8,37
PC-O(38:4-1)	0,81	5,31	7,96	9,82	8,88	-0,04	0,77	1,34	3,37	2,82
PC-O(38:4-2)	0,50	5,18	8,08	9,80	9,45	-0,44	0,76	0,47	2,56	3,05
PC-O(38:5-1)	1,49	4,72	6,82	10,44	11,65	-0,14	0,55	1,50	3,41	3,30
PC-O(38:5-2)	-0,31	1,31	6,65	6,09	6,22	0,23	0,85	1,13	2,62	2,30
PC-O(38:6-1)	0,92	4,14	5,73	8,80	11,63	0,14	0,48	1,24	3,35	3,04
PC-O(38:6-2)	0,79	3,15	7,08	8,24	8,96	-0,20	0,23	0,35	2,57	1,94
PC-O(38:7)	0,16	1,46	6,59	6,76	7,05	0,85	0,75	1,31	3,71	2,66
PC-O(40:6-1)	0,11	2,65	6,49	7,52	9,71	0,21	0,54	0,30	1,87	1,29
PC-O(40:7)	0,06	0,05	6,15	3,58	5,55	0,38	0,40	0,70	2,57	1,94
PE(34:1)	0,09	-0,22	6,29	4,09	5,80	0,41	1,49	1,64	3,57	2,13
PE(34:2)	-1,52	-1,78	-0,11	0,00	-0,12	0,12	-0,12	1,22	1,42	0,40
PE(34:3-1)	-0,61	-0,43	-0,49	-1,09	-0,88	0,82	0,61	0,41	0,61	0,85
PE(34:3-2)	0,55	0,17	0,05	0,20	0,19	-0,23	-0,04	1,12	0,85	0,39
PE(36:1-1)	-0,01	1,96	4,12	3,79	3,69	0,31	0,17	0,45	1,76	1,25
PE(36:2-1)	0,06	0,34	4,93	5,14	4,54	0,78	1,81	1,84	3,42	2,69
PE(36:4)	-0,99	-0,31	2,25	2,92	1,30	-0,47	1,53	0,46	3,66	0,94
PE(38:4-1)	-1,21	-0,68	1,05	0,85	1,03	0,48	1,90	0,52	3,61	2,20
PE(38:4-3)	-0,93	-0,94	1,71	1,32	0,85	0,75	2,41	1,16	2,39	1,25
PE(38:5-1)	-0,66	0,14	2,84	3,12	2,40	0,38	0,71	1,38	3,38	2,30
PE(38:6)	-0,51	-0,55	4,31	2,69	4,92	0,04	0,36	1,57	3,15	2,42
PE(39:6)	0,02	0,77	2,23	3,30	3,36	0,03	-0,07	0,07	1,51	0,56
PE(39:7)	-0,31	0,77	2,99	3,82	4,56	0,75	1,20	1,14	4,00	1,37
PE(40:6-1)	0,08	0,07	2,84	4,06	5,21	0,13	0,87	0,97	4,12	1,74

Lipid	T4 a T6	T4 a T8	T4 a T10	T4 a T12	T4 a T14	K4 a K6	K4 a K8	K4 a K10	K4 a K12	K4 a K14
PE(40:7)	-0,82	-0,61	2,00	1,34	2,86	0,32	0,31	1,10	2,18	0,76
PE-O(34:1)	-0,11	0,43	-0,44	1,38	1,39	-0,39	-0,04	0,26	0,57	-0,11
PE-O(34:2-1)_16:0p/18:1	0,26	-0,44	3,87	4,73	4,28	0,30	0,15	0,06	1,16	1,75
PE-O(36:2)	0,15	1,77	3,63	2,50	2,48	-1,40	-0,17	0,20	-0,30	-0,28
PE-O(36:2-2)_18:0p/18:1	0,36	1,24	4,89	4,41	4,94	-0,08	0,28	0,93	2,22	1,56
PE-O(36:3-4)_18:1p/18:1	0,63	2,74	7,08	6,58	6,27	0,60	1,66	1,50	3,24	2,59
PE-O(36:4)	0,10	0,77	1,03	1,42	1,84	-0,14	0,38	0,86	-0,11	-0,07
PE-O(36:5-1)_16:0p/20:4	0,07	0,71	3,31	3,68	2,88	-0,11	0,90	-0,30	1,55	-0,59
