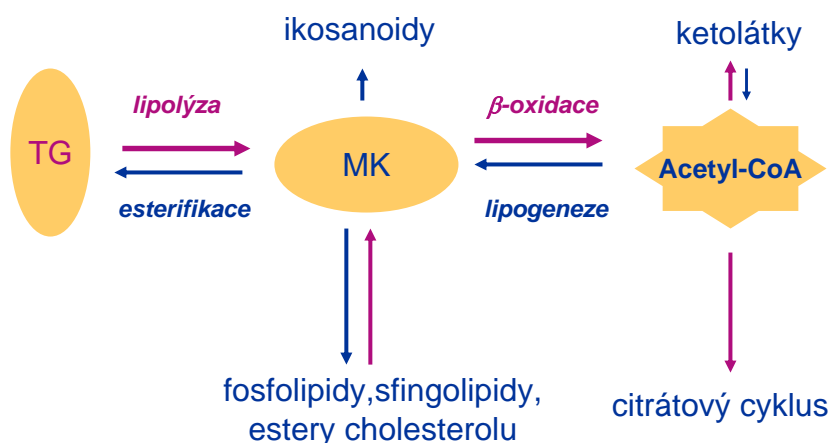


Metabolismus lipidů

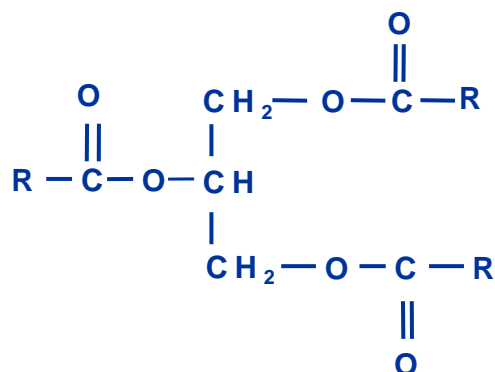
Odbourávání triacylglycerolů a mastných kyselin

Lenka Fialová
Ústav lékařské biochemie 1. LF UK

Základní přeměny triacylglycerolů (TG) a mastných kyselin (MK)



Triacylglyceroly jako zdroj energie



Triacylglyceroly poskytují zásoby metabolické energie
- jsou vysoce redukované a bezvodé
- 38 kJ/g.

