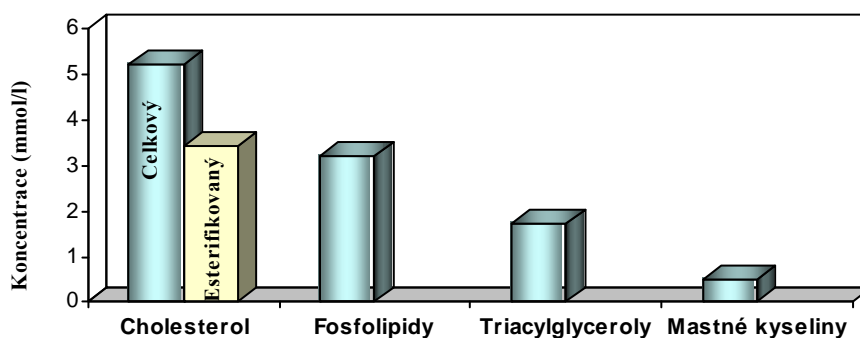


Lipoproteiny

Zastoupení lipidů v krevní plazmě

Typ lipidu	Koncentrace v krevní plazmě (mmol/l)
Triacylglyceroly	0,9–1,7
Cholesterol celkový	3,8–5,2
Neesterifikované mastné kyseliny	0,1–0,6



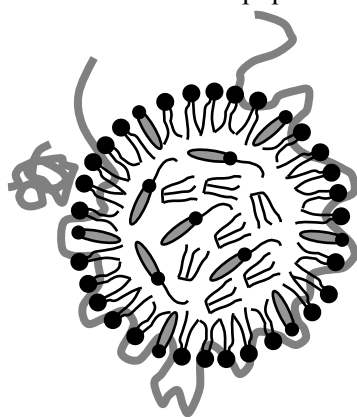
Transport lipidů v krvi zahrnuje

- Transport mastných kyselin z adipocytů do ostatních tkání
- Transport lipidů přijatých potravou z tenkého střeva do tkání
- Transport endogenně syntetizovaných lipidů z jater do ostatních tkání
- Reverzní transport cholesterolu z extrahepatálních tkání do jater

Zatímco mastné kyseliny (MK) jsou v krvi transportovány ve vazbě na albumin, ostatní lipidy jsou přenášeny ve formě lipoproteinů. Lipoproteiny (LP) jsou nekovalentní komplexy proteinů a lipidů, které agregují do částic určitého tvaru a velikosti.

Struktura lipoproteinů

Obecná struktura lipoproteinů je znázorněna na obrázku a vyplývá z míry rozpustnosti jednotlivých lipidů ve vodě. Ve struktuře lipoproteinu lze rozlišit jádro částice, ve kterém jsou obsaženy nepolární triacylglyceroly (TG) a esterifikovaný cholesterol (CE), a obal částice, ve kterém je monomolekulární vrstva amfipatických fosfolipidů (PL), volný cholesterol (CH) a bílkoviny, nazývané apoproteiny. Rozměry většiny lipoproteinů odpovídají velikosti koloidních částic, pouze chylomikrony mohou mít průměr až 1 μm . Polární skupiny ve fosfolipidech umožňují snadnou hydrataci částic a tedy jejich rozpustnost ve vodném prostředí. Složení lipoproteinů není konstantní, jak lipidy tak proteiny mohou být přenášeny z jedné částice na druhou.



Separace lipoproteinů

Lipoproteiny mohou být separovány pomocí řady metod, mezi běžné patří ultracentrifugace a elektroforéza.

Ultracentrifugace

Klasifikace lipoproteinů a jejich názvy jsou založeny na chování při ultracentrifugaci v hustotním gradientu. Hustota lipoproteinů závisí na poměru zastoupení proteinů a lipidů. Napolární lipidy mají hustotu kolem $0,9 \text{ g/cm}^3$. Se zvyšujícím se obsahem proteinů se hustota lipoproteinů zvyšuje. Nejnižší hustotu tak mají chylomikrony obsahující kolem 80–90 % triacylglycerolů. Hustota lipoproteinů dále vzrůstá v pořadí VLDL (very low density lipoproteins), IDL (intermediate density lipoproteins), LDL (low density lipoproteins) a HDL (high density lipoproteins).

Elektroforéza

K elektroforéze lipoproteinů se používají stejné metody a podmínky jako při elektroforéze proteinů krevní plazmy, pouze činidla k vybarvení zón jsou jiná. Nejpohyblivější frakcí jsou HDL částice, které se nacházejí ve frakci α (proto též α -lipoproteiny), LDL částice odpovídají pozici β -frakce (β -lipoproteiny) a VLDL tvoří nevýrazný proužek v oblasti mezi α - a β - frakcí (pre- β -lipoproteiny). Chylomikrony, které jsou obsaženy v plazmě pouze po jídle, nejsou elektroforeticky pohyblivé.

Složení a původ lipoproteinů

Třída lipoproteinů	Původ	Průměr (nm)	Hustota (g/cm^3)	Zastoupení				
				proteiny	TG	PL	CE	CH
Chylomikrony	b. stř. sliznice	100–1000	0,95	1–2	86	8	3	2
VLDL	játra	30–90	0,95–1,006	6–10	55	18	13	7
IDL	z VLDL	25–30	1,006–1,019	15–20	25	21	28	9
LDL	z IDL	20–25	1,019–1,063	22	9	20	40	8
HDL	játra, b. stř. sliz.	5–12	1,063–1,21	35–55	3–5	28–33	12–17	3–5

Chylomikrony transportují lipidy přijaté potravou (přibližně 100 g/den) z tenkého střeva do ostatních tkání. V krvi jsou přítomny pouze po jídle. Hlavní složkou jsou triacylglyceroly. Obsahují rovněž cholesterol přijatý v potravě a lipofilní vitaminy.

