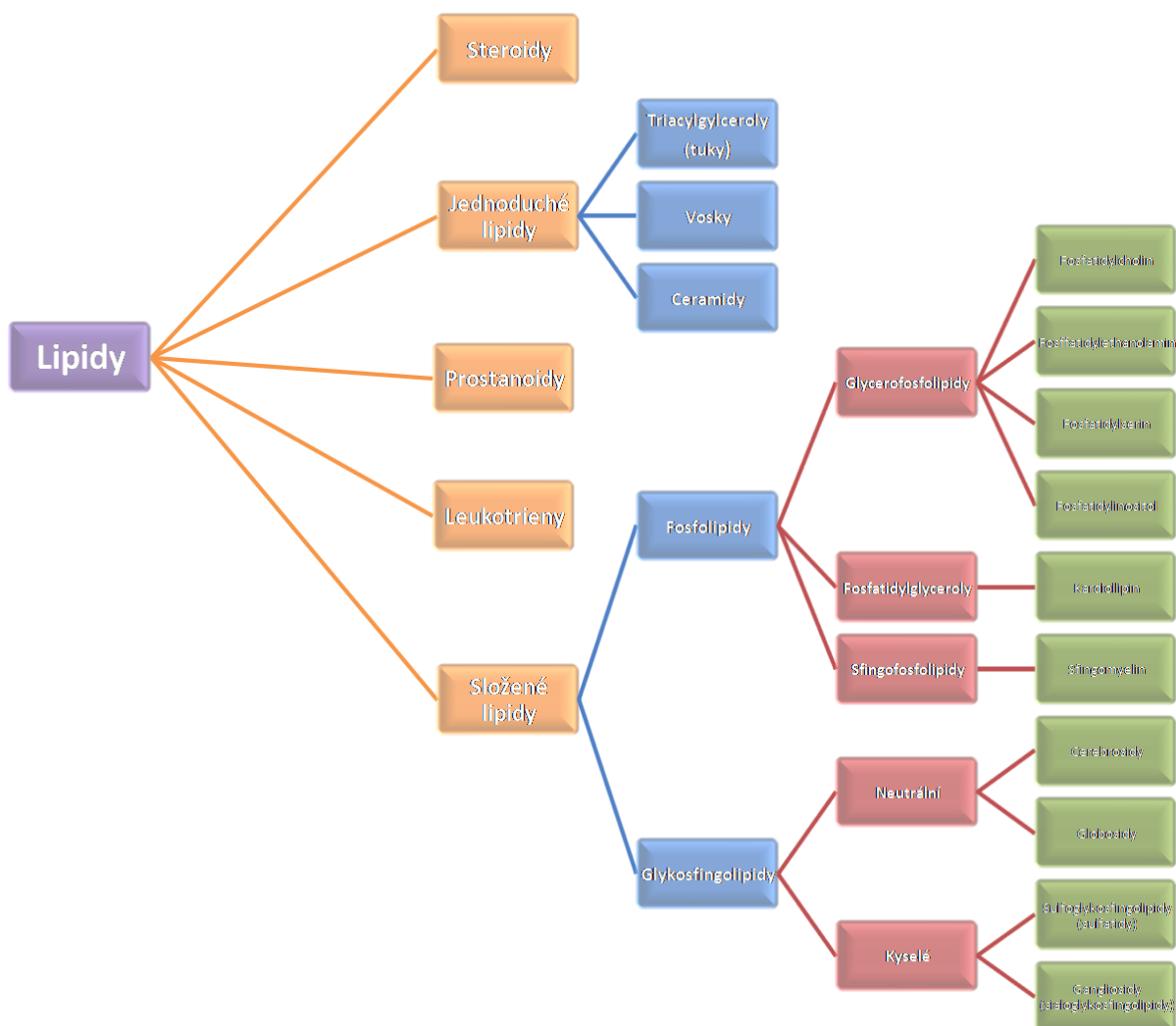


# 7 Metabolismus lipidů

## 7.1 Typy lipidů a metabolismus lipidů obecně



Poznámky ke schématu:

- Steroidy, i přes jejich odlišnou strukturu řadíme k lipidům proto, že stejně jako ony vznikají z Ac-CoA a mají hydrofobní charakter.
- Schéma je kombinací přednášky Metabolismus lipidů I a kapitoly 25 Lipidy (Lékařská chemie II)

Za den metabolizujeme asi **100 gramů triacylglycerolů** (dále TAG) a **mastných kyselin** (dále MK), jejichž odbouráním **získáme velké množství energie** – metabolismus lipidů je obecně **hlavním zdrojem energie pro organismus**.

Kromě TAG a MK metabolizujeme asi 2 gramy **strukturních lipidů**, jejichž metabolismus již nemusí být tak vydatným zdrojem energie.

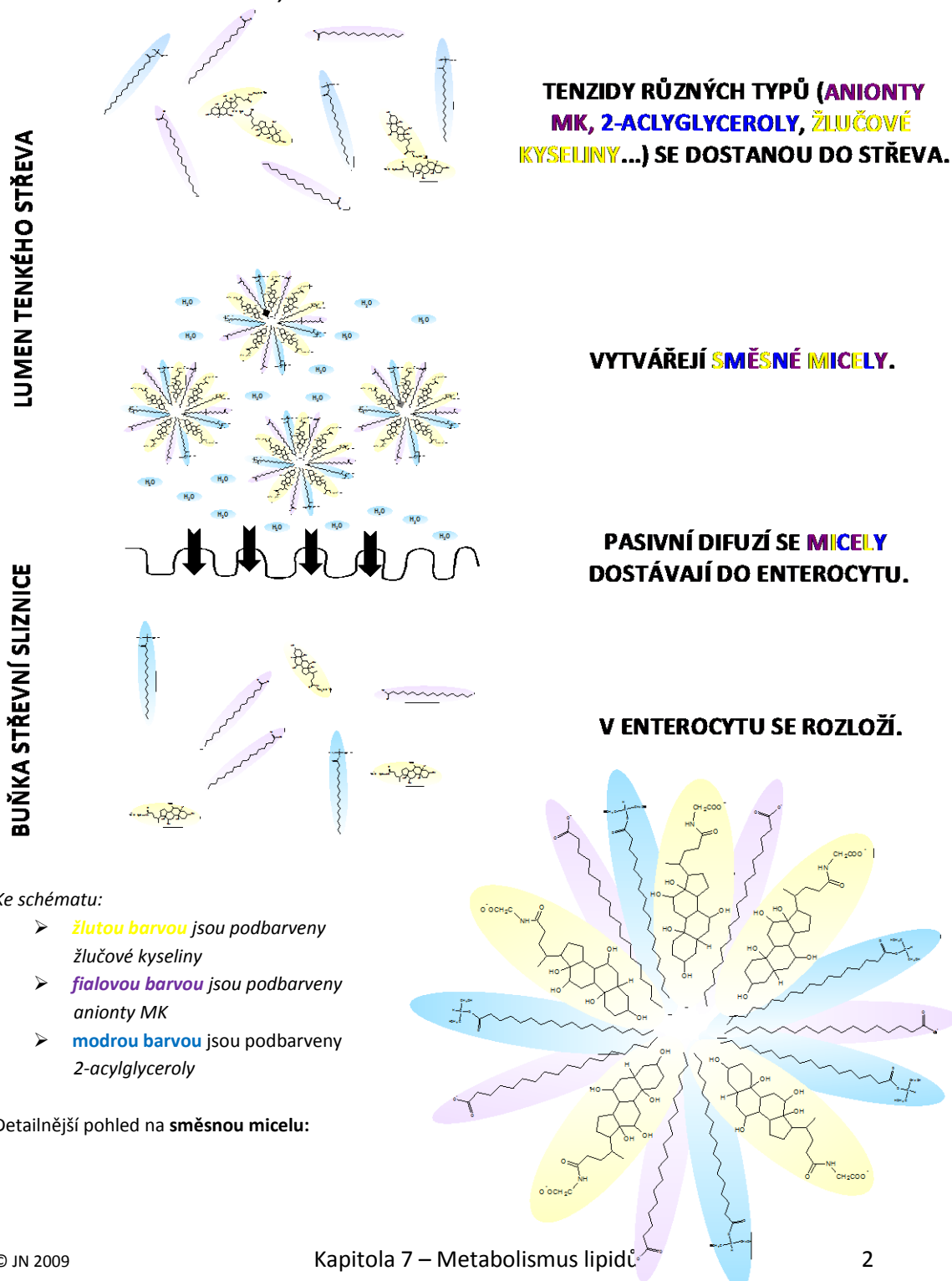
Oproti sacharidům a většině AK, jsou lipidy (především **TAG, MK, esterifikovaný cholesterol**) **hydrofobní (nepolární)**. Avšak prostředí, ve kterém probíhá metabolismus živin v našem těle je vyplněno vodou, která je **polární**. Proto se v těle nacházejí **přírodní tenzidy**, které umožňují **příjem, transport a metabolismus lipidů**.