Utilizace mastných kyselin

1. Mobilizace tuků

degradace TG na MK a glycerol



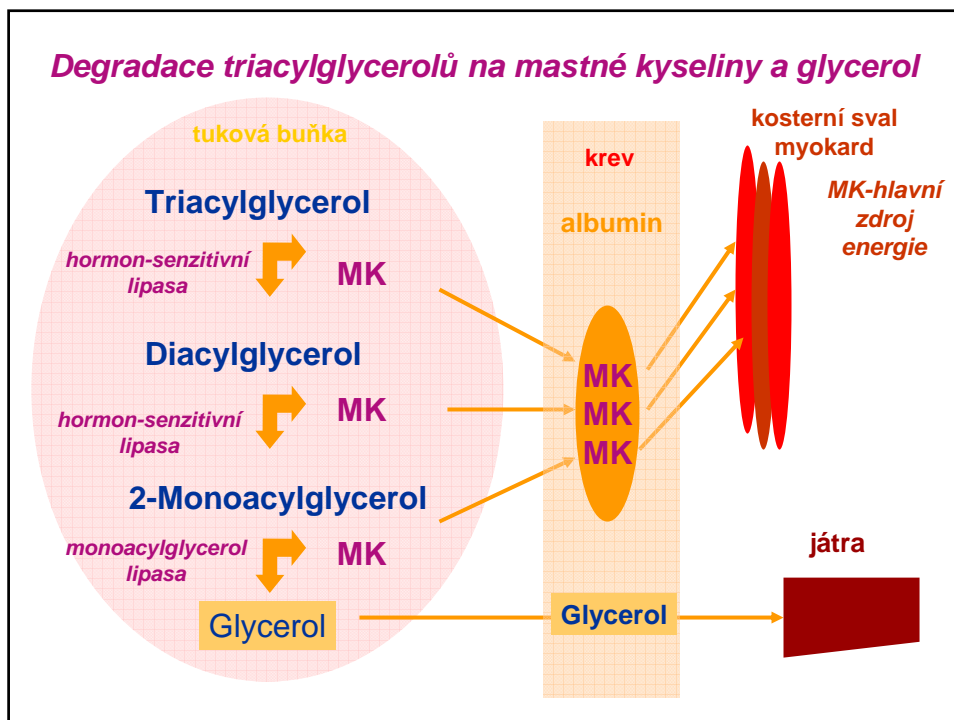
2. Aktivace MK

3. Transport MK do mitochondrií

4. Vlastní odbourávání MK

1. Mobilizace tuků

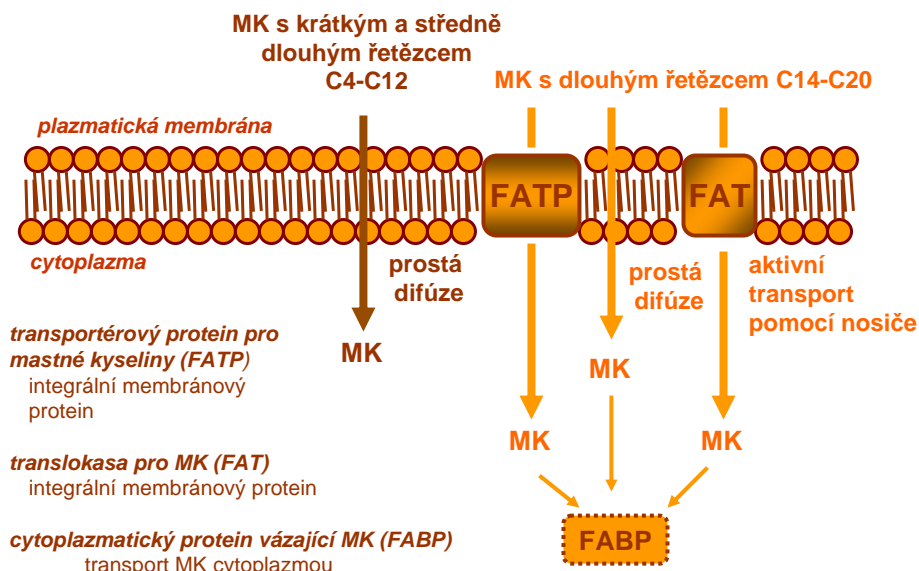
- probíhá během lačnění, při intenzivní fyzické námaze a jako odpověď na stres
- **hormonálně regulována** (pomocí podobných mechanismů jako odbourávání glykogenu)
 - prostřednictvím **lipasy senzitivní vůči hormonům (hormon-senzitivní lipasa)**
 - **aktivní forma - fosforylována**
 - jako odpověď na nízkou hladinu glukosy v krvi je secernován **adrenalin** (při stresu) a **glukagon** (při hladovění) → zvýší se hladina cAMP v tukových buňkách → aktivuje se **proteinkinasa A** → fosforylace
 - **neaktivní forma - defosforylována**
 - **inzulin** - antilipolytický účinek
 - » inhibice syntézy cAMP
 - » stimulace fosfodiesterasy
 - » stimulace proteinfosfatasy



Další osud mastných kyselin a glycerolu

- produkty lipolýzy jsou uvolněny do krve
 - **glycerol** je transportován do jater, kde je fosforylován a kde může být využit pro syntézu glukosy nebo lipidů
 - **mastné kyseliny** jsou transportovány v krvi k potřebným buňkám **ve vazbě (nekovalentní) na albumin** - „volné mastné kyseliny“ - **neesterifikované, krátký poločas (minuty)**
 - MK jsou hlavním **zdrojem energie pro myokard a kosterní svalstvo**
- degradace MK probíhá v buňce, především v mitochondriích, popř. v peroxisomech

Přestup mastných kyselin plazmatickou membránou do buňky

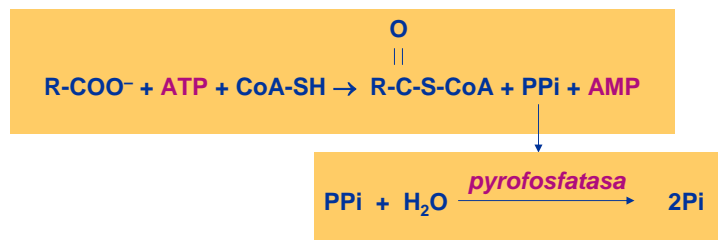


2. Aktivace mastné kyseliny

- aktivace spočívá v převedení MK na makroergický thioester (vysoký obsah energie) - *acyl-CoA*
- k aktivaci je zapotřebí:
 - ATP
 - CoA
 - enzym *acyl-CoA-synthetasa (thiokinasa)*

Reakce katalyzovaná *acyl-CoA synthetasou*

- katalyzuje vznik *thioesterové vazby* mezi karboxylovým uhlíkem MK a -SH skupinou CoA - na aktivaci je zapotřebí energie 2 makroergních vazeb ATP → AMP



- reakce probíhá ve dvou krocích přes meziprodukt *acyladenylát*

Acyl-CoA synthetasy

rozdíly

substrátová specifita

- specifické pro mastné kyseliny s různou délkou řetězce
 - pro MK s krátkým řetězcem
 - pro MK se středně dlouhým řetězcem
 - pro MK s dlouhým řetězcem
 - pro MK s velmi dlouhým řetězcem

lokalizace

- pro MK s *dlouhým řetězcem*
 - ve vnější mitochondriální membráně
 - na endoplazmatickém retikulu
- pro MK s *krátkým a středně dlouhým řetězcem*
 - v matrix mitochondrií