VLDL vznikají v játrech. Jsou v nich obsaženy triacylglyceroly syntetizované v játrech (20–50 g/den). Triacylglyceroly jsou také hlavní komponentou VLDL. Ve VLDL je rovněž obsažen cholesterol určený pro transport do tkání.

IDL vznikají metabolismem VLDL v plazmě, jejich hlavní komponentou je již cholesterol.

LDL vznikají z částic IDL v plazmě, jejich hlavní složkou je esterifikovaný cholesterol. Jsou zdrojem cholesterolu pro extrahepatální tkáň.

HDL se vyskytují v několika subtypech, které se liší zastoupením jednotlivých lipidů. Nascenní HDL jsou uvolňovány z jater a buněk střevní sliznice. Obsahují pouze proteiny a fosfolipidy. Úkolem HDL je reverzní transport cholesterolu ze tkání do jater. Zralé HDL částice obsahují vedle fosfolipidů a proteinů též cholesterol.

Apo(lipo)proteiny

Každá třída lipoproteinů má charakteristické složení apoproteinů. Apoproteiny mohou být periferní i integrální složkou lipoproteinů. Každý z apoproteinů má odlišný genetický kód. Jejich molekulová hmotnost leží v rozmezí od 6 000 (ApoC-I) do 550 000 (ApoB-100).

Apoproteiny mají kromě strukturního významu ještě další role v metabolismu proteinů. Některé slouží jako kofaktory nebo inhibitory enzymů, jiné označují lipoproteiny pro specifickou reakci s receptory. Role některých apoproteinů nebyla dosud objasněna. Nejvýznamnější apoproteiny a jejich funkce shrnuje tabulka.

Apoprotein	Funkce	Poznámka / klinický význam
ApoA-I	strukturní protein HDL kofaktor LCAT	nízká hladina v krvi – riziko ICHS
ApoA-II	aktivátor jaterní lipasy inhibitor LCAT	
ApoB-100	ligand pro LDL-receptor	vysoká hladina v krvi – riziko ICHS
ApoB-48	strukturní protein chylomikronů	48 % primární struktury ApoB-100
ApoC-II	aktivátor LPL	
ApoD	neznámá	zvýšen při neurodegenerativních chorobách
ApoE	ligand pro LDL receptor ligand pro ApoE receptor	fyziologická izoforma ApoE3; u fenotypu E4 (incidence až 20 %) zvýšena frakce LDL, riziko ICHS a Alzheimerovy nemoci
Apo(a)	strukturní protein lp(a)	při zvýšené koncentraci – rizikový faktor aterosklerózy; glykoprotein ze 70 % homologní s plasminogenem
CETP <i>cholesterol-ester- transferprotein</i>	přenos CE z HDL do VLDL, IDL výměnou za TG	lokalizován na HDL

Enzymy významné v metabolismu lipoproteinů

Enzym	Aktivace	Substráty	Místo působení
LCAT <i>lecithin:cholesterol- acyltransferasa</i>	ApoA-I	C + lecithin	v plazmě (HDL)
ACAT <i>acyl-CoA:cholesterol- acyltransferasa</i>	cholesterol	C + acyl-CoA (hlavně oleoyl-CoA)	intracelulárně (v hepatocytech nízká aktivita)
LPL lipoproteinová lipasa	ApoC-II (*inzulin)	TG (VLDL, CM)	kapiláry periferních tkání (nejvíce sval, tuková tkáň*, myokard, laktující mléčná žláza; ne játra)
HL jaterní lipasa	(inzulin)	TG + PL (IDL, HDL ₂)	jaterní sinusoidy
kyselá lipasa	nízké pH	TG, CE	lyzosom

*při nedostatku inzulinu v krvi klesá syntéza LPL v adipocytech

Receptory významné v metabolismu lipoproteinů

Receptory	Ligand obsažený v LP	Hlavní lokalizace receptoru
ApoE receptor (LRP) (protein příbuzný LDL receptoru – LDL related)	zbytky CM, IDL	játra
LDL receptor (ApoE/B-100 receptor)	IDL, LDL	všechny jaderné buňky (nejvíce játra, nadledvinky, gonády)
Scavengerové (odklízeč) receptory	modifikované LDL	makrofágy
Scavenger receptor B typ 1 (SR-B1)	HDL	játra, steroidogenní tkáň, ostatní tkáň
ABC transporter A1	HDL	všechny tkáň
CD36	LDL	kaveoly na povrchu plazm. membrán