PE-O(38:5-1)_16:0p/22:4	0,27	-0,03	1,67	1,29	1,51	0,17	-0,14	-0,23	2,22	0,70
PE-O(38:5-2)_18:0p/20:4	-0,43	0,88	3,42	3,10	2,22	0,01	0,46	0,23	0,77	-0,10
PE-O(38:6)	-0,28	0,33	3,17	3,75	4,21	0,46	0,26	1,48	3,13	2,05
PE-O(40:4)	0,16	1,22	1,82	1,62	1,87	0,79	1,79	1,99	1,02	0,39
PE-O(40:5-1)_18:0p/22:4	-0,18	1,00	1,29	0,75	0,29	0,59	1,01	1,41	3,13	0,81
PE-O(40:6)	-0,01	-1,45	1,64	1,42	1,46	0,25	0,35	0,74	1,38	1,50
PE-O(40:6-6)_18:1p/22:4	-0,19	1,02	3,08	3,83	3,31	0,52	0,07	-0,08	0,71	0,36
PE-O(40:7-2)_18:0p/22:6	0,25	-0,72	2,42	1,85	2,09	1,00	1,18	0,97	2,76	1,95
PE-O(40:8-1)_18:1p/22:6	0,03	0,98	4,64	4,28	4,46	0,66	0,78	1,39	3,09	2,51
PI(33:0)	1,03	-0,15	0,00	1,31	1,00	0,28	-0,80	-0,33	-0,72	0,47
PI(33:1)	0,31	0,32	-0,33	0,06	-0,09	0,58	-0,19	0,52	0,52	1,66
PI(38:4)_PI(18:0/20:4)	-0,31	1,32	6,64	6,18	5,80	-0,42	1,14	0,70	2,51	1,91
PI(38:4-3)	-0,13	1,65	6,40	6,36	6,24	0,35	0,98	1,04	3,16	2,86
PI(40:6-1)	0,36	2,73	6,25	5,89	5,74	1,35	0,46	2,46	3,86	2,50
PS(36:1-1)	0,84	0,70	-0,63	0,88	0,80	-0,46	-0,20	-0,56	-0,36	-0,16
PS(38:4-1)	-0,75	-0,54	-0,07	0,81	0,52	-0,08	0,07	0,29	1,04	0,90
PS(40:6-2)	0,24	0,18	4,28	3,40	3,05	0,39	0,53	1,07	2,74	1,89
SM(33:1)	-0,15	1,89	6,16	6,53	6,83	0,21	0,21	0,13	1,04	1,46
SM(34:0)	0,70	2,83	5,52	6,69	6,32	0,55	0,60	0,56	4,64	2,95
SM(34:1)	0,71	4,43	5,89	9,61	11,78	0,15	0,61	1,11	3,64	3,11

Lipid	T4 a T6	T4 a T8	T4 a T10	T4 a T12	T4 a T14	K4 a K6	K4 a K8	K4 a K10	K4 a K12	K4 a K14
SM(34:2)	0,77	3,56	6,45	7,87	7,88	0,17	0,42	0,81	2,62	1,91
SM(34:4)	-0,10	0,01	-0,56	0,21	-0,10	0,30	0,08	0,46	0,79	0,01
SM(35:0)	0,63	4,41	7,88	8,94	10,69	-0,26	0,10	0,34	3,34	1,85
SM(35:1)	1,19	6,02	8,12	10,19	11,08	0,23	1,48	1,65	3,12	3,31
SM(35:4)	-0,18	-0,15	-0,01	-0,03	0,41	0,15	-0,42	0,07	-0,39	0,19
SM(36:0)	0,06	1,31	5,91	7,92	10,80	-0,13	1,02	0,98	4,00	2,55
SM(36:1)	-0,41	1,75	6,02	8,23	9,59	0,20	0,88	0,90	3,49	2,25
SM(36:2)	0,02	2,02	6,10	6,70	7,27	0,10	0,42	1,52	4,42	2,47
SM(37:0)	1,92	5,20	6,77	10,81	13,76	0,16	0,52	1,19	4,32	3,97
SM(37:1)	1,72	5,03	6,77	9,84	14,43	0,13	0,86	1,88	5,73	4,39
SM(37:3)	0,41	-0,25	-0,34	0,17	0,18	0,48	0,03	0,63	0,33	1,12