3. Transport MK přes mitochondriální membrány

- MK přestupují vnější mitochondriální membránou *pomocí pórů*
- vnitřní mitochondriální membrána je *neprostupná pro acyl-CoA s dlouhým řetězcem (delší než 12 C)*
 - transport mitochondriální membránou je zajišťován pomocí přenašeče - *karnitinu*

Karnitin

- hydroxykyselina s kvartérním dusíkem
- (3-hydroxy-4-trimethylaminobutyát)



- aktivní je pouze **L-izomer**
- zdroj karnitinu:
 - exogenní - maso a mléčné výrobky
 - endogenní syntéza z aminokyselin lysinu a methioninu, probíhá především v játrech, mozku a ledvinách - u zdravých jedinců kryje endogenní syntéza potřebu
- karnitin je **významný především pro myokard a kosterní svalstvo**, které využívají jako důležitý zdroj energie mastné kyseliny s dlouhým řetězcem
- do buňky je transportován pomocí specifického transportéru

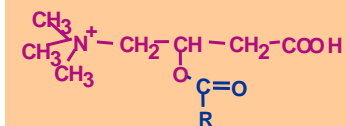
- nedostatek karnitinu
 - příčiny
 - nedostatečná výživa
 - léky zvyšující renální vylučování karnitinu
 - chronicky hemodialyzovaní pacienti - zvýšené ztráty
 - dědičná porucha v membránovém transportéru pro karnitin
 - projevy
 - snížený transport acyl-CoA do mitochondrií
 - akumulace lipidů
 - svalová slabost
 - poškození myokardu
 - zvýšená utilizace glukosy - **hypoglykemie**
 - terapie - substituce karnitinem
- podobné projevy jako nedostatek karnitinu může mít i geneticky podmíněná **deficience karnitinpalmitoyltransferasy I nebo II**

Mechanismus transportu MK přes vnitřní mitochondriální membránu pomocí karnitinu

- acyl-CoA je transesterifikován *karnitinpalmitoyltransferasou I* ve vnější mitochondriální membráně



- produktem je acylkarnitin

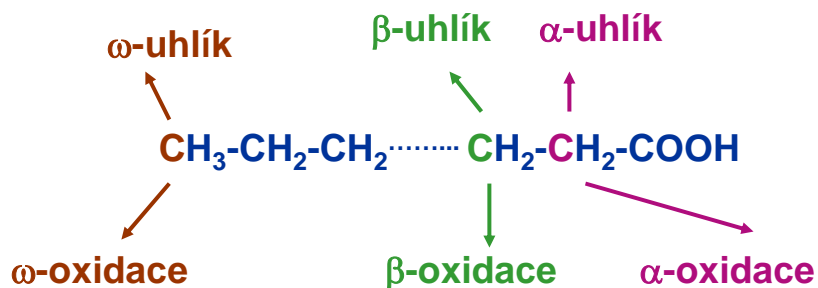


- krok limitující rychlost β -oxidace MK v mitochondriích - inhibice malonyl-CoA (počáteční intermediát biosyntézy MK)

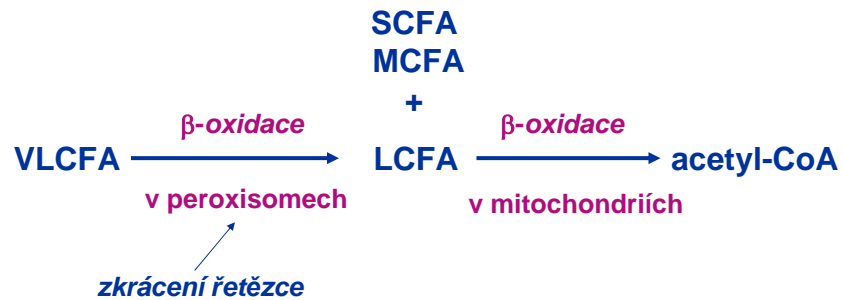
- acylkarnitin vstupuje do matrix mitochondrie pomocí translokasy ve vnitřní mitochondriální membráně
- regenerace acyl-CoA je zajišťována *karnitinacyltransferasou II* ve vnitřní mitochondriální membráně