Metabolismus chylomikronů

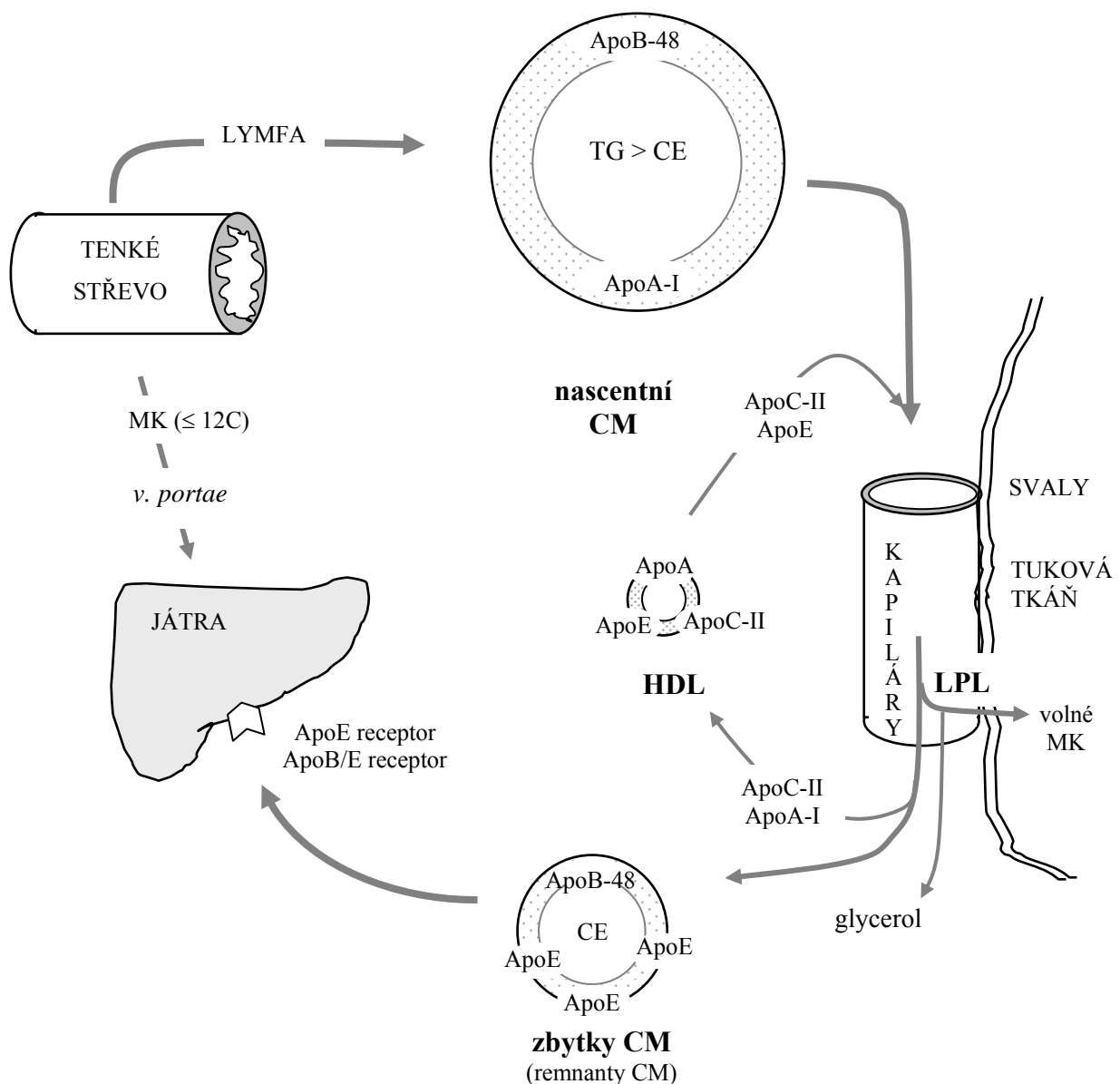
Nascentní chylomikrony vznikají v buňkách střevní sliznice. Vznikají pouze po jídle. Do jejich struktury se zabudovávají resyntetizované triacylglyceroly a fosfolipidy, cholesterol (zčásti esterifikovaný) a lipofilní vitaminy. Hlavní proteinovou komponentou je ApoB-48. Tento protein je strukturně a geneticky příbuzný s apoproteinem B-100 syntetizovaným v játrech a obsaženým ve struktuře VLDL. Oba proteiny jsou kódovány stejným genem. V buňkách tenkého střeva je primární transkript editován a do mRNA je zaveden stop-kodon (konverze cytosinu v kodonu CAA pro glutamin na adenin), který zastaví translaci u aminokyselinového zbytku 2 153. ApoB-48 tak má pouze 48% délky ApoB-100. Pro syntézu chylomikronů je ApoB-48 nepostradatelný, pokud se ApoB-48 nesyntetizuje, nemůže docházet ani syntéze chylomikronů. Porucha se označuje jako abetalipoproteinemie a vyznačuje se projevy lipidové malabsorpce. Je rovněž porušena resorpce lipofilních vitaminů.

Procesem exocytózy jsou chylomikrony secernovány do chylu lymfatického systému a do krve se dostávají cestou *ductus thoracicus*. V krvi se chylomikrony objevují přibližně 1–2 hodiny po zahájení jídla. Vzhledem k tomu, že proces resorpce lipidů je relativně pomalý děj, dostávají se chylomikrony do krve ještě i několik hodin po té. Samotný proces jejich odbourání je však rychlý, čas od vstupu chylomikronu do plazmy a jeho vychytání je méně než jedna hodina. Za fyziologických okolností je vrchol koncentrace chylomikronů asi za 3–6 hodin po jídle, jejich biologický poločas je asi 1/4 hodiny a po 9 hodinách jsou úplně odbourány.