SM(38:1)	0,57	3,84	7,01	7,98	9,69	0,18	0,93	0,41	3,94	2,68
SM(38:2)	1,95	3,11	7,28	7,58	7,78	0,12	0,31	1,22	2,76	1,83
SM(38:3)	0,08	-0,83	-0,38	-1,01	-0,70	0,33	-0,87	0,19	0,47	0,03
SM(38:4)	0,06	-0,33	-0,43	-0,36	0,03	-0,38	-0,18	0,67	0,44	0,42
SM(39:0)	1,30	4,57	6,55	11,26	13,69	0,01	-0,01	1,22	4,06	2,18
SM(39:1)	1,24	4,73	6,63	10,12	14,08	0,36	1,18	1,95	4,31	3,70
SM(39:2)	1,67	5,20	8,81	12,63	13,51	0,42	2,12	3,37	5,91	5,61
SM(40:1)	0,68	2,80	5,17	6,55	6,06	-1,02	-0,14	0,06	1,22	0,87
SM(40:2)	0,72	2,44	4,55	4,79	5,28	-0,28	-1,19	0,57	1,60	1,30
SM(40:4)	-0,15	0,26	-0,21	-0,53	-0,61	0,23	-0,82	0,13	0,22	0,08
SM(40:6)	1,52	3,30	4,52	4,41	4,35	0,19	0,20	0,71	2,44	2,70
SM(41:1)	0,56	4,99	7,40	9,17	8,66	0,46	1,53	2,65	4,07	5,39
SM(42:1)	0,01	1,38	3,37	4,58	3,31	-0,22	-0,23	-0,15	1,19	0,78
SM(42:2)	1,39	5,80	6,99	10,05	12,04	0,08	1,90	2,18	5,09	3,69
SM(42:3)	0,68	4,61	6,90	8,39	8,26	0,01	0,22	1,00	3,31	2,28
SM(42:4)	-0,19	-0,18	-0,29	0,08	-0,23	0,01	0,36	0,03	0,03	0,22
SM(42:6)	-0,05	0,20	3,41	2,32	3,11	0,54	0,92	0,77	4,56	2,48

Lipid	T4 a T6	T4 a T8	T4 a T10	T4 a T12	T4 a T14	K4 a K6	K4 a K8	K4 a K10	K4 a K12	K4 a K14
SM(43:1)	0,17	2,93	4,04	5,19	4,76	0,40	0,02	-0,17	1,87	1,09
SM(43:2)	1,69	4,30	6,32	6,57	6,20	1,17	2,75	1,90	6,37	4,64
TG(40:0)_FA14:0	0,09	0,37	0,00	0,20	1,06	-1,37	-0,20	0,62	0,48	-0,26
TG(40:0)_FA16:0	-0,01	0,67	-0,13	-0,32	-0,21	0,01	0,06	0,45	0,23	0,38
TG(42:0)_FA14:0	-0,22	0,03	-0,29	-0,15	-0,08	-0,36	-0,49	-0,31	-0,04	-0,11
TG(42:0)_FA16:0	-0,63	0,05	0,06	0,10	0,52	-0,22	-0,29	-0,02	-0,13	-0,09
TG(42:1)_FA14:0	0,00	0,46	0,04	-0,09	-0,07	-0,47	0,00	0,17	0,00	-0,47
TG(42:1)_FA16:1	0,06	-0,15	-0,22	-0,89	-0,50	-0,55	-0,14	-0,25	-0,47	-0,69
TG(43:0)_FA14:0	-0,21	0,18	-0,29	-0,36	-0,67	0,46	0,00	-0,30	-0,16	-0,09
TG(43:0)_FA16:0	-0,49	0,23	-0,17	-1,42	-0,79	0,05	-0,86	0,25	-0,21	-0,64
TG(43:1)_FA16:1	-1,28	-0,31	-2,48	-0,53	-0,89	-1,02	-0,83	0,53	0,38	-0,52
TG(44:0)_FA14:0	-0,65	0,37	0,44	0,14	0,18	0,05	0,59	-0,47	0,01	0,04
TG(44:0)_FA16:0	0,43	-0,67	0,86	-0,20	0,69	-0,10	-0,02	-0,98	-1,01	-0,08