4. Vlastní odbourávání MK

Mechanismy odbourávání mastných kyselin



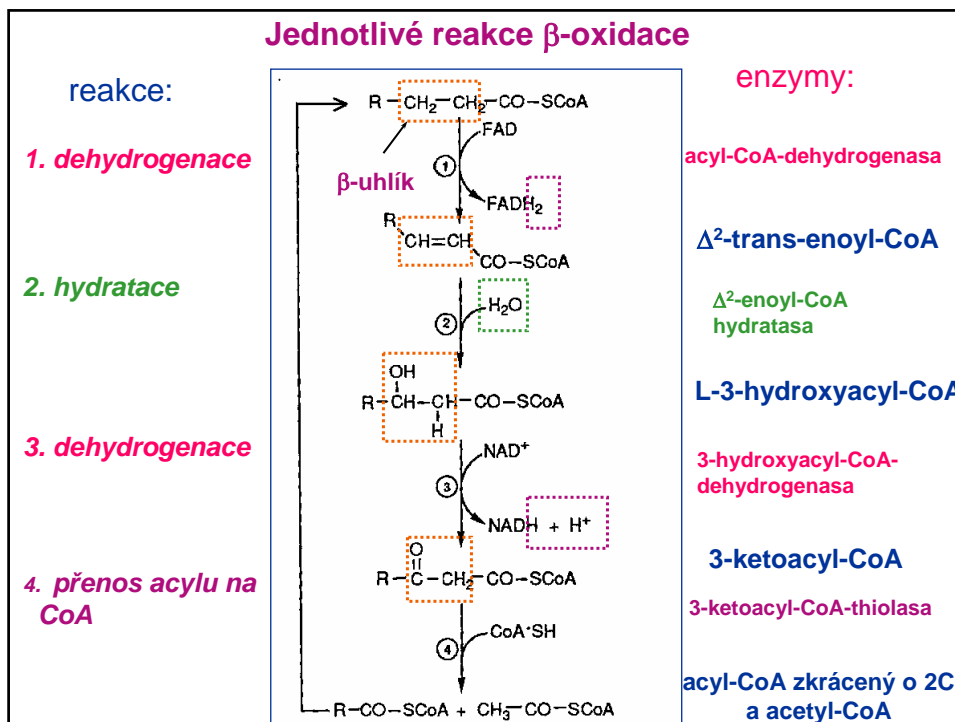
Mechanismy odbourávání mastných kyselin



VLCFA- very-long chain fatty acid
LCFA-long-chain fatty acid
MCFA -medium-chain fatty acid
SCFA-short-chain fatty acid

Mitochondriální β -oxidace

- β -oxidace je **hlavní metabolickou dráhou odbourávání mastných kyselin**
 - aerobní proces
 - přímé napojení na citrátový cyklus a dýchací řetězec
 - **spirálový pochod**, při němž se z řetězce MK postupně z karboxylového konce odštěpují 2 atomy uhlíku ve formě **acetyl-CoA**
 - sled reakcí **dehydrogenace**
hydratace
dehydrogenace
thiolýza



Některé enzymy β -oxidace

acyl-CoA dehydrogenasy - různá substrátová specifita, která je dána délkou řetězce mastné kyseliny

- acyl-CoA dehydrogenasa o krátkém řetězci (C_4 - C_6) - homotetramer v matrix mitochondrie
- acyl-CoA dehydrogenasa o středně dlouhém řetězci (C_4 - C_{12}) - homotetramer v matrix mitochondrie
- acyl-CoA dehydrogenasa o dlouhém řetězci (C_8 - C_{20}) - homotetramer v matrix mitochondrie

trifunkční enzym - vázaný v mitochondriální membráně

- substrátem je acyl-CoA s dlouhým řetězcem
- zahrnuje aktivitu Δ^2 -enoyl-CoA hydratasy
3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenasy
3-ketoacyl-CoA thiolasy

Srovnání β -oxidace a Krebsova cyklu

- | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> • β-oxidace <ul style="list-style-type: none"> • acyl-CoA • $R-CH_2-CH_2-CO \approx SCoA$ - acyl-CoA dehydrogenasa • nenasyčený acyl-CoA • $R-CH=CH-CO \approx SCoA$ - Δ^2 enoyl-CoA hydratasa • 3-hydroxyacyl-CoA <li style="text-align: center;">OH
 • $R-CH-CH_2-CO \approx SCoA$ - 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenasa • 3-ketoacyl-CoA <li style="text-align: center;">O
 • $R-C-CH_2-CO \approx SCoA$ | <ul style="list-style-type: none"> • Krebsův cyklus <ul style="list-style-type: none"> • sukcinát • $HOOC-CH_2-CH_2-COOH$ - sukcinátdehydrogenasa • fumarát • $HOOC-CH=CH-COOH$ - fumarát hydratasa • malát <li style="text-align: center;">OH
 • $HOOC-CH-CH_2-COOH$ - malátdehydrogenasa • oxalacetát <li style="text-align: center;">O
 • $HOOC-C-CH_2-COOH$ |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Energetická bilance β -oxidace nasycených mastných kyselin

oxidace palmitoyl-CoA (16 C)