Nascentní chylomikrony přijímají apoproteiny (ApoE a ApoC-II) z HDL a přeměňují se na zralé (mature) chylomikrony. Triacylglyceroly chylomikronů jsou odbourávány působením lipoproteinové lipasy (LPL), která je pomocí proteoglykanu heparansulfátu zakotvena na lumenální povrchu endotelu kapilární stěny. K aktivaci enzymu slouží ApoC-II. LPL je produkována adipocyty, svalovými buňkami (kosterní a srdeční sval) a buňkami laktující mléčné žlázy. Isoenzym syntetizovaný v adipocytech má vyšší hodnotu Michaelisovy konstanty K_M než isoenzym syntetizovaný ve svalech. Proto adipocytární LPL je aktivní hlavně po jídle, kdy hladina chylomikronů je vysoká. Syntéza a uvolnění LPL v adipocytech jsou rovněž stimulovány insulinem. Mastné kyseliny

uvolněné z chylomikronů vstupují převážně do buněk tukové tkáně a zde slouží k syntéze zásobních triacylglycerolů. Mohou rovněž přecházet do svalových buněk, kde jsou oxidovány. Malé množství mastných kyselin je uvolňováno do krve a vázáno albumin. Glycerol uvolněný z chylomikronů je transportován do jater, kde může být využit pro syntézu triacylglycerolů. Lipoproteinová lipasa může být uvolněna z povrchu endotelových buněk působením heparinu. Ztrácí tím svou aktivitu a v krvi po té dočasně stoupá obsah triacylglycerolů.

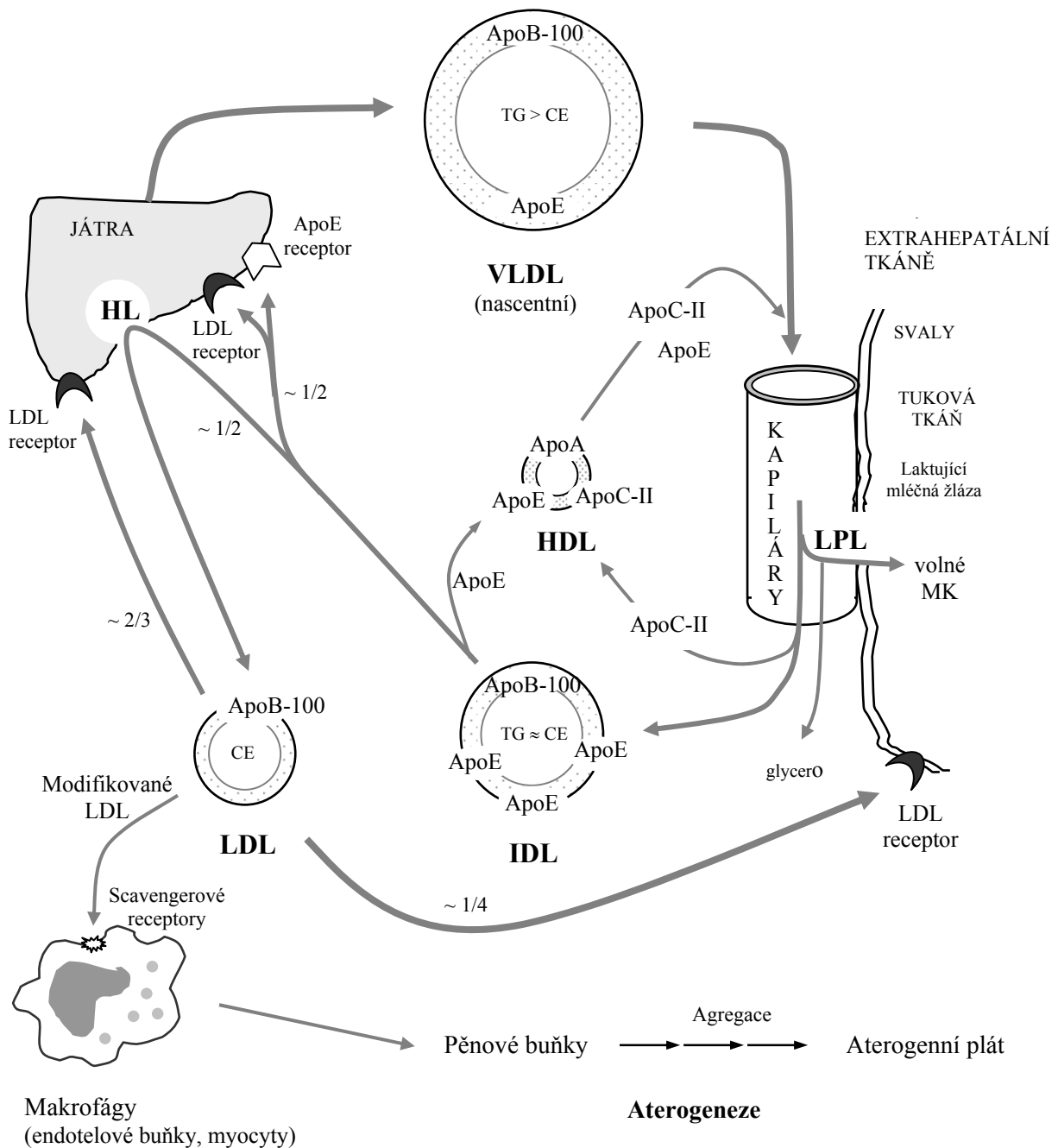
Po rozložení převážné části triacylglycerolů se chylomikrony zmenší. Jejich hlavní složkou se stává cholesterol. ApoC-II se přesouvá zpět na HDL. Částice se pak nazývají chylomikronové zbytky (remnanty). Remnanty jsou vychytávány receptory na membráně hepatocytů a dochází k jejich endocytóze. Receptory reagují specificky s ApoE a jsou dvojího typu: LDL receptory (ApoB/E) a LRP receptory (LDL-receptor related protein). Remnanty jsou silně aterogenní. Jsou také cytotoxické a při jejich zvýšené koncentraci se zvyšuje i koagulační aktivita faktoru VII. Za fyziologických okolností mají ale jen velmi krátký biologický poločas a nezasahují významněji do procesu aterosklerózy. Je-li však katabolismus chylomikrů zpomalen, vznikají remnantní částice bohatší cholesterolem a chudší na triacylglyceroly, které významně zvyšují riziko kardiovaskulárních onemocnění. Je tomu tak např. u osob s tzv. prodlouženou postprandiální lipemií, která je považována za rizikový faktor ICHS.