## 7.2 Vstřebávání lipidů

První problém s tím, že jsou lipidy nepolární a vnitřní prostředí našeho těla polární, nastává v **tenkém střevě**. Řešením problému je **tvorba směsných micel**, kterou zajišťují **tenzidy tenkého střeva** jako **žlučové kyseliny, fosfolipidy, soli volných MK (mýdla) a 2-acylglyceroly**. Nepolární části lipidů se „schovají“ mezi polární tenzidy a v tomto „polárním obalu“ je možné je transportovat do buněk střevní sliznice.

*Pozn. Již úpravou pomocí střevních enzymů (hydrolýzou apod.) je možné změnit nepolární charakter některých lipidů v polární. Tyto již upravené lipidy se tak podílejí na vzniku micel a pomáhají transportovat doposud nepozměněné nepolární lipidy do enterocyty.*

Schéma vzniku směsné micely:



Tenzidy, které se podílejí na vstřebávání tuků, mají různý původ i strukturu – pro větší přehlednost využijeme tabulku:

**Tabulka 1 - Přírodní tenzidy při vstřebávání tuků**

| Tenzid           | Typ tenzidu | Původ                    |
|------------------|-------------|--------------------------|
| ŽLUČOVÉ KYSELINY | aniontový   | z cholesterolu v játrech |
| 2-ACYLGLYCEROL   | neiontový   | hydrolýza TAG ve střevu  |
| ANIONTY MK       | aniontový   | hydrolýza TAG ve střevu  |
| FOSFOLIPIDY      | amfoterní   | potrava                  |

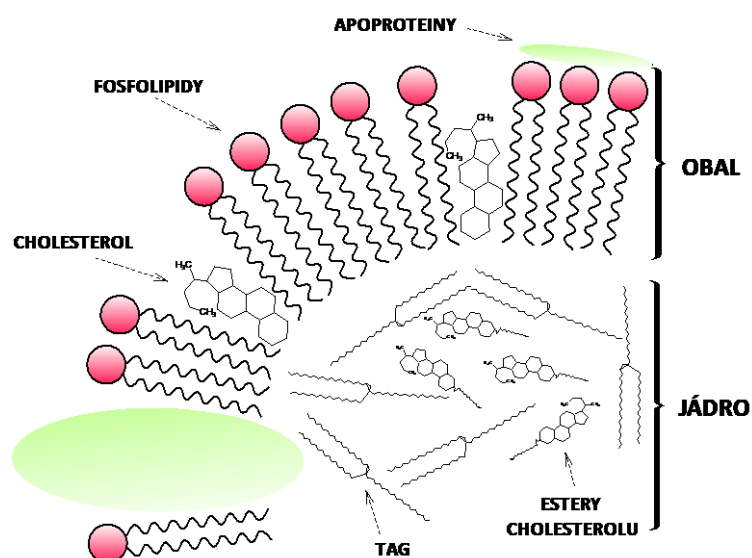
### 7.3 Přenos lipidů krvní plazmou

Z enterocytu se lipidy dostávají do **krvní plazmy**. Zde již nemohou být přenášeny ve formě micel, a tak **dochází k jejich vazbě na jiné látky**:

- **TAG** jsou v krevní plazmě transportovány ve formě **lipoproteinů**
- **mastné kyseliny** jsou v krevní plazmě transportovány **ve vazbě na albumin**

Podrobněji se zaměříme na **lipoproteiny**, o kterých můžeme říci, že jsou jakousi „**transportní formou**“ jinak nepolárních **lipidů v krvi**.

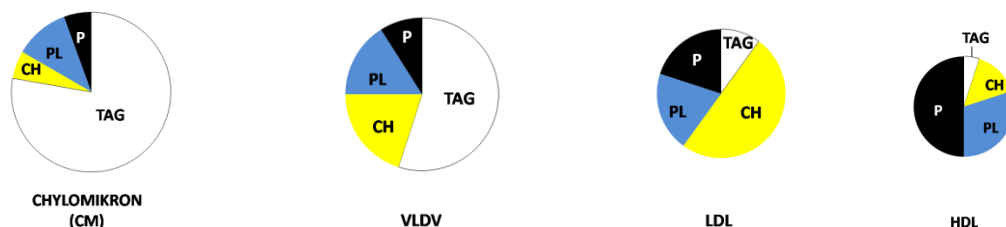
Lipoprotein se skládá z **jádra** a **obalu**. V jádře můžeme najít přenášené lipidy (TAG, estery cholesterolu), obal je tvořen z **fosfolipidů**, **cholesterolu** a **různých proteinů** (integrálních i periferních). **Velikost** lipoproteinu u **většiny typů nepřesahuje velikost koloidní částice** (tedy hranici 500 μm), pouze jeden typ (chylomikrony) má větší průměr než 500 μm.



Podle **různé hustoty** rozdělujeme lipoproteiny do 4 typů:

| Název                    | Hustota                      | Typ přenášených lipidů                    |
|--------------------------|------------------------------|---|
| <b>Chylomikrony (CM)</b> | nejnižší hustota             | lipidy přijaté potravou                   |
| <b>VLDL</b>              | very low density lipoprotein | lipidy vzniklé v játrech určené na export |
| <b>LDL</b>               | low density lipoprotein      | transport cholesterolu                    |

Hustota lipoproteinů je dána **jeho složením**. Zaměříme-li se na 4 základní stavební složky lipoproteinů (TAG – triacylglyceroly, CH – cholesterol, PL – fosfolipidy, P – proteiny), lze procentuální zastoupení těchto složek vyjádřit následujícími grafy.



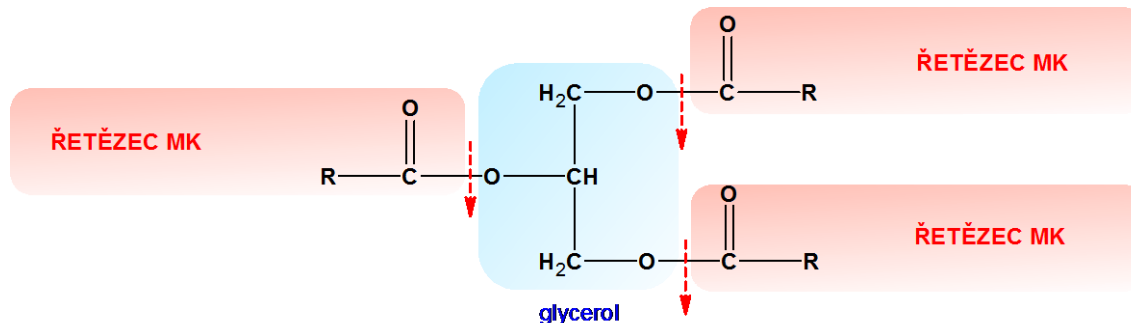
Poznámky:

- poměr velikostí grafů odpovídá i poměru velikostí daných lipoproteinů
- nejmenší hustotu mají TAG, vyšší PL, vyšší CH a největší P

## 7.4 Rozklad triacylglycerolů

Nejčastěji v potravě přijímáme triacylglyceroly, což jsou **estery glycerolu a mastných kyselin**. Jejich metabolismus začíná **hydrolýzou na glycerol a MK**. Glycerol a MK pak procházejí zcela odlišnými metabolickými drahami.

Rozklad TAG na glycerol a MK katalyzují enzymy **zvané lipasy** (enzymy ze skupiny **hydroláz**), které štěpí **esterovou vazbu mezi glycerolem a řetězcem MK**.



**Rozlišujeme extracelulární a intracelulární lipasy.**

Extracelulární lipasy působí v **tenkém střevě (pankreatická lipasa)**, **krvi (lipoproteinová lipasa)** a **na povrchu jaterních sinusoidů (jaterní lipasa)**.

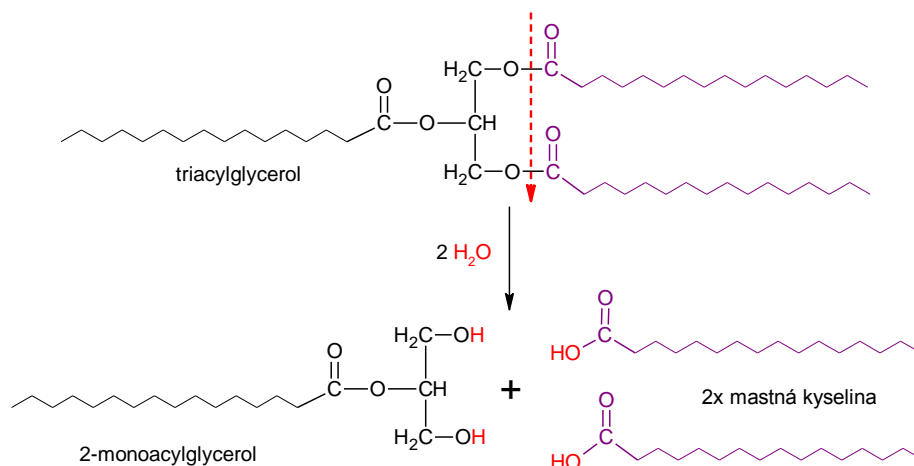
Intracelulární lipasy **působí v buňce** a rozlišujeme **adipocytární (hormonálně senzitivní) lipasu** (výskyt v **tukových buňkách**) a **kyselou lipasu** (výskyt v **lysozomech**).