8 x 10 ATP

80 ATP

citrátový cyklus

7 x 1,5 ATP

10,5 ATP

dýchací řetězec

7 x 2,5 ATP

17,5 ATP

dýchací řetězec

celkem 108 ATP pro palmitoyl-CoA

108 - 2 = 106 ATP pro palmitát

Energetická bilance β -oxidace - srovnání s glykolýzou

Při oxidaci kys. palmitové vzniká více energie než při oxidaci glukosy (obsahuje 6 atomů uhlíku - částečně oxidovaná molekula)

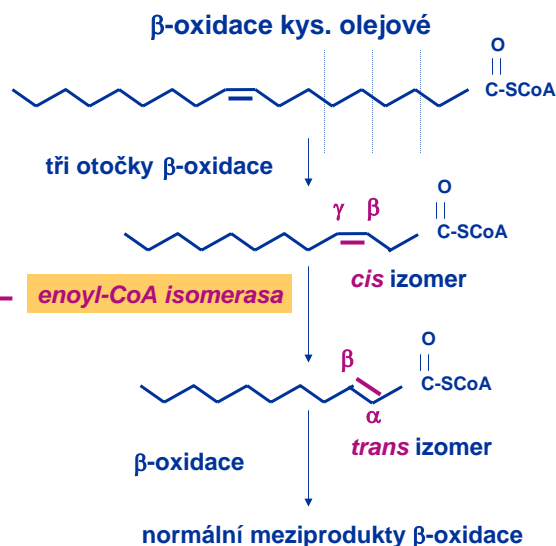
- Celkový počet molekul ATP produkovaných **při oxidaci kys. palmitové je 106**
 - přepočteno na 1 atom uhlíku
 - $106 : 16 = 6,6 \text{ ATP}$
- Celkový počet molekul ATP produkovaných **při oxidaci glukosy je přibližně 31**
 - přepočteno na 1 atom uhlíku
 - $31 : 6 = 5,2 \text{ ATP}$

Oxidace nenasycených mastných kyselin

- nenasycené MK v našem organismu - **cis izomery**
- během β oxidace vznikají **trans izomery** a poloha dvojných vazby je posunuta - nejsou substrátem Δ^2 -enoyl-CoA hydratasy

- převádí **cis-izomer na trans-izomer**
- posouvá **dvojnou vazbu z pozice β - γ do pozice α - β**

- **výtěžek ATP z oxidace nenasycených MK je vždy menší než nasycených MK - není zapotřebí acyl-CoA dehydrogenasový krok, při němž vzniká FADH_2**



Vrozené poruchy enzymů mitochondriální β -oxidace (FAOD-Fatty Acid β -Oxidation Disorders)

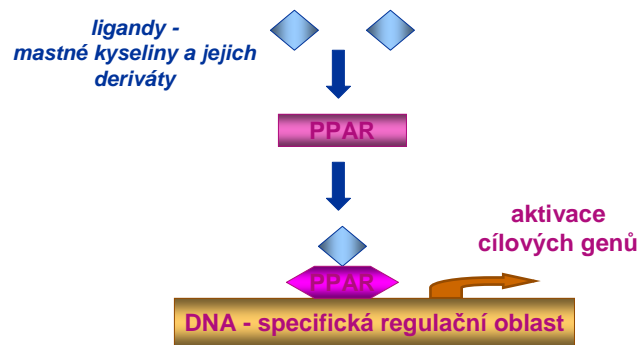
- příznaky jsou vyprovokovány katabolickým stresem
- **biochemické projevy** - mimo akutní ataku nemusí být přítomny
 - nedostatečná produkce energetických substrátů - acetyl-CoA a ketolátek
 - akumulace volných mastných kyselin a toxických intermediátů acyl-CoA
 - tvorba abnormálních metabolitů
 - dikarboxylové a hydroxydikarboxylové mastné kyseliny vzniklé procesem ω -oxidace
 - přeměna acyl-CoA na odpovídající acylglyciny
 - hypoglykemie a relativně nízká hladina ketolátek
- **příznaky**
 - myopatie
 - kardiomyopatie
 - jaterní dysfunkce
 - kóma
 - náhlé úmrtí dětí (*SIDS - sudden infant death syndrome*)

- **terapie**
 - zamezení katabolickým dějům, např. hladovění
 - zajištění zvýšeného příjmu sacharidů
 - další dietní úpravy
 - snížení příjmu přirozených tuků
 - zajištění adekvátního příjmu esenciálních mastných kyselin
 - substituce karnitinem
- **defekt acyl-CoA dehydrogenasy pro mastné kyseliny se středně dlouhým řetězcem**
 - nejvíce zastoupené onemocnění této skupiny