TG(44:1)_FA14:0	-0,01	-0,68	-0,04	-0,38	-1,08	-0,79	0,02	-0,11	0,06	-0,26
TG(44:1)_FA16:0	-0,14	-0,40	0,05	-0,64	-1,91	0,06	-0,52	0,15	0,07	-0,14
TG(44:1)_FA16:1	0,23	0,35	0,30	-0,67	-1,17	-0,23	-0,63	0,00	-0,05	-0,41
TG(44:1)_FA18:1	-0,56	-1,22	-0,31	-0,95	-0,14	1,15	0,07	0,10	0,79	-0,43
TG(44:2)_FA16:1	0,03	-0,29	0,50	-0,29	-0,15	-2,16	-1,36	-1,66	-1,50	-1,02
TG(45:0)_FA14:0	0,08	-0,68	-0,06	-0,21	-0,11	0,00	0,39	-0,30	-0,17	0,02
TG(45:0)_FA15:0	1,03	1,17	-0,11	0,10	-0,04	-0,43	-0,31	-0,09	-0,69	-0,21
TG(45:0)_FA16:0	0,08	-0,27	-0,81	-0,54	-1,11	0,27	-0,18	-0,12	0,47	0,52
TG(45:1)_FA16:0	-0,72	-0,29	-0,62	-0,69	-1,55	0,03	0,09	0,06	0,01	0,24
TG(45:1)_FA16:1	-0,22	0,38	-0,03	-0,03	-0,15	0,22	0,11	-0,55	0,28	-0,58
TG(45:2)_FA16:1	-1,08	-0,01	-0,11	-0,50	-0,85	-0,50	-0,34	-0,84	-0,54	-0,45
TG(46:0)_FA14:0	0,07	0,42	0,07	-0,26	0,52	0,42	0,49	-1,72	0,28	0,25
TG(46:0)_FA16:0	0,04	0,20	0,40	-0,76	0,12	-1,36	-0,95	-0,51	0,21	-0,37
TG(46:0)_FA18:0	-0,78	-0,18	-0,42	-0,52	-0,67	0,38	0,16	-0,02	-0,16	0,39
TG(46:1)_FA14:0	-0,36	-0,01	-0,16	-0,03	-0,05	-1,03	-1,11	-1,25	-0,93	-1,33

Lipid	T4 a T6	T4 a T8	T4 a T10	T4 a T12	T4 a T14	K4 a K6	K4 a K8	K4 a K10	K4 a K12	K4 a K14
TG(46:1)_FA16:0	-1,49	-0,05	0,07	-0,74	-1,02	-1,56	-0,85	-2,10	-2,32	-1,81
TG(46:1)_FA16:1	0,02	-0,14	0,50	0,17	-0,22	-0,96	-0,29	-0,52	-0,40	-0,16
TG(46:1)_FA18:1	0,68	-0,36	-0,18	0,03	0,86	-0,39	-0,02	-0,03	-0,06	-0,39
TG(46:2)_FA14:0	0,05	1,10	0,28	1,72	0,05	-0,03	-0,24	-0,11	-0,14	0,04
TG(46:2)_FA16:0	-0,39	0,54	-1,22	-0,49	-0,01	-0,03	-0,04	-0,04	-0,18	-0,55
TG(46:2)_FA16:1	-0,20	0,60	0,12	0,33	-0,01	-1,23	0,33	-0,73	-0,32	-0,37
TG(46:3)_FA16:1	-0,28	0,56	-0,56	-0,29	-0,07	0,22	-0,41	0,27	0,17	0,16
TG(47:0)_FA14:0	0,15	-0,04	1,49	0,42	0,43	0,24	0,19	0,05	0,10	0,12
TG(47:0)_FA16:0	0,79	0,08	1,21	1,61	0,49	0,81	0,37	-0,18	0,34	0,31
TG(47:0)_FA17:0	0,20	0,40	0,11	0,48	-0,28	-0,09	0,15	-0,02	0,40	0,46
TG(47:1)_FA14:0	-0,89	0,19	-0,46	0,30	-0,99	-0,62	-0,23	-0,24	-0,24	-0,07
TG(47:1)_FA16:0	0,00	0,73	0,15	0,01	0,57	-0,23	0,06	0,12	0,12	0,04
TG(47:1)_FA16:1	0,09	0,04	0,35	-0,12	-0,54	0,34	0,08	0,22	0,00	0,21