Nyní se zaměříme na účinek vybraných lipas:

### A) Pankreatická lipasa

**Působí v tenkém střevě**, jejím úkolem je rozštěpit („*nahlodat*“) tuky přijaté potravou. Spolu s ní **působí i tzv. kolipasa**, která zajišťuje, že se nepolární TAG může v polárním prostředí s pankreatickou lipasou vůbec spojit.

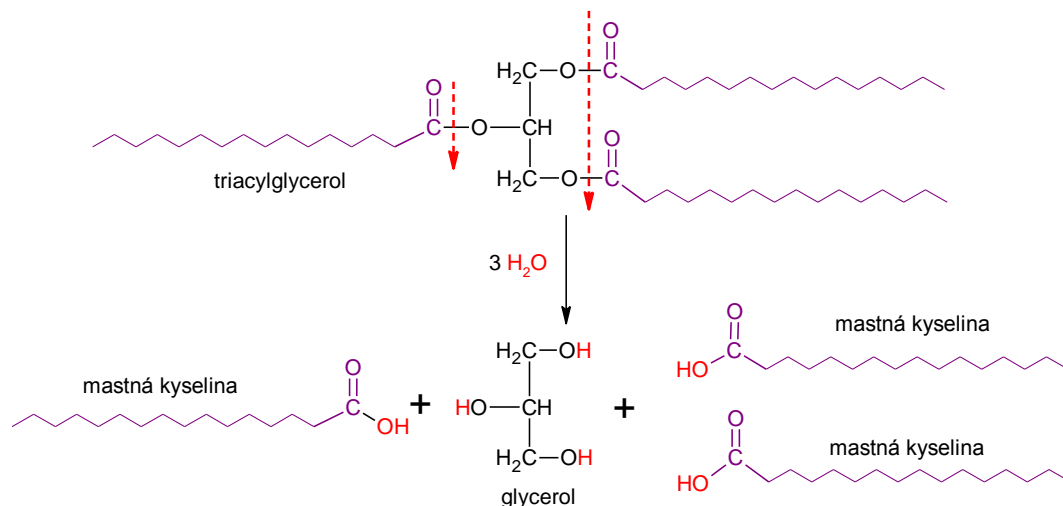
**Štěpení:** TAG → 2-monoacylglycerol + 2 MK (štěpí esterovou vazbu v pozicích 1 a 3)



### B) Lipoproteinová lipasa

Lipoproteinová lipasa působí na **chylomikrony a VLDL** v krvi – štěpí TAG v nich obsažené. Její účinek je úplný – **odštěpí od glycerolu všechny tři zbytky mastných kyselin**:

**Štěpení:** TAG → glycerol + 3 MK (štěpí esterovou vazbu v pozicích 1, 2, 3)



### C) Adipocytární lipasa

Adipocytární lipasa bývá též nazýváme **HSL** (hormon senzitivní lipasa). Působí v tukových buňkách a její **exprese je závislá na působení hormonů stresu (adrenalin a noradrenalin) a hormonu klidového hladovění (glukagonu)**. V okamžiku, kdy buňka organismus potřebuje energii, vyšle signál v podobě těchto hormonů, tukové buňky jej zachytí a začnou tuk, který doteď uchovávaly v zásobě, rozkládat na glycerol a MK. MK jsou následně z tukové buňky vyplaveny do krve, která je zanes tam, kde je jich potřeba (**myokard**, svaly, mozek, játra...) Stejně jako lipoproteinová lipasa, odštěpí do glycerolu všechny tři zbytky MK.

**Štěpení:** TAG → glycerol + 3 MK (štěpí esterovou vazbu v pozicích 1, 2, 3)

*(jelikož je reakce stejná jako v případě B), není potřeba ji znovu uvádět)*

## 7.5 Transport mastných kyselin

Doposud jsme se v kapitole 7 věnovali lipidům „jako celku“. V části 7.4 jsme je ale rozštěpili na glycerol a MK. Glycerolu se nyní věnovat nebudeme, zaměříme se na osudy MK.

Po té, co byly lipidy rozštěpeny v krvi, či adipocytech, uvolňují se do krevního oběhu **mastné kyseliny**. Ty jsou stejně jako lipidy **nepolární** a je proto potřeba zajistit jejich transport vazbou na další látku.

**V krvi je, jak již bylo zmíněno, touto látkou albumin** (jedná se o bílkovinu, která má dostatečné množství polárních i nepolárních skupin, aby byla schopná přenášet nepolární mastnou kyselinu). Poločas komplexu MK-albumin v krvi je zhruba **2 minuty** a jeho koncentrace se pohybuje okolo **1 mmol/l**.

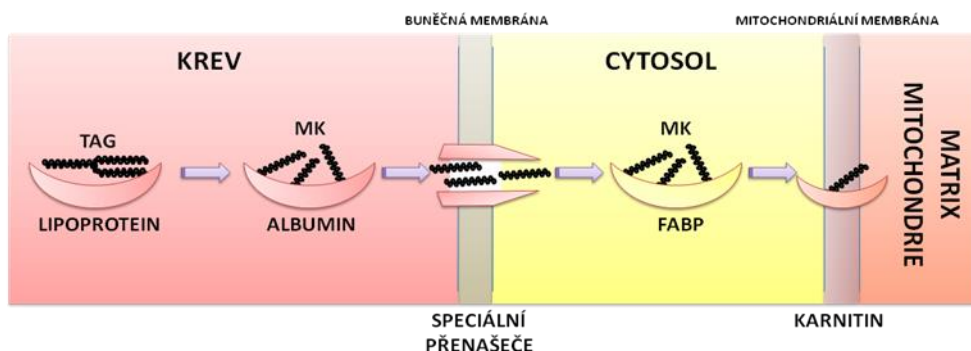
Z krve se mastná kyselina musí dostat do **buňky**. **Transport do buňky je zajišťován speciálními membránovými proteiny** (přenašeči).

Jakmile se mastná kyselina octne v buňce, je navázána na **FABP (fatty-acid binding protein)**, který ji přenáší tam, kde je v buňce zrovna potřeba – nejčastěji do mitochondrie.

**Přenos přes mitochondriální membránu je zajištěn vazbou na karnitin (karnitinový člunek)**.

Z mitochondrie již MK není potřeba nikam přenášet, neboť dochází k jejich degradaci za současného zisku velkého množství energie.

Celý přenos do mitochondrie znázorňuje následující schéma:



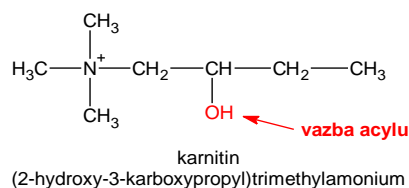
Ke schématu:

TAG jsou přenášeny krví ve formě **lipoproteinů**. Po jejich rozštěpení je potřeba volné MK navázat na **albumin**. Z krve se do buňky dostanou MK přes **speciální přenašeče**. Od buněčné membrány k mitochondriální membráně je přeneseno **FABP** a přes mitochondriální membránu jim pomůže **karnitinový člunek**.

## 7.6 $\beta$ -oxidace mastných kyselin

$\beta$ -oxidace mastných kyselin je velice významným metabolickým pochodem,  **který je hlavním zdrojem energie** v organismu. Probíhá v **matrix mitochondrie všech buněk** (kromě erytrocytů, které nemají mitochondrie). V jejím průběhu dochází k postupnému zkracování řetězce mastné kyseliny o 2 uhlíky (ve formě acetyl-CoA).