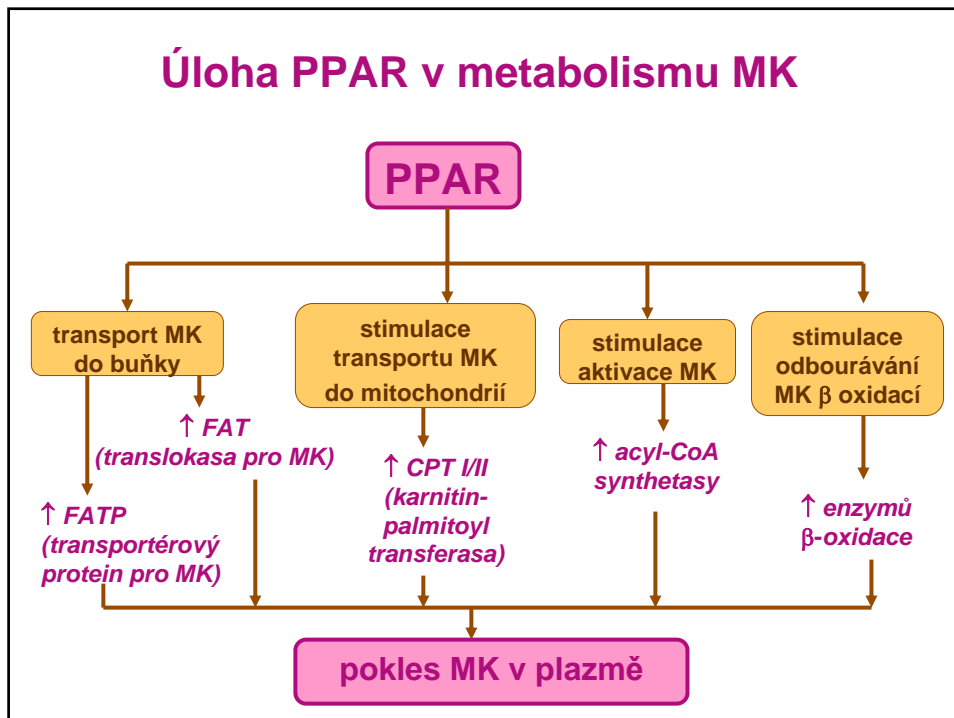
Řízení lipidového metabolismu pomocí PPAR

PPAR - receptory aktivované látkami zmnožujícími peroxisomy (peroxisome proliferator activated receptor)

- podskupina rodiny jaderných hormonálních receptorů
- jsou to proteiny aktivované ligandy, které po jejich navázání mění konformaci a v jádře ovlivňují transkripci DNA



Úloha PPAR v metabolismu MK



Peroxisomální oxidace

- oxidace MK s velmi dlouhým řetězcem v mitochondriích není dostatečně efektivní
- v peroxisomech probíhají tyto degradační metabolické cesty MK:
 - β -oxidace MK s řetězcem delším než 18 C - peroxisomy jsou vybaveny *acyl-CoA synthetasou pro MK s velmi dlouhým řetězcem*
 - β -oxidace části nenasycených MK
 - odbourávání neobvyklých MK
 - např. kys. eruková - 22:1(13)
 - degradace je velmi pomalá, a proto se ukládá ve formě TG v myokardu
 - α -oxidace mastných kyselin s rozvětveným řetězcem
 - kys. fytanová

Peroxisomální oxidace

- rozdíl mezi mitochondriální a peroxisomální oxidací
 - v *prvním oxidačním kroku* jsou elektrony z $FADH_2$ přímo předávány molekulárnímu kyslíku za vzniku H_2O_2 který je štěpen *katalasou* na H_2O a O_2
 - energetická ztráta 1,5 ATP
 - v *druhém oxidačním kroku* je NADH exportován do cytosolu
 - peroxisomy neobsahují enzymy citrátového cyklu, vzniklý acetyl CoA může být:
 - využit pro syntézu cholesterolu a žlučových kyselin
 - exportován do cytosolu, event. do mitochondrií, kde je oxidován
- acylkoenzymy zkrácené na úroveň oktanoyl-CoA jsou transportovány do mitochondrií, kde obvyklým způsobem pokračuje β -oxidace
- vysoký příjem tuků v dietě vede ke zvýšení oxidace v peroxisomech

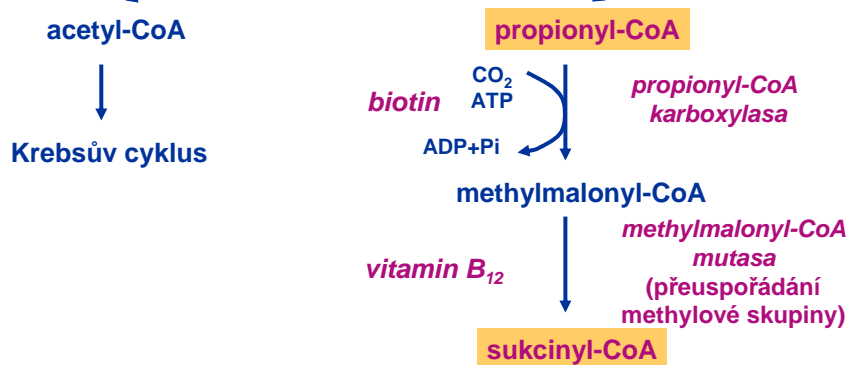
Zellwegerův syndrom (Cerebrohepatorenální syndrom)