TG(47:1)_FA17:0	-0,41	-0,23	-1,36	0,30	-0,84	-2,28	-1,75	-2,28	-0,69	-1,22
TG(47:1)_FA18:1	-0,26	-0,55	-1,00	-0,34	-1,54	0,06	-0,22	-0,09	0,10	-0,18
TG(47:2)_FA15:0	-0,20	-0,04	0,31	-0,16	-0,25	-0,08	-0,53	-0,07	-0,48	-0,04
TG(47:2)_FA16:1	0,37	0,22	0,20	1,36	0,80	0,09	0,26	0,27	0,34	0,00
TG(47:3)_FA16:1	0,00	-0,03	-0,91	-0,02	-0,48	0,06	-0,15	-0,38	0,00	-0,28
TG(48:0)_FA14:0	-0,70	0,70	-0,12	0,13	0,34	-1,16	-1,54	-0,39	-0,08	-0,42
TG(48:0)_FA15:0	0,01	0,55	-0,91	1,07	0,19	-0,39	-0,18	-0,08	0,64	-0,24
TG(48:0)_FA16:0	-0,15	0,20	-0,42	0,04	-0,07	-0,01	-0,09	-0,40	0,46	0,19
TG(48:0)_FA18:0	-0,43	0,06	-0,80	0,55	-0,40	-0,28	0,18	0,14	0,32	0,03
TG(48:1)_FA14:0	-0,07	0,20	0,64	0,32	0,52	0,10	0,12	0,47	0,20	0,23
TG(48:1)_FA16:0	-0,38	1,34	0,17	0,64	-0,21	-0,15	-0,05	0,02	-0,19	-0,06
TG(48:1)_FA16:1	0,44	-0,11	0,13	0,35	-0,55	-0,53	-0,70	-0,36	-0,47	-0,51
TG(48:1)_FA18:1	0,74	0,84	0,48	-0,17	0,15	0,93	0,81	-0,67	-0,19	-0,16
TG(48:2)_FA14:0	-0,98	-0,44	-0,07	-0,99	-1,92	-0,15	0,38	0,31	0,24	-0,08
TG(48:2)_FA16:0	0,15	-0,02	-0,37	-0,32	-0,18	0,04	0,04	0,02	0,08	0,05

Lipid	T4 a T6	T4 a T8	T4 a T10	T4 a T12	T4 a T14	K4 a K6	K4 a K8	K4 a K10	K4 a K12	K4 a K14
TG(48:2)_FA16:1	0,70	1,64	0,68	0,50	0,08	0,04	0,25	0,10	0,03	0,10
TG(48:2)_FA18:1	0,06	0,12	-0,82	0,63	0,06	0,27	0,19	0,10	0,03	0,17
TG(48:3)_FA16:1	0,12	-0,19	-0,11	0,19	-0,03	-0,88	0,50	-0,75	0,18	-0,48
TG(49:0)_FA14:0	-0,78	-0,85	-1,03	-0,97	-0,52	0,11	0,55	0,31	-0,12	0,15
TG(49:0)_FA16:0	0,04	0,02	0,02	-0,83	0,36	-0,42	0,33	-0,10	-0,36	-0,34
TG(49:0)_FA17:0	0,82	0,80	0,34	0,10	0,37	0,34	-0,09	0,03	0,44	0,30
TG(49:0)_FA18:0	0,46	-0,08	-0,44	-0,04	0,02	0,21	0,16	0,03	0,09	0,06
TG(49:1)_FA16:1	-0,09	0,11	-0,14	-0,56	0,09	-0,44	-1,42	-1,31	-0,35	0,21
TG(49:1)_FA17:0	0,01	0,10	0,32	-0,54	0,23	-1,16	-0,83	0,22	-0,29	0,03
TG(49:1)_FA18:1	0,44	0,14	-0,03	0,22	0,33	0,15	-0,09	0,70	-0,02	-0,09
TG(49:2)_FA16:0	-0,13	0,14	0,11	0,15	-0,06	0,63	-1,02	0,12	-0,44	-0,24
TG(49:2)_FA16:1	0,16	0,77	-0,01	0,02	-0,77	-0,75	0,23	0,28	-1,58	0,04
TG(49:2)_FA17:1	0,34	-0,01	-0,91	-0,09	-0,52	-0,65	-0,51	-0,88	-0,47	-0,27