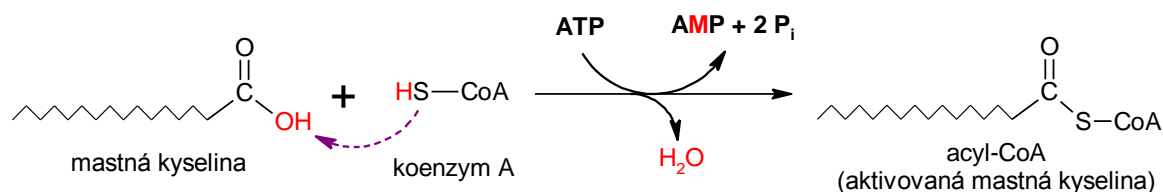
Pro přenos MK<sup>1</sup> do mitochondrie (*jak bylo zmíněno výše*) je potřeba **karnitin**:



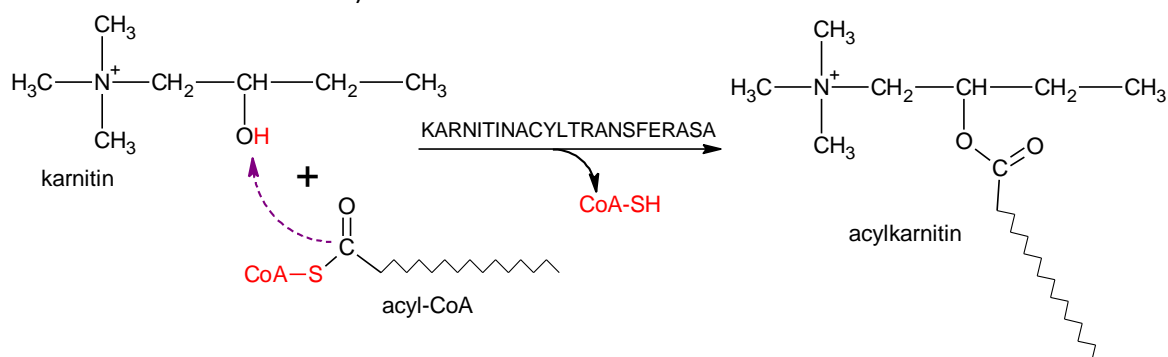
<sup>1</sup> Pouze MK s 12 a více uhlíky. Kratší MK se přes mitochondriální membránu dostanou samy.

Na –OH skupinu karnitinu se **esterovou vazbou** naváže MK a vytvoří s ním **acylkarnitin**. Navázání MK a její následný přenos probíhají v několika krocích:

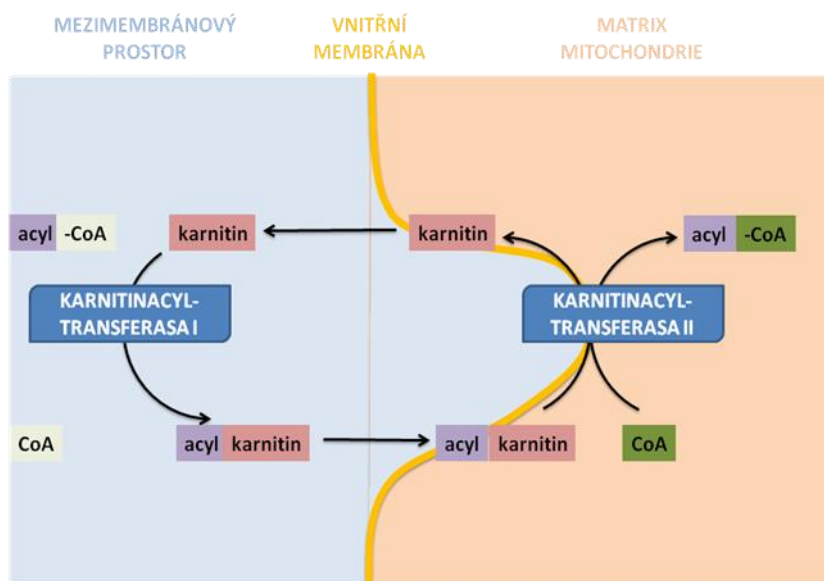
Ještě v **cytoplasmě** dochází k **aktivaci MK na acyl-CoA**. Jedná se o energeticky náročný děj, při kterém dochází k **rozštěpení ATP na AMP a 2 fosfáty** (spotřebovala se tedy energie ekvivalentní **2 ATP**). Reakci katalyzuje enzym **acyl-CoA syntetasa** (enzym ze skupiny **thiokinas**).



Aktivovaná MK (acyl-CoA) je následně pomocí enzymu **karnitinacyltransferasy<sup>2</sup>** přenesena na karnitin (**k navázání na karnitin dochází v mezimembránovém prostoru** mezi vnější a vnitřní mitochondriální membránou).



Vzniklý acylkarnitin je nyní transportován přes **vnitřní mitochondriální membránu do mitochondrie**. Na vnitřní mitochondriální membráně se nachází druhá forma enzymu karnitinacyltransferasy, která odštěpí acyl od karnitinu, přičemž karnitin vrátí zpět do mezimembránového prostoru a acyl přesune do mitochondriální matrix (kde dojde k jeho reakci s koenzymem A za vzniku acyl-CoA, tentokrát bez spotřeby energie).

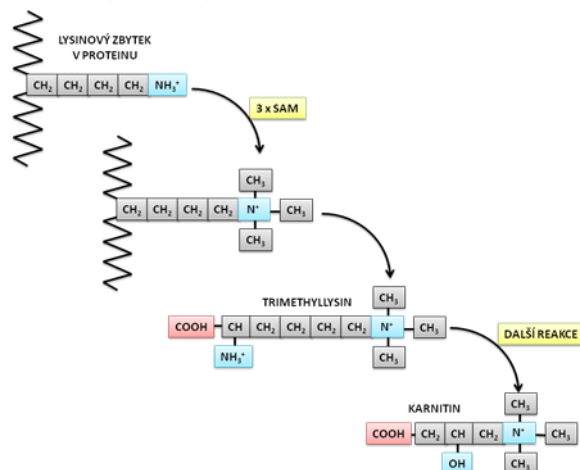


<sup>2</sup> Karnitinacyltransferasa je **inhibována malonyl-CoA**. Inhibice malonyl-CoA zajišťuje, že se do mitochondrie dostane MK jen v případě, že buňka chce provádět  $\beta$ -oxidaci. Malonyl-CoA je totiž důležitou složkou při **syntéze MK** a bylo by nelogické v jednu chvíli MK odbourávat a zároveň je syntetizovat.

## Několik slov o karnitinu

Karnitin je velice důležitou látkou, lze jej svým způsobem považovat i za „vitamin“. **Lidské tělo si jej umí vyrobit z lysinu<sup>3</sup>** (10-20 mg/den), důležitější je **jeho příjem potravou** (cca 100 mg/den) z **masa a mléka**, méně i z rostlinných zdrojů. **Tělo karnitinem šetří – v ledvinách je zpětně resorbováno 98-99% karnitinu!**

Syntéza karnitinu v lidském těle (schéma):



Ke schématu:

Ještě ve vazbě na protein je lysinový zbytek **tříkrát methylován** pomocí SAM. Následně dojde k proteolýze a uvolnění trimethyllysinu. Ten podstoupí řadu dalších reakcí a vznikne z něj **karnitin**.

Nedostatek karnitinu může různé příčiny i projevy. Nejčastější příčiny nedostatku jsou:

- **vrozená porucha transportu karnitinu** (tělo si karnitin vyrobit, ale neumí jej dostat z ledvin a jater)
- **některá onemocnění orgánů** (zejména jater a ledvin, které karnitin produkují)
- **porušená tubulární resorpce** (místo 98-99% se resorbuje méně)
- **velké ztráty tekutin** (popáleniny, průjmy, hemodialýza...)
- **různé léky** (mohou inhibovat transport, např. **doxorubicin, lidokain, platina...**)
- **snížená biosyntéza** (způsobená podvýživou nebo nedostatečným příjmem lysinu)

Nedostatek karnitinu se projevuje **především ve svalech a v játrech**.

V játrech způsobuje **hypoketotickou hypoglykémii** (=hypoglykémii spojenou s ketoacidózou), která se projevuje **při hladovění**. Tělo při hladovění potřebuje energii z  $\beta$ -oxidace MK, která ale nemůže probíhat, protože se MK nemají jak dostat do mitochondrií. Potřebná energie je tak získávána z krevní glukosy, což vede k hypoglykémii.

Ve svalech vede nedostatek karnitinu ke **svalové slabosti** a při zatížení až ke **svalovým křečím**.

Při nedostatku karnitinu je potřeba jej **doplňovat (suplementovat)**, aby nedošlo k výše popsaným stavům. Problémem je ale jeho **resorpce** – při příjmu karnitinu **běžnou stravou** dojde k resorpci asi **75%** karnitinu (=velmi dobré), ale při užití **karnitinových suplementů** se resorbuje pouze 5-10% z celkového množství (podávané dávky tak musí být velmi vysoké).