- chybí funkční peroxisomy
 - deficit peroxisomálních enzymů
 - snížené odbourávání MK s velmi dlouhým řetězcem a kys. fytanové - jejich hromadění v tkáních
- dědičné onemocnění
- psychomotorická retardace, hepatomegalie, hypotonie, kraniofaciální dysmorfie
- 70 % dětí umírá v průběhu 6 měsíců

Oxidace mastných kyselin s lichým počtem uhlíků

odbourávání probíhá reakcemi β -oxidace až do posledního

thiolytického štěpení



Nedostatek vitamínu B_{12} - zvýšené vylučování kys. propionové a kys. methylmalonové do moči

ω-oxidace

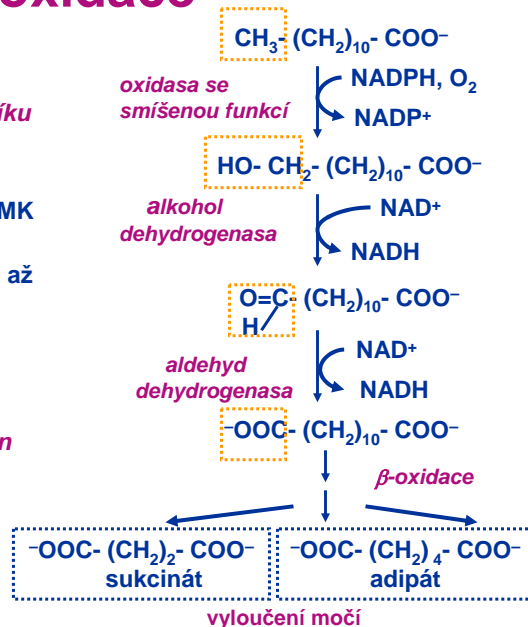
minoritní dráha oxidace MK

oxidace se uskutečňují na ω-uhlíku

- v endoplazmatickém retikulu jater nebo ledvin
- přednostními substráty jsou MK s 10 nebo 12 uhlíky
- ω-uhlík je postupně oxidován až na COOH



- vznik dikarboxylových kyselin (např. sukcinát, adipát - 6C)



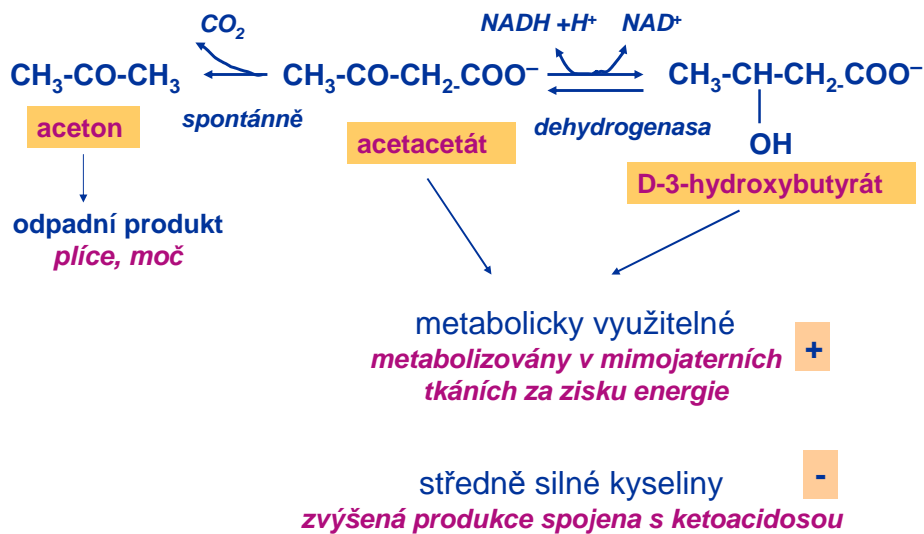
α-oxidace

- minoritní dráha oxidace mastných kyselin
 - odstranění karboxylového uhlíku mastných kyselin ve formě CO_2
 - energeticky není výhodná
 - substrátem jsou volné MK (není zapotřebí aktivace)
- degradace rozvětvených MK
 - v rozvětvených MK je β-oxidace blokována přítomností methylové skupiny na C-3
 - oxidace kyseliny fytanové
- degradace MK s lichým počtem uhlíků
- degradace MK s velmi dlouhým řetězcem