Metabolismus VLDL

VLDL se tvoří v hepatocytech. Zahrnují TG syntetizované v játrech, cholesterol, fosfolipidy a proteiny. Hlavním proteinem VLDL je ApoB-100. Je to velký protein, který se vine po povrchu částice lipoproteinu. V jaterních sinusoidech se VLDL exocytosou dostávají z hepatocytu přes fenestrováný endotel přímo do krve. Nascentní VLDL obsahují jen malá množství ApoE a ApoC-II. Podobně jako chylomikrony přejímají tyto apoproteiny z HDL. Rovněž cholesterol je přenášen z HDL na VLDL. Přitom se uplatňuje cholesterol estery přenášející protein (cholesterol ester transfer protein – CETP).

VLDL jsou v krvi přeměňovány pomocí lipoproteinové lipasy, podobně jako chylomikrony. Po odstranění převážné části triacylglycerolů jsou ApoC-II přeneseny zpět na HDL, převážná část ApoE zůstává součástí pozměněné VLDL částice, která se označuje jako IDL. IDL částice jsou asi z jedné poloviny vychytány hepatocyty (ApoB/E receptor). Zbylá část IDL je zbavena dalšího podílu triacylglycerolů působením zejména jaterní lipasy.



Jaterní lipasa je zakotvena na sinusoidálním povrchu hepatocytů pomocí heparansulfátu, podobně jako LPL může být uvolněna heparinem, na rozdíl od LPL není aktivována ApoC-II a neštěpí TG v chylomikronech a VLDL. Hydrolyzuje TG v IDL a HDL. IDL se po odstranění TG přeměňují na LDL částice. Ty jsou bohaté na cholesterol a jeho estery. V LDL je obsaženo kolem 70 % celkového plazmatického cholesterolu. Přibližně 2/3 LDL je transportováno do jater a zde vychytáno pomocí ApoB/E receptoru. Zbývající část LDL je transportována krví k extrahepatálním tkáním a zde je vychytávána stejným způsobem. Ligandem pro LDL-receptor je ApoB-100 .

LDL nejsou homogenní skupinou lipoproteinů. Mohou se lišit svojí velikostí, hustotou a složením: rozlišují se velké LDL1, střední LDL2 a malé LDL3. Malé denzní LDL3 jsou produktem katabolismu atypických velkých VLDL, které jsou tvořeny v játrech při vysoké hladině triacylglycerolů. Mají velkou schopnost pronikat přes cévní endotel, snadno podléhají oxidativní modifikaci a nejsou vychytávány LDL receptory. Vstupují do některých buněk, především makrofágů „scavengerovými“ LDL receptory a urychlují progresi aterosklerózy.

Příjem a degradace LDL v buňce

LDL-receptor je jednořetězový glykoprotein. Prochází jedenkrát membránou, jeho C-konec se nachází na cytoplazmatické straně, N-konec, který váže ApoB a ApoE, je na extracelulární straně. Vazba částice na receptor probíhá v jamkách pokrytých klathrinem a vede k internalizaci komplexu ligand-receptor ve formě klathrinem pokrytých váčků (receptorově zprostředkovaná endocytóza). Intracelulárně pak vesikly ztrácejí klathrin a fúzí s lyzomy za vzniku endolyzomů. V této fázi se LDL-receptor odděluje od svého ligandu a vrací se zpět do plazmatické membrány, zatímco komponenty LDL jsou hydrolyzovány působením lyzomálních enzymů. Volný cholesterol difunduje do cytoplazmy, kde inhibuje HMG-CoA reduktasu a potlačuje její syntézu. Současně je cholesterolem aktivována acyl-CoA:cholesterolacyltransferasa (ACAT) v endoplazmatickém retikulu. Jejím působením dochází k esterifikaci cholesterolu mastnou kyselinou. Akumulace cholesterolu buňce vede k inhibici doplňování LDL receptorů snížením (down-regulací) jejich exprese, čímž buňka blokuje další přísun cholesterolu z krve. Zpětná vazba je realizována membránově vázanými transkripčními faktory nazývanými SREBP (sterol regulatory element binding protein).

Na rozdíl od VLDL a chylomikronů je metabolismus LDL pomalejší a LDL může v plazmě cirkulovat až 3 dny.