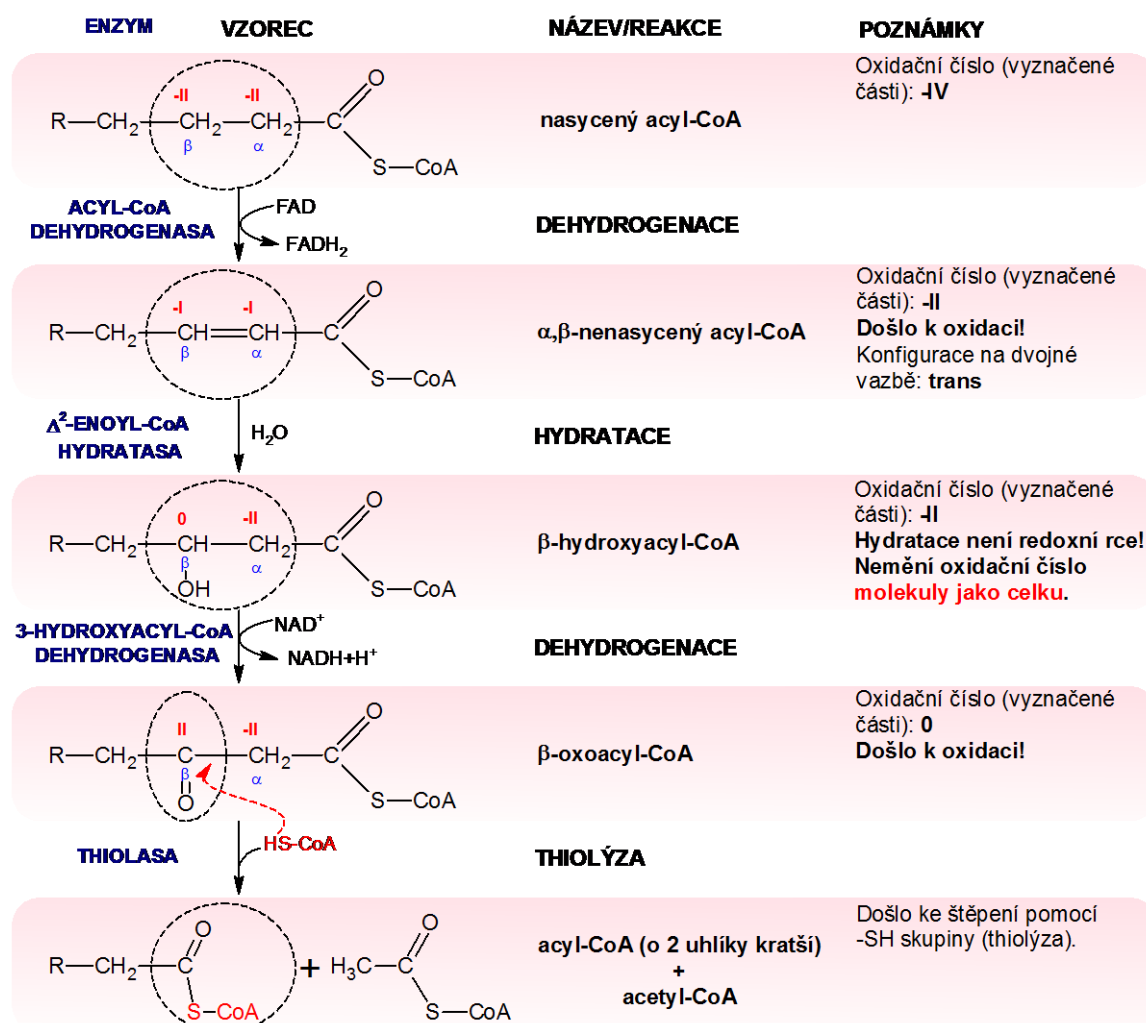
Někteří lidé (zejména sportovci) využívají karnitin jako **doplněk stravy**. Mnohá zjištění o funkci a dynamice karnitinu nasvědčují tomu, že při nadměrné fyzické zátěži může být karnitin jako doplněk stravy prospěšný, ale doposud nebyly dodány žádné přesvědčivé důkazy. Pokud je však karnitin podáván, musí být podáván ve své **L-formě** (L-karnitin), protože jeho D-forma (či racemát) organismu škodí (D-karnitin je pro přenos acylů nepoužitelný a může dokonce blokovat funkci L-karnitinu). Nadbytečný karnitin je navíc vylučován potem a močí, kterým dodává nepříjemný zápach.

<sup>3</sup> Pouze **játra a ledviny**. Odtud je karnitin transportován do ostatních tkání.



## Jednotlivé reakce $\beta$ -oxidace

Aktivovaná mastná kyselina se nyní ocitá v mitochondrii a je potřeba získat energii. V průběhu  $\beta$ -oxidace dochází k oxidaci třetího ( $\beta$ ) uhlíku, k čemuž jsou využívány 4 reakce: **dehydrogenace** → **hydratace** → (2.) **dehydrogenace** → **odštěpení acyl-CoA**.



Poznámky ke schématu:

- Enzymy acyl-CoA dehydrogenasa,  $\Delta^2$ -enoyl-CoA hydratasa<sup>4</sup>, 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenasa a thiolasa se souhrnně nazývají **oxidasa MK**.
- Enzym acyl-CoA dehydrogenasa (katalyzující 1. dehydrogenaci) se vyskytuje ve **čtyřech hlavních typech** pro **MK s krátkým, středním, dlouhým a velmi dlouhým řetězcem**. V druhém typu (pro MK se středním řetězcem, tzv. **MCAD**) se často vyskytují **vrozené poruchy** (nastává jeho deficit), což vede k **intoleranci k delšímu hladovění**, která **způsobuje hypoglykemickou koma**. To více méně znamená, že člověk s deficitem tohoto typu enzymu je schopný natrávit dlouhé řetězce a udělat z nich střední, ale ty již dále zpracovat neumí. Pokud se mu nedostává potravy, může upadnout do hypoglykemického komatu **již po 10 hodinách** (kdy již spotřeboval zásoby glykogenu) bez jídla. Deficit tohoto enzymu se ve zvýšené míře vyskytuje v severozápadní Evropě (až 90% populace!) a velmi nebezpečný je především pro kojence – je příčinou 5% SIDS (sudden infant death syndrome) – kteří nejsou přes noc krmeni a hrozí jim tak smrt.
- Ještě jednou si povšimněme hydratace, která není redoxní reakcí! Oxidační číslo  $\alpha$  uhlíku se sice změnilo z -I na -II a oxidační číslo  $\beta$  uhlíku se změnilo z -I na 0, ale oxidační číslo molekuly jako celku se nezměnilo!
- $\alpha,\beta$ -nenasycený acyl-CoA se vyskytuje ve své **trans-konfiguraci**! Nenasycené MK přijaté potravou však mají (většinou) konfiguraci **cis**. Při jejich  $\beta$ -oxidaci je potřeba je tedy přeměnit na trans (viz dále).

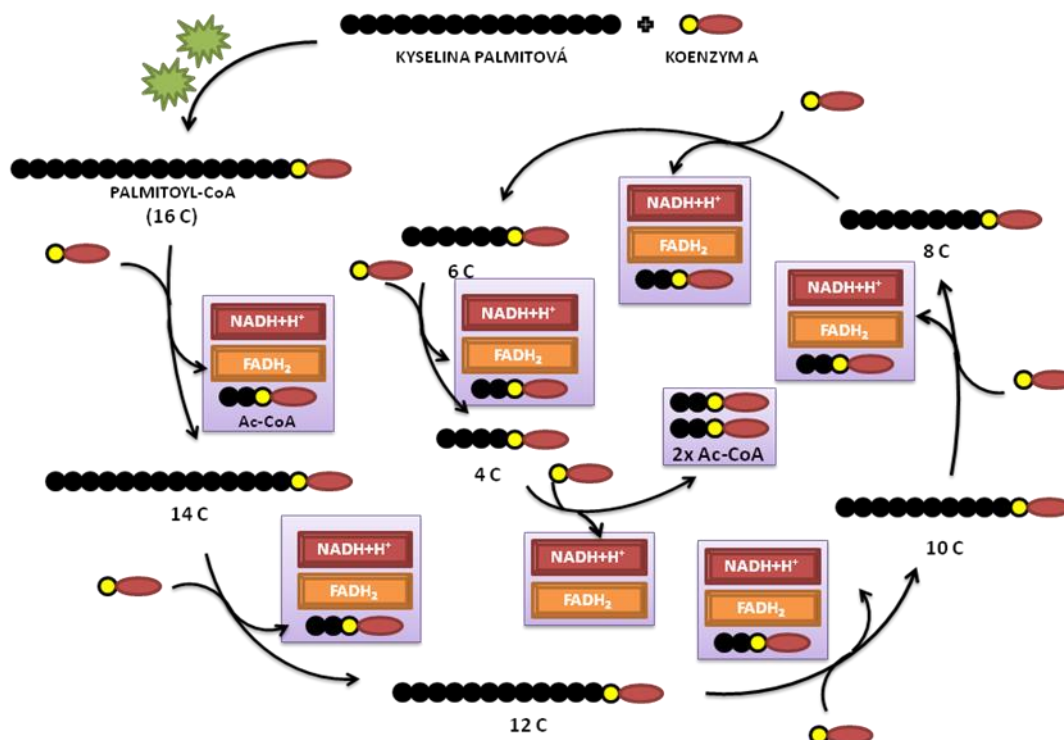
<sup>4</sup> Symbol  $\Delta$  v názvu značí „normální číslování“ od -COOH skupiny.