TG(49:2)_FA18:1	0,33	0,11	-0,24	-0,20	-0,50	-0,02	-0,03	-0,55	-0,02	-0,70
TG(50:0)_FA14:0	-0,14	0,37	0,67	0,08	-0,02	-0,28	0,53	0,00	0,33	0,66
TG(50:0)_FA16:0	0,43	1,32	0,45	1,05	0,40	0,12	-0,29	-0,61	-0,06	-0,09
TG(50:0)_FA18:0	0,71	0,22	0,26	0,55	0,56	0,75	0,22	1,97	0,63	1,60
TG(50:1)_FA14:0	0,52	0,36	0,28	0,13	0,03	-0,53	0,02	-0,57	-0,96	-0,83
TG(50:1)_FA16:0	0,47	0,83	0,49	0,27	0,00	0,09	-0,01	0,02	-0,09	-0,08
TG(50:1)_FA16:1	0,21	-0,13	0,11	-0,64	-0,73	-0,13	0,28	-0,01	0,42	-0,34
TG(50:1)_FA18:0	-0,49	0,31	-0,27	-0,25	-0,04	0,40	0,24	-0,07	0,37	0,28
TG(50:1)_FA18:1	0,14	1,58	-0,08	0,57	0,65	0,03	-0,62	-0,85	-0,52	-0,57
TG(50:2)_FA14:0	0,07	-0,27	-0,45	0,59	-0,51	0,32	0,09	0,50	0,28	0,50
TG(50:2)_FA16:0	0,06	-0,40	-0,28	0,27	-1,03	-0,20	-0,09	0,24	0,45	0,19
TG(50:2)_FA16:1	0,05	0,52	-0,19	0,64	0,01	-0,11	0,36	0,04	-0,22	-0,20
TG(50:2)_FA18:1	-1,20	-0,16	-0,38	-0,20	-0,65	-0,07	0,70	-0,07	0,19	0,64
TG(50:2)_FA18:2	-0,03	-0,05	-0,16	0,66	-0,22	-0,60	-0,57	-0,46	-0,39	-0,03
TG(50:3)_FA16:1	-1,25	0,35	-0,76	-0,60	-1,05	-0,34	-1,02	-0,91	-0,10	-0,17

Lipid	T4 a T6	T4 a T8	T4 a T10	T4 a T12	T4 a T14	K4 a K6	K4 a K8	K4 a K10	K4 a K12	K4 a K14
TG(50:3)_FA18:1	-2,63	-0,30	-1,58	-0,39	-1,39	0,19	-1,24	0,40	-0,25	0,20
TG(51:0)_FA16:0	-1,03	0,88	0,10	0,05	0,16	0,07	-0,12	-0,18	-0,29	0,20
TG(51:0)_FA17:0	-0,04	0,29	-0,13	-0,33	0,23	-0,61	-0,53	-0,49	-0,94	-0,18
TG(51:0)_FA18:0	-0,25	0,32	0,61	-0,24	0,41	0,51	0,24	-0,08	-0,80	-0,01
TG(51:1)_FA17:0	1,20	1,65	1,57	1,26	1,45	-0,26	-0,44	-0,49	0,23	-0,21
TG(51:1)_FA18:0	0,12	-0,07	0,02	0,19	0,43	-1,24	-0,53	-0,15	-0,08	-0,36
TG(51:1)_FA18:1	0,28	0,31	-0,14	0,08	0,11	-0,01	0,84	-0,02	0,06	-0,11
TG(51:2)_FA16:0	0,05	0,16	0,13	0,06	-0,06	0,18	-0,05	0,04	-0,75	0,32
TG(51:2)_FA16:1	0,28	0,43	0,83	0,31	0,56	-1,94	-1,19	0,25	-0,66	-0,59
TG(51:2)_FA17:0	-0,19	-0,04	0,27	0,83	0,08	-0,69	-0,87	-0,06	-0,38	0,06
TG(51:2)_FA18:1	0,45	0,48	1,05	0,39	0,50	-1,36	-0,91	-0,10	-0,44	-1,56
TG(51:2)_FA18:2	-0,04	-0,37	-0,16	0,16	0,27	-0,43	-1,09	-1,08	-1,52	-1,35
TG(51:3)_FA16:1	-0,40	0,04	0,29	0,05	0,05	-0,10	-0,36	0,02	-0,49	-0,72