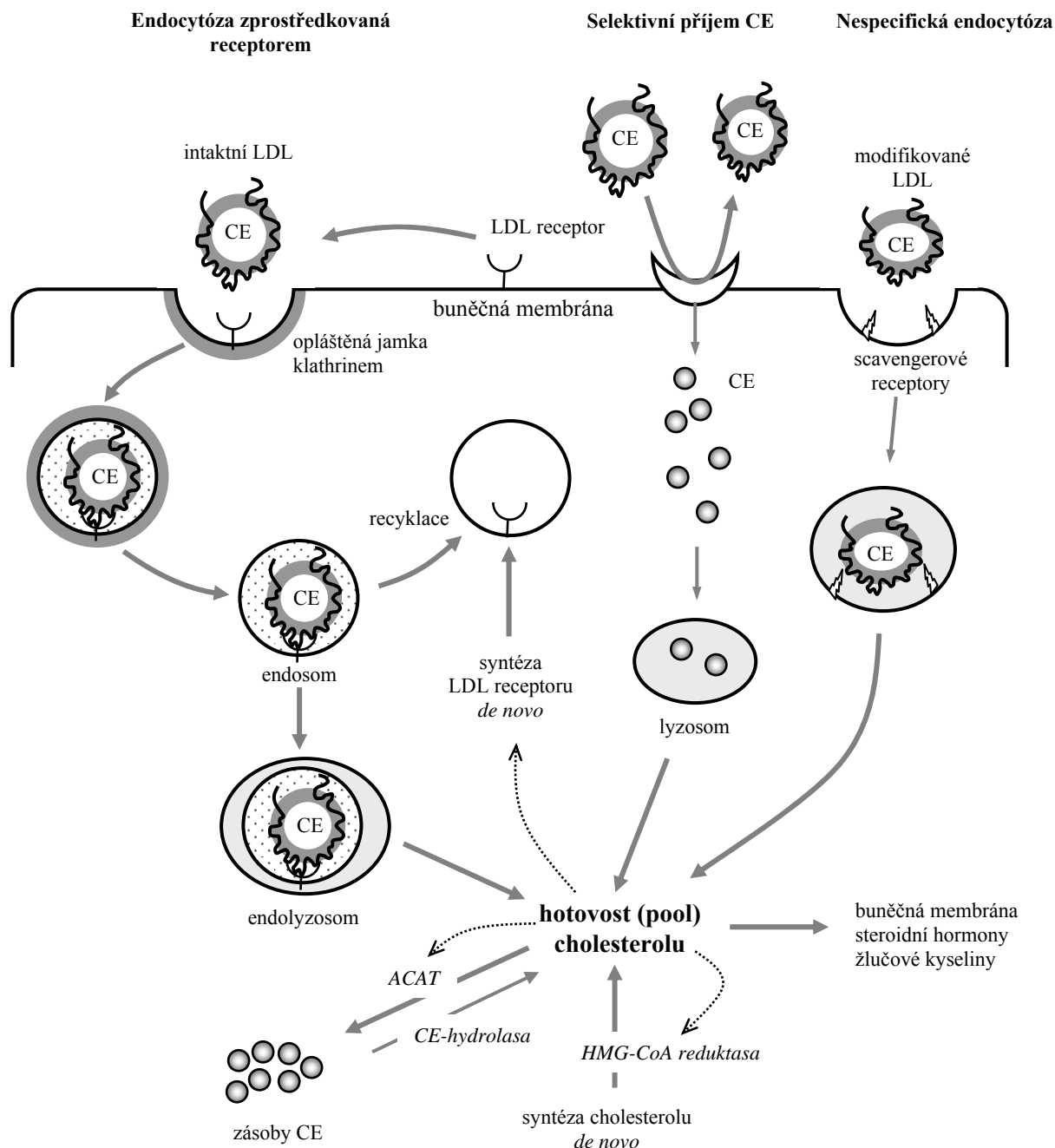
Ne všechny LDL částice jsou vychytány pomocí LDL receptorů. Makrofágy a některé endotelové buňky mají alternativní lipoproteinový receptor, označovaný jako scavengerový receptor (SR). Jejich afinita k LDL je nižší než u ApoB receptorů a na vychytávání LDL se proto podílí hlavně, když je jejich koncentrace v plazmě vysoká. Mají však vysokou afinitu k poškozeným a chemicky modifikovaným LDL částicím. Tento způsob vychytávání LDL však není zpětně regulován a dochází k postupnému hromadění cholesterolu v buňkách. Vznikají tak postupně pěnové buňky.

Početné mutace genu pro LDL-receptor jsou asociovány s poruchami jeho funkce, které označovány jak familiární hypercholesterolemie.

Pacienti s touto chorobou jsou postiženi progradující aterosklerózou. Ve většině případů se jedná o snížení nebo úplné potlačení tvorby LDL-receptorů v důsledku aberantní alely, v některých případech může jít o poruchu, při níž je sice LDL-receptor syntetizován a transportován k povrchu buňky, avšak v důsledku záměny aminokyseliny nebo jiné strukturní změny ztrácí afinitu k LDL.

Důsledkem je snížené nebo zcela zastavené vychytávání LDL částic. Syntéza cholesterolu v buňkách není inhibována a hladina cholesterolu v krvi stoupá. Částice LDL podléhají modifikacím a jsou vychytávány scavengerovými receptory.