## 7.7 Energetická bilance $\beta$ -oxidace

Výpočet energetické bilance provedeme na palmitoyl-CoA, který má **16 uhlíků**. Při výpočtech budeme vycházet z již známých ekvivalencí:

- 1  $\text{FADH}_2 = 2 \text{ ATP}$
- 1  $\text{NADH} + \text{H}^+ = 3 \text{ ATP}$
- 1  $\text{Ac-CoA} = 3 \times \text{NADH} + \text{H}^+ + 1 \times \text{FADH}_2 + 1 \times \text{GTP} = 12 \text{ ATP}$

Další věc, s kterou musíme počítat, je že z palmitoyl-CoA (16C) vznikne **8 Ac-CoA (2C)**, ale  **$\beta$ -oxidace proběhne jen sedmkrát**. Názorněji viz následující schéma:



Pro přehlednost výpočtu využijeme tabulku:

| Reakce   | Redukované koenzymy/Ac-CoA   | Zisk ATP                         |
|--|--|----------------------------------|
| k. palmitová + CoA $\rightarrow$ palmitoyl-CoA | ---  | - 2ATP                           |
| 7x $\beta$ -oxidace                            | 7x $\text{NADH} + \text{H}^+$<br>7 x $\text{FADH}_2$<br>8 x Ac-CoA | + 21 ATP<br>+ 14 ATP<br>+ 96 ATP |
| <b>CELKEM</b>                                  |  | <b>129 ATP</b>                   |

Z jedné molekuly kyseliny palmitové získáme energii **129 ATP**.

Výpočet pro další **nasycené MK** by probíhal obdobným způsobem (např. pro kyselinu stearovou, která má 18C: - 2ATP (aktivace) + 24 ATP (8x $\text{NADH} + \text{H}^+$ ) + 16 ATP (8x $\text{FADH}_2$ ) + 108 ATP (9xAcCoA) = **146 ATP**)

Nyní provedeme srovnání zisku ATP z aerobní glykolýzy a  $\beta$ -oxidace:

- GLUKOSA (6C) zisk 38 ATP na jeden uhlík:  $38/6 = 6,3 \text{ ATP}$
- MASTNÁ KYS. (16C) zisk 129 ATP na jeden uhlík:  $129/16 = 8,1 \text{ ATP}$

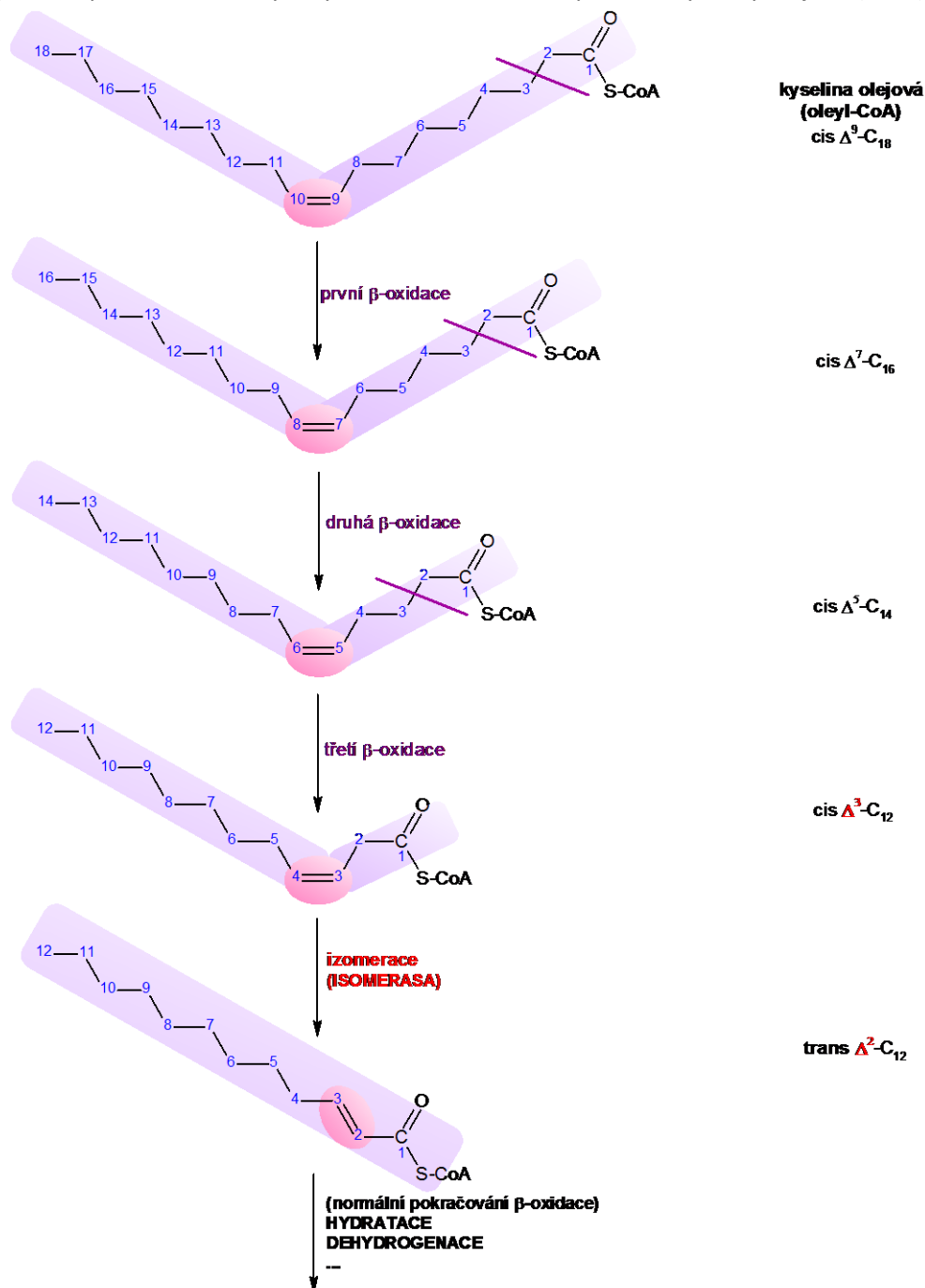
**Vidíme, že oxidací jednoho uhlíku glukosy získáme 6,3 ATP. Z oxidace jednoho uhlíku mastné kyseliny získáme 8,1 ATP, což je zhruba 1,3 krát více než z uhlíku glukosy. Rozdíl je způsoben „oxidačním spádem“ – uhlíky v mastných kyselinách jsou více redukovány, je možné je tedy více oxidovat, tedy získat více energie.**

## 7.8 Další způsoby oxidace různých mastných kyselin

V této podkapitole se budeme zabývat metabolismem **nenasycených MK**, **polynenasycených MK** a **MK s lichým počtem uhlíků**. Rovněž se zmíníme o  **$\beta$ -oxidaci v peroxisomech**.

### A) Nenasycené MK

Jak probíhá  $\beta$ -oxidace nenasycených MK si ukážeme na příkladu kyseliny olejové (18:1(9))



Nejprve probíhá normální  $\beta$ -oxidace, dokud se příslušné enzymy, které ji provádějí, nedostanou ke dvojně vazbě. Jakmile zjistí její přítomnost, dají signál enzymu **isomerase**, která přesmykne dvojnou vazbu z pozice 3 na pozici 2. Tímto přesmykem jsme se dostali zpět do normální  $\beta$ -oxidace (vznikl  $\Delta^2$ -enoyl-CoA). Tím, že jsme nemuseli vytvořit dvojnou vazbu **dehydrogenací** nám nevzniklo FADH<sub>2</sub>, které bychom museli odečíst při energetické bilanci.

## B) Polynenasycené MK

U polynenasycených MK to probíhá obdobně jako u MK nenasycených.

Vezměme si např. kyselinu linolovou (18:2(9;12)). Dvojně vazby na **devátém** uhlíku se zbavíme zcela stejným způsobem jako u kyseliny olejové. Dvojně vazby na **dvanáctém** uhlíku se zbavíme obdobným způsobem (izomerací na druhý uhlík).

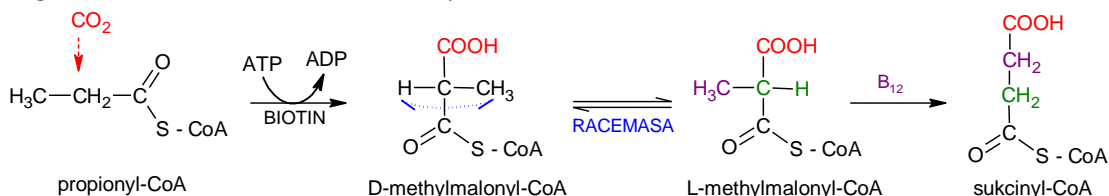
Opět musíme počítat s tím, že za každou dvojnou vazbu, kterou si nevyrobíme dehydrogenací, nezískáme FADH<sub>2</sub>.

## C) MK s lichým počtem uhlíků

Většina MK přijatých potravou obsahuje sudý počet uhlíků. I přesto se do těla občas (např. kvůli nevhodnému zpracování potravin) dostanou MK s lichým počtem uhlíků.