TG(52:0)_FA16:0	-0,03	0,56	-0,21	-0,60	-0,53	0,24	-0,28	0,65	0,48	0,63
TG(52:0)_FA18:0	0,32	0,45	0,12	-0,26	0,47	-0,03	-0,23	0,15	-0,21	0,40
TG(52:0)_FA20:0	0,12	0,67	1,43	0,59	-0,15	0,05	0,00	-0,14	0,00	0,07
TG(52:1)_FA16:0	-0,86	-0,10	-0,23	-1,29	0,74	-0,05	-0,70	-0,12	-0,10	-0,05
TG(52:1)_FA16:1	0,50	0,14	0,56	0,08	0,06	-0,49	0,19	-0,89	-0,75	-0,77
TG(52:1)_FA18:0	-0,11	1,61	1,68	0,35	0,43	-0,20	0,86	0,61	-0,06	-0,37
TG(52:1)_FA18:1	-0,77	0,17	0,02	-0,61	-0,85	-0,13	0,17	-0,44	-0,51	-0,57
TG(52:2)_FA16:0	-0,01	0,13	0,53	0,79	-0,07	2,73	3,11	1,69	0,93	0,64
TG(52:2)_FA18:0	-0,28	0,32	1,03	-0,24	0,42	0,05	0,03	0,27	0,30	0,11
TG(52:2)_FA18:1	0,27	0,82	0,29	0,48	0,28	1,08	0,17	-0,83	0,26	0,76
TG(52:3)_FA16:0	-0,94	0,47	0,29	-1,88	-0,67	0,17	0,19	0,94	0,02	0,03
TG(52:3)_FA16:1	0,08	-0,66	0,07	-1,05	-1,15	0,53	1,05	-0,20	-0,14	0,35
TG(52:3)_FA18:1	-0,67	-0,62	-0,06	-0,14	-0,35	0,94	0,53	-0,05	0,36	-0,02
TG(52:4)_FA16:0	-1,37	-0,51	-0,48	0,08	-0,24	0,95	0,97	0,63	-0,14	1,47
TG(52:4)_FA18:2	-1,09	-0,47	-0,08	-0,93	-0,20	-0,52	-1,10	-0,21	-0,67	0,15

Lipid	T4 a T6	T4 a T8	T4 a T10	T4 a T12	T4 a T14	K4 a K6	K4 a K8	K4 a K10	K4 a K12	K4 a K14
TG(53:0)_FA16:0	0,03	0,04	0,09	0,30	0,28	0,50	0,27	1,23	1,36	0,98
TG(53:2)_FA18:1	-0,02	0,02	0,13	0,00	0,45	-0,02	0,13	0,12	0,31	0,02
TG(54:0)_FA16:0	0,02	0,06	0,57	0,45	-0,06	0,26	-0,17	-0,37	-0,04	0,51
TG(54:0)_FA18:0	0,07	0,63	-0,11	-0,29	0,10	-0,32	-0,73	0,38	-0,66	-0,25
TG(54:1)_FA16:0	0,04	1,14	0,63	0,18	0,21	0,00	-0,14	0,06	0,26	0,49
TG(54:1)_FA18:0	-0,24	-0,39	0,83	0,71	-0,12	-0,10	-0,21	0,39	-0,06	-0,06
TG(54:1)_FA18:1	0,96	-0,03	0,43	0,01	-0,41	-0,21	-0,36	-0,04	0,01	-0,43
TG(54:2)_FA18:0	-0,35	0,04	0,05	0,91	0,23	0,50	0,31	1,41	0,46	2,00
TG(54:2)_FA18:1	-0,76	-0,17	-0,02	-0,58	0,14	-0,30	-0,01	-0,11	-0,25	-0,14
TG(54:3)_FA18:0	0,01	-0,02	-1,38	0,15	0,44	1,43	1,85	0,29	0,66	1,44
TG(54:3)_FA18:1	-0,55	-0,08	-1,85	-0,11	-0,96	1,34	-0,64	0,81	1,15	0,63
TG(54:4)_FA18:1	0,39	0,23	-0,08	-0,42	-0,10	1,01	0,74	0,34	0,42	1,26
TG(54:4)_FA18:2	0,29	0,00	0,05	-0,60	-1,05	0,51	0,21	1,31	0,18	0,42
TG(54:5)_FA18:1	-0,61	-0,51	-0,39	0,18	-0,21	-0,17	0,06	-0,11	-0,10	-0,03