Klinicky je onemocnění charakterizováno xantomaty na šlachách a zvýšeným rizikem srdečního infarktu. Terapie onemocnění je obtížná, dieta nepomáhá.



- Defektní LDL receptory – příčina familiární hypercholesterolemie (frekvence heterozygotů 1:500)

Metabolismus HDL

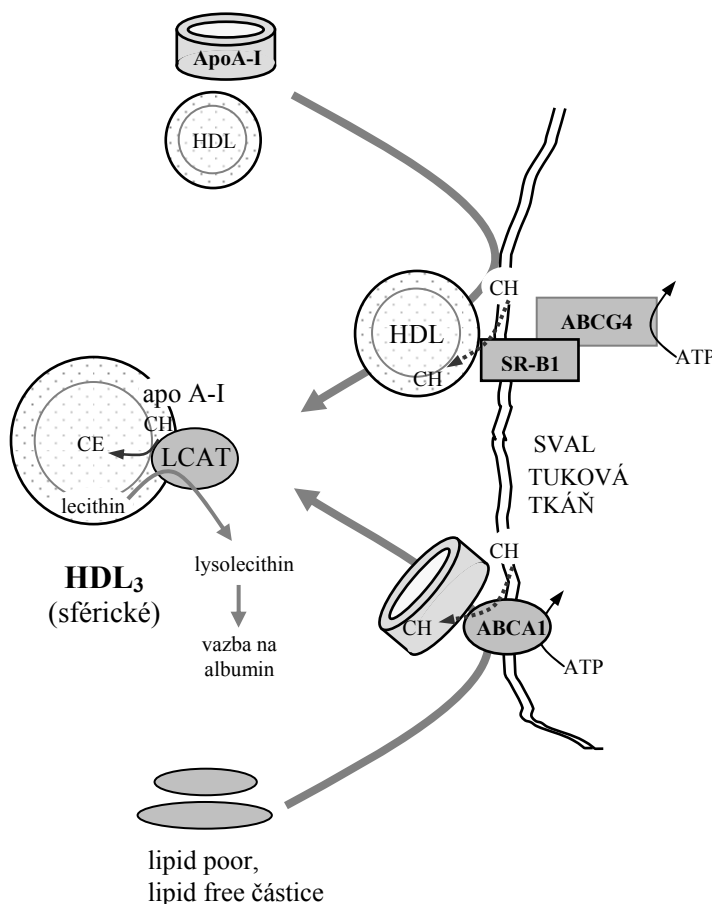
HDL jsou nejmenší a „nejhustší“ lipoproteiny. Na základě velikosti a hustoty se dělí do podtříd HDL₂ a HDL₃. HDL₃ mají větší hustotu a jsou menší. Prekursory těchto HDL tzv. diskoidní HDL. Jsou syntetizovány hlavně v játrech, v menším rozsahu v buňkách střevní sliznice a obsahují jen proteiny a fosfolipidy. Postupnými interakcemi se přeměňují na HDL₃ a HDL₂.

HDL částice slouží jako mobilní rezervoár apoproteinů (ApoE a ApoC-II), které poskytují chylomikronům a VLDL částicím. Po té, co tyto lipoproteiny ztratí převážnou část svých triacylglycerolů a tím se zmenší, ApoC-II a část ApoE se vrací zpět na HDL.

HDL hrají významnou roli v reverzním transportu cholesterolu, tj. v transportu nadbytečného cholesterolu z buněk periferních tkání do jater.

Pro přenos cholesterolu z periferních tkání jsou navrženy dva mechanismy. První mechanismus (označovaný jako difuzní) předpokládá nesespecifický eflux cholesterolu z povrchu buněčné membrány na HDL. HDL se připojují k povrchu buňky pomocí receptoru SR-B1 a na přenosu cholesterolu se podílí ABCG4 (ATP-binding cassette protein G4). Koncentrační gradient cholesterolu potřebný pro tento transport zprostředkovává LCAT na povrchu HDL. LCAT je syntetizována v játrech, vázána na povrch HDL a aktivována ApoA-1 v HDL. Účinkem tohoto enzymu je cholesterol na povrchu HDL esterifikován mastnou kyselinou, tím se stává nepolární a zanořuje se do nitra částice.