Tělo s nimi zachází jako by měly počet uhlíků sudý a zkracuje je o 2 uhlíky při každé proběhnuté β-oxidaci. Na konci (štěpením pětiuhlíkaté kostry) však nezískáme 2 Ac-CoA, ale jeden Ac-CoA a jeden **propionyl-CoA**.

**Propionyl-CoA** se stejně jako Ac-CoA zapojí do **citrátového cyklu**. Nejprve dojde k jeho karboxylaci na **malonyl-CoA** a ten je následně přeměněn na **sukcinyl-CoA**, který je již regulérním substrátem citrátového cyklu.

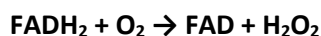


*Pozn. Pověsimněme si, že při přeměně L-methylmalonyl-CoA na sukcinyl-CoA působí jako kofaktor vitamin B<sub>12</sub>. Opět můžeme zdůraznit, že se jedná o „podivnou reakci“, při které je -CH<sub>3</sub> skupina přemístěna z postranního řetězce do hlavního řetězce („přenos jednouhlíkatého zbytku“ v rámci jedné molekuly)*

## D) β-oxidace v peroxisomech

MK, které **mají více než 20 uhlíků**, musí před β-oxidací v matrix mitochondrií **projít β-oxidací v peroxisomech**. Jedná se o jakousi „předběžnou“ β-oxidaci, která probíhá za účelem zkrácení řetězce MK. Po zkrácení je molekula MK přenesena do mitochondrie.

Při β-oxidaci v peroxisomech slouží jako **kofaktor FAD**. Problémem je, že vzniklý FADH<sub>2</sub> nemůže opustit peroxisom a reoxidovat se v mitochondrii – jeho reoxidace musí proběhnout v peroxisomu za účasti **molekulárního O<sub>2</sub>** – při této reakce vzniká **peroxid vodíku**:



## 7.9 Význam β-oxidace

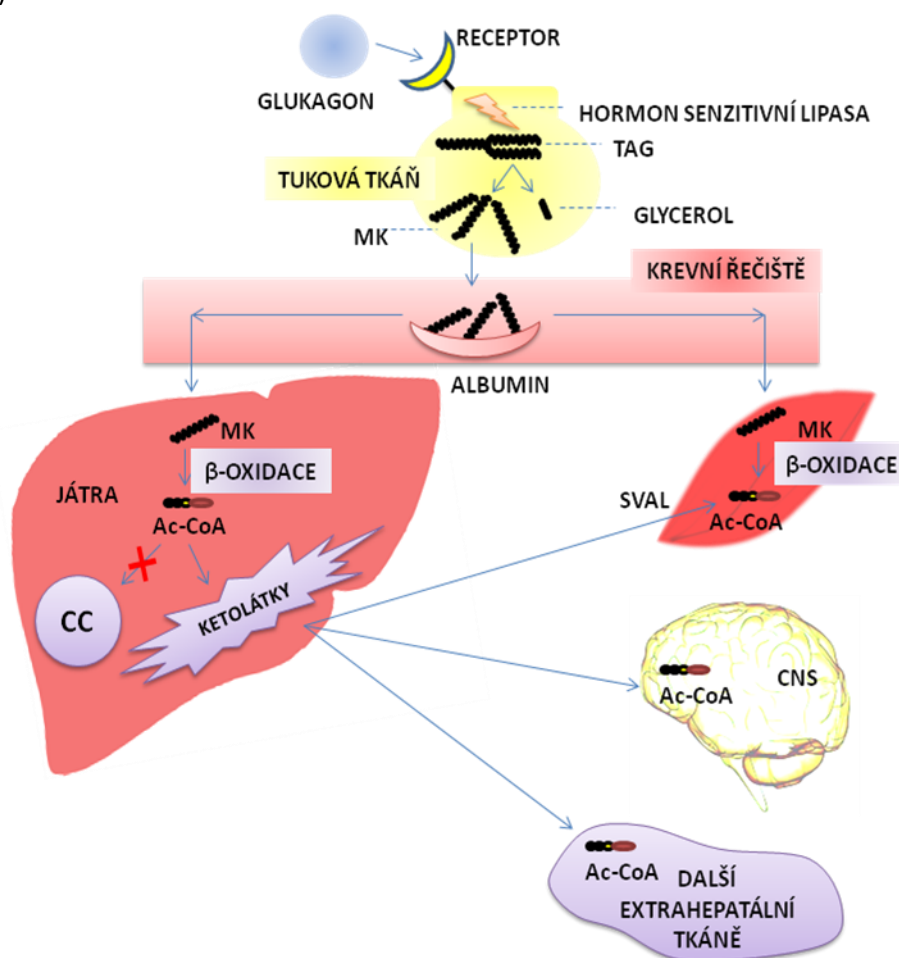
Jak již bylo řečeno, je β-oxidace **významným zdrojem energie**. Probíhá v případě, že **buňka již využila moc glukosy a potřebuje energii** (tedy v postresorpční fázi) – **čím déle je organismus po jídle, tím více tkání přechází na β-oxidaci**. Nejdříve začíná β-oxidace v **myokardu** (který potřebuje velké množství energie), následně v ostatních svalech a v játrech.

Lipidy přijaté potravou byly uloženy v tukových buňkách. V případě hladovění je potřeba, aby je tukové buňky vrátily do oběhu. Se začátkem postresorpční fáze nastává **v tukových buňkách**



**TAG.** Jakmile jsou rozštěpeny, jsou vyplaveny vzniklé MK do krve a dostávají se do jater. **V játrech je započata jejich  $\beta$ -oxidace** a vzniká **Ac-CoA**. Jakmile je Ac-CoA mnoho, je **přehlcen citrátový cyklus** (v buňce je velké množství Ac-CoA, nemá dostatek oxalacetátu<sup>6</sup>, na který by se Ac-CoA mohl navázat a tak se Ac-CoA hromadí v cytoplasmě). Ac-CoA, který není možné zapojit do citrátového cyklu, je **následně přeměn na ketolátky** (konkrétně na **acetoacetát**) – k tomuto ději dochází **pouze v játrech!**

Ketolátky jsou následně vyplaveny z jater a v **extrahepatálních tkáních** jsou využívány jako zdroj energie<sup>7</sup>. Oproti tukům, které stály na úplném počátku syntézy ketolátek, jsou **ketolátky dobře rozpustné ve vodě** a jelikož slouží jako zdroj energie, jsou označovány jako „**rozpustné tuky**“ (lze tedy říci, že v játrech byly nerozpustné tuky (TAG, MK) přeměněny na tuky rozpustné (ketolátky)).



*Poznámka:*

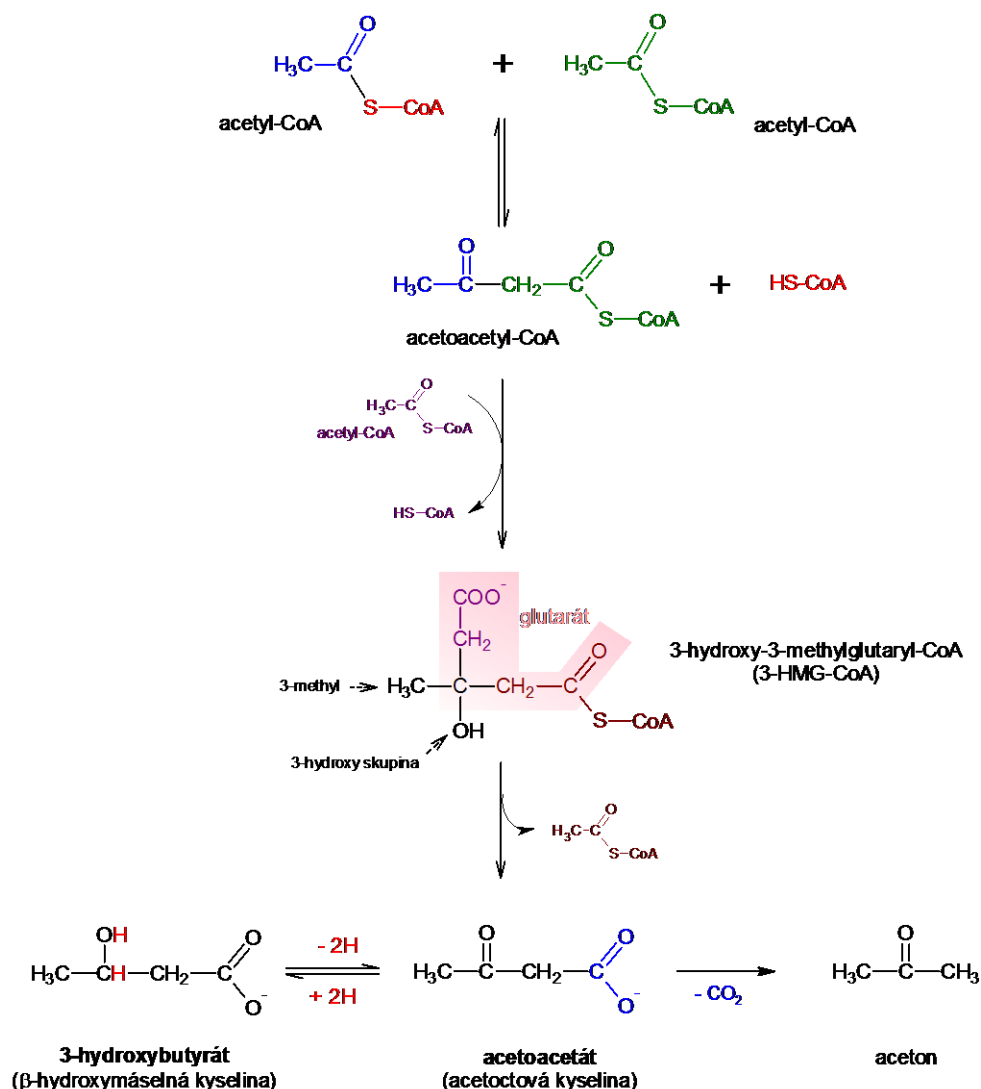
Po několika dnech hladovění se v **mozku začne ve větší míře syntetizovat thiofarasa** (enzym potřebný k tomu, aby se acetoacetát přeměnil zpět na 2 molekuly Ac-CoA) a ketolátky se tak pro mozek stávají velmi významným zdrojem energie!