TG(54:5)_FA18:2	-0,14	-0,07	-0,18	-0,03	-0,71	-1,00	-1,10	-0,59	-0,83	-0,22
TG(54:6)_FA18:2	-0,73	-0,60	-1,95	-0,25	-0,96	-0,08	0,07	-0,48	-0,11	-0,55
TG(56:0)_FA16:0	-0,21	-0,05	-0,10	-0,30	-0,15	-1,23	-0,66	-0,74	-0,86	-0,81
TG(56:1)_FA16:0	-0,10	0,41	0,19	-0,02	0,28	0,13	0,30	-1,03	-0,28	-0,19
TG(56:3)_FA20:1	-0,65	0,46	0,06	-0,39	0,08	0,14	-0,60	-0,24	0,42	-0,38
TG(57:2)_FA16:1	-0,11	0,05	-0,61	-0,54	-1,00	-0,95	-0,91	-0,83	-0,31	-0,01
TG(58:0)_FA16:0	-0,85	-0,64	-0,41	-1,31	-0,56	-0,59	-0,97	-0,54	-0,25	0,05
TG(58:0)_FA18:0	0,33	0,04	0,24	-0,34	-0,40	-0,41	-0,36	-0,27	-0,11	-0,15
TG(58:1)_FA16:0	0,56	0,61	-0,02	-0,09	-0,13	-0,83	-0,83	-0,66	0,03	-0,73
TG(58:2)_FA16:1	-0,45	-0,04	-0,46	-0,53	-0,70	0,32	0,23	0,17	0,12	0,03
TG(60:2)_FA18:1	-0,82	-0,16	-0,76	-1,12	1,54	-1,26	-0,35	-0,50	-0,35	-0,34
TG(e)(48:0)_FA16:0	0,53	-0,34	-0,16	-0,85	-0,22	-0,56	0,64	0,91	0,48	0,03
TG(e)(50:0)_FA16:0	0,04	-0,89	0,17	0,05	0,09	0,06	0,07	0,07	0,07	0,03
TG(e)(50:1)_FA16:0	-0,16	-1,80	-0,38	-0,49	-0,47	-1,04	-0,44	-1,28	-0,24	-1,25

Lipid	T4 a T6	T4 a T8	T4 a T10	T4 a T12	T4 a T14	K4 a K6	K4 a K8	K4 a K10	K4 a K12	K4 a K14
TG(e)(52:1)_FA18:1	0,04	0,73	0,67	0,00	0,05	0,37	0,07	0,23	0,44	-0,02
TG(e)(54:2)_FA18:1	-0,10	0,54	0,49	0,86	0,72	0,32	-0,70	-0,43	0,17	0,44
TG(p)(48:1)_FA16:0	0,01	1,10	0,00	0,20	0,50	-0,89	-0,56	-0,72	-0,75	-0,86
TG(P)(52:1)_FA16:0	1,52	-0,05	0,56	0,76	1,16	0,26	-0,04	0,31	0,75	0,34
TG(P)(52:2)_FA16:0	0,38	-0,02	-0,19	-0,51	-1,00	-0,13	-0,66	-0,08	-0,22	0,00

Cer – ceramidy, DG – diacylglyceroly, FA – mastné kyseliny, Hex2Cer – dihexosylceramidy, LPC – lysofosfatidylcholin, LPC-O – ethericky vázané lysofosfatidylcholin, LPE – lysofosfatidylethanolaminy, LPE-O – ethericky vázané lysofosfatidylethanolaminy, PC – fosfatidylcholin, PC-O – ethericky vázané fosfatidylcholin, PE – fosfatidylethanolaminy, PE-O – ethericky vázané fosfatidylethanolaminy, PI – fosfatidylinositoly, PS – fosfatidylseriny, SM – sfingomyeliny, TG – triacylglyceroly.

V závorce (x:y-z) znamená x počet uhlíků, y počet dvojných vazeb a z pořadí přechodu.