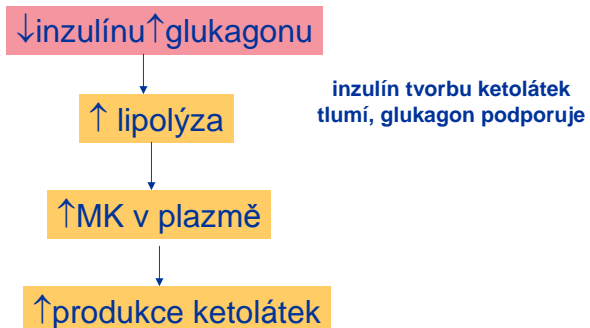
Ketogeneze

- je proces přeměny mastných kyselin s dlouhým řetězcem na nízkomolekulární látky - ketolátky, které jsou ekvivalenty MK rozpustnými ve vodě
- fyziologická úloha ketogeneze
 - ketolátky jsou univerzálním energetickým substrátem, který mohou využívat prakticky všechny buňky s výjimkou hepatocytů
 - využitím ketolátek jako energetického zdroje **se šetří glukosa (pro nervové buňky)**
 - snižuje se glukoneogeneze - je utlumena proteolýza ve svalech - **efekt ketolátek šetřící proteiny**
 - **zdroj energie pro mozek** při dlouhodobějším hladovění

Ketolátky



Podmínky tvorby ketolátek



- při hladovění
- při diabetes mellitus
- při dietě s vysokým obsahem tuků a nízkým obsahem sacharidů

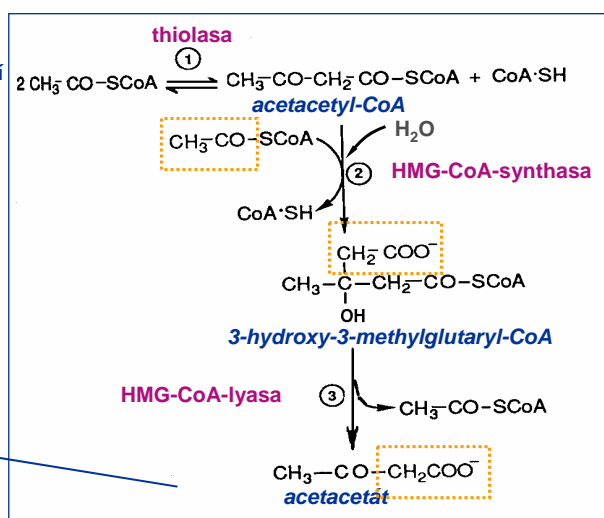
Vznik ketolátek

v matrix mitochondrie hepatocytu

HMG-CoA-synthasa

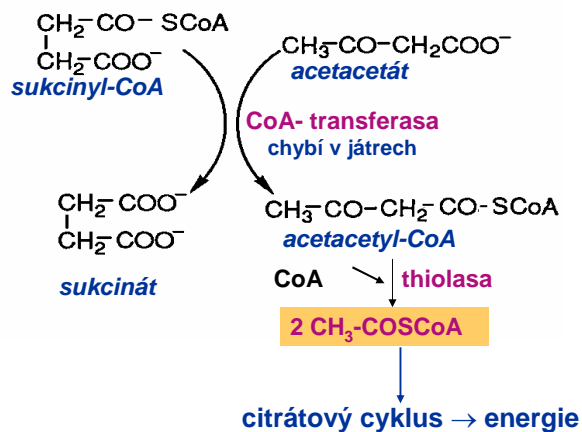
- indukována během lačnění
- přítomna hlavně v játrech
- řídí rychlost syntézy ketolátek
- cytoplazmatický enzym → biosyntéza cholesterolu

transport krví do extrahepatálních tkání



Využití ketoláték

v extrahepatálních tkáních, včetně mozku (při hladovění)



Použitá literatura

- Barter P. J., Rye K. A. (1996) *Atherosclerosis* 121, 1 - 12.
- Dlouhý P., Marhol P. (1999) *DMEV* 4, 211 - 135.
- Glatz J.F.C. et al. (1997) *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 57, 3 - 9.
- Champe P.C., Harvey R.A. *Biochemistry*, 2nd edition, Lippincott-Raven, 1994.
- Murray R.K. et al. *Harperova Biochemie*, H&H, 1998.
- Murray R.K. et al. *Harper's Illustrated Biochemistry*, 26th edition, Lange Medical Books/McGraw-Hill, 2003.
- Nelson D.L., Cox M. M. *Lehninger Principles of Biochemistry*, 3rd edition, Worth Publishers, 2000.
- Pokorný J. (2004) *DMEV* 3, 134 - 141.
- Sim K.G. et al. (2002) *Clin. Chim. Acta*, 323, 37 - 58.
- Suchánek P., Poledne R. (2001) *DMEV* 1, 65 - 71.
- Voet D., Voetová J.G. *Biochemie*. Victoria Publishing, 1990.
- Zadák Z. et al. (2000) *Vnitř. Lék.*, 46, 510 - 514.