<sup>6</sup> Reakce Ac-CoA + oxalacetát je první reakcí citrátového cyklu, množství oxalacetátu tedy ovlivňuje rychlost tohoto cyklu. Při hladovění je navíc množství oxalacetátu v buňce snižováno i tím, že je zapojen do glukoneogeneze (buňka si chce vyrobit nějakou tu glukosu...) a to jen podpoří syntézu ketolátek.

<sup>7</sup> Ketolátky mohou být využity jako zdroj energie pouze v **extrahepatálních tkáních!!!** Již jednou vzniklý acetoacetát nemůže být v játrech zpětně rozložen, protože k tomu játra nemají potřebné enzymy!

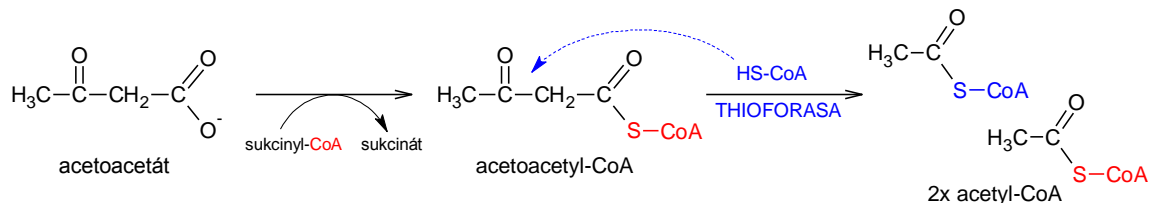
### C) Syntéza ketoláték

Probíhá v **matrix mitochondrií jaterních buněk!!!** Nejprve dochází ke spojení dvou molekul **Ac-CoA** za vzniku **acetoacetyl-CoA**, který je následně přeměněn na **HMG-CoA** a ten na **acetoacetát**. Z acetoacetátu naznačenými reakcemi dochází ke vzniku dalších ketoláték.



### D) Přeměny ketoláték v extrahepatálních tkáních (získ energie)

Ketolátky sice **vznikají v játrech**, ale **využívány jsou extrahepatálními tkáněmi**. Citrátový cyklus extrahepatálních tkání není tak přehlcen jako v játrech (mj. není odčerpáván potřebný oxalacetát do reakcí glukoneogeneze, protože ta v extrahepatálních tkáních neprobíhá), proto dochází k rozkladu ketoláték zpět na Ac-CoA, jeho zapojení do citrátového cyklu a ke vzniku energie.



Přílišná tvorba ketoláték bohužel vede ke **ketoacidóze**.

## 7.11 Syntéza mastných kyselin

V případě, že má buňka **málo** energie a hodně Ac-CoA (většinou vzniklého rozkladem MK), dochází k syntéze ketolátek (kap. 7.10).

Má-li buňka **dostatek** energie a hodně Ac-CoA (vzniklého jinak než rozkladem MK), je tento Ac-CoA využit k **syntéze mastných kyselin**.

V této kapitole se budeme zabývat tím, kdy, kde a především jak k této syntézedochází.

### A) Kdy (za jakých podmínek) a kde probíhá syntéza MK

Syntéza mastných kyselin probíhá **především v játrech, v omezené míře v adipocytech** a také **v laktující mléčné žláze**.

Buněčná lokalizace: **cytoplazma**

To, že syntéza MK probíhá v cytoplazmě může činit drobné potíže. Většina Ac-CoA v těle **vzniká v mitochondriích (oxidační dekarboxylace pyruvátu)** vzniklého ze škrobu, glukosy, AK...). Je tedy potřeba zajistit transport Ac-CoA z mitochondrií do cytoplazmy. Tento **transport se odehrává v podobě citrátu**.

Citrát vzniká k citrátovému cyklu syntézou oxalacetátu a Ac-CoA. Po té, co citrát vznikne musí buňka rozhodnout<sup>8</sup>, zda:

- ponechá citrát v mitochondrii a získá z něj energii v citrátovém cyklu
- pošle ho „zaplavat si“ přes mitochondriální membránu do cytoplazmy a tam jej zapojí do syntézy MK

Rozhodnutí buňky je ovlivněno jejím metabolickým stavem. **Do cytoplazmy pošle citrát v případě, že není potřebný v citrátovém cyklu**. V citrátovém cyklu není citrát potřebný v případě, že má buňka dostatek energie (glukosy) a může si tak vytvářet zásoby na horší časy. V takovém stavu se buňka nachází **především po jídle**.

### B) Jak probíhá syntéza MK

Syntéza MK probíhá z Ac-CoA v cytoplazmě buněk (jak již bylo zmíněno). Můžeme rozlišit základní tři kroky:

- transport Ac-CoA z matrix do cytoplazmy
- tvorba malonyl-CoA (+ tvorba NADPH+H<sup>+</sup>)
- série reakcí na komplexu synthasy mastných kyselin

### Transport citrátu do cytoplazmy

Pro popis této části syntézy MK využijeme schéma na následující stránce, které zachycuje vzájemné přeměny reagujících látek.

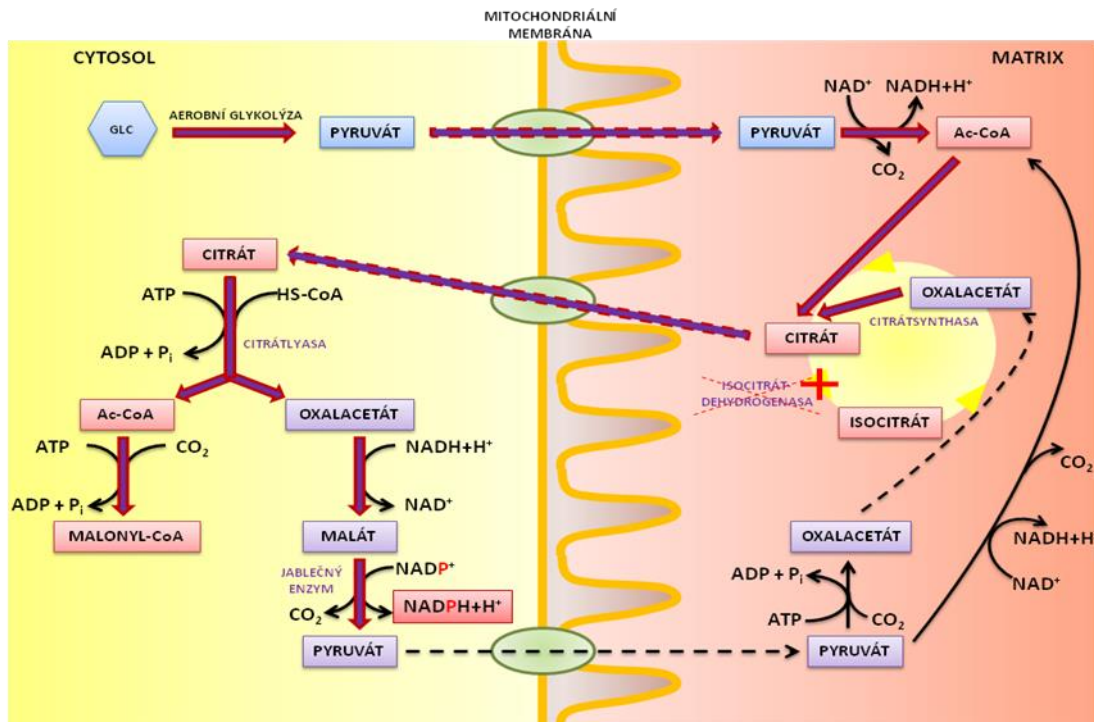