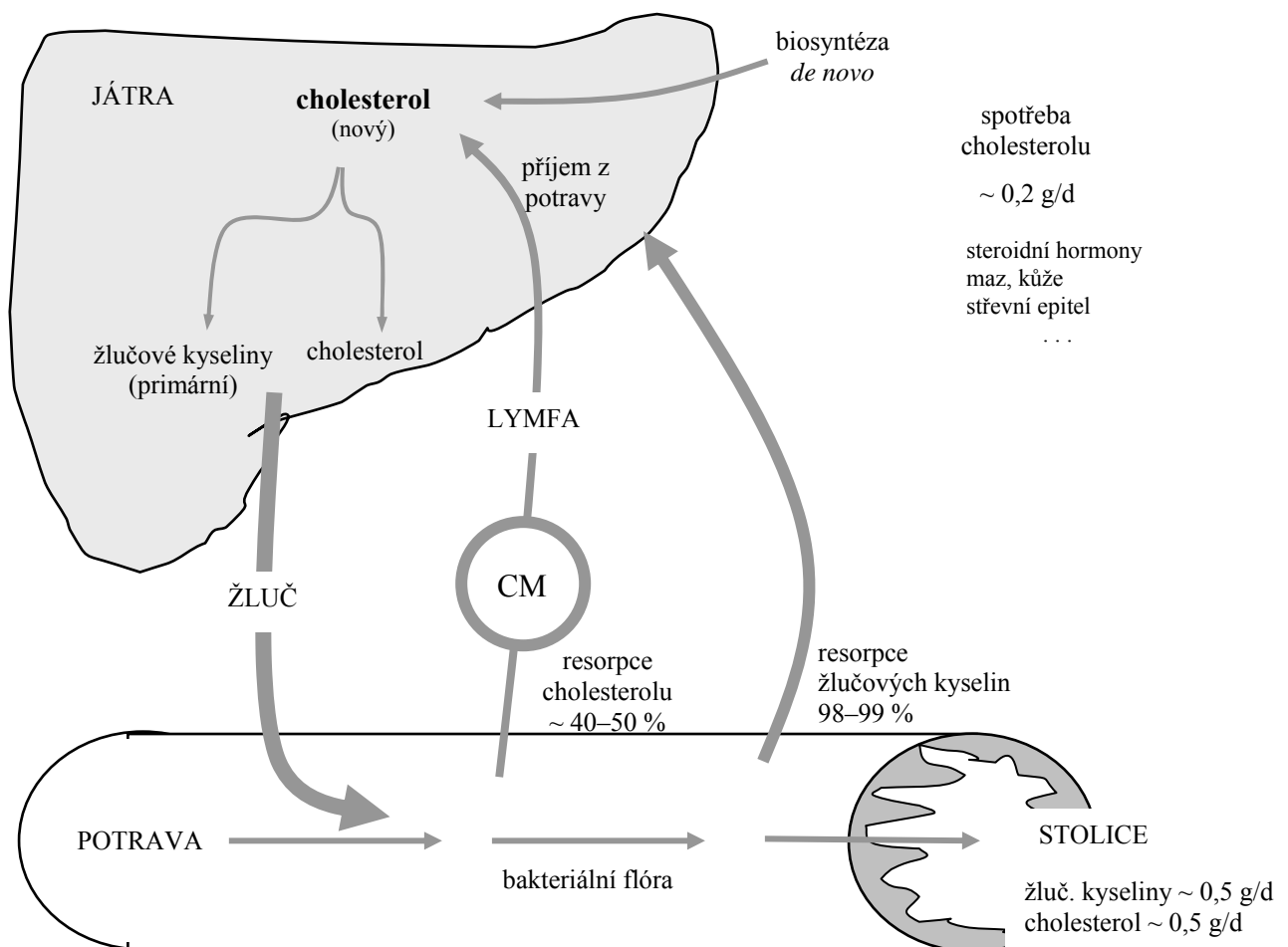
Druhým mechanismem je tvorba nových HDL z apoproteinů (lipid free and lipid poor částice) a buněčných fosfolipidů. Transport cholesterolu a fosfolipidů do těchto částic je zprostředkován ABC transportery A1. Deficit ABC transporteru A1 je příčinou Tangiérový choroby. Je způsoben mutacemi v genu pro ABCA1.



Periferní cholesterol, který byl zachycen v HDL a esterifikován pomocí LCAT může být do jater transportován jednou ze dvou možných cest. HDL-2 částice mohou sloužit jako donory cholesterol esterů pro remnanty a zbytky VLDL. Přenos je zprostředkován CETP (cholesterol-transfer protein) a je provázen transportem triacylglycerolů v opačném směru. Zbytkové lipoproteiny jsou pak vychytány játry. Druhý mechanismus spočívá v přímém vychytání HDL-cholesterolu v játrech a steroidogenní tkáni. Je podmíněno vazbou HDL na scavengerový receptor typu SR-B 1. Při této interakci s receptorem nedochází k endocytóze částice, pouze přesunu cholesterol esterů z nitra HDL do membrány příslušné buňky. SR-B1 receptory tak mají dvojí roli v reverzním transportu cholesterolu – uplatňují se na počátku, při efluxu cholesterolu z periferní buňky do HDL a po té v konečné fázi, při transportu cholesterolu z HDL do jaterní buňky (nebo steroidogenní buňky).

HDL částice jsou v plazmě asociovány s enzymem paraoxonasou 1 (PON1). PON1 je glykoprotein, který je syntetizován v játrech, následně secernován do krve a zde je asociován s HDL. PON1 je esteráza, která je schopna hydrolyticky štěpit organofosfáty (paraoxon je jedním z nich). Má velmi širokou substrátovou specifitu. Její role v metabolismu fosfolipidů spočívá v tom, že hydrolyticky štěpí oxidované fosfolipidy a také ne dosud známým mechanismem inhibuje peroxidaci lipidů v LDL. Nízká hladina PON1 je pokládána za nezávislý predikátor koronárních onemocnění.

Denní bilance cholesterolu



Denní bilance cholesterolu je asi 3 mmol (~1,2 g). Na straně příjmu je jeho resorpce ze střeva (potrava, žluč) a jeho syntéza v organismu, na straně výdeje pak exkrece stolicí, především ve formě neutrálních sterolů.

Cholesterol je z organismu vylučován pouze cestou žluče, a to ve dvou formách: nativní a přeměněný na žlučové kyseliny. Asi polovina cholesterolu ze žluče a asi 98 % žlučových kyselin je opět reabsorbováno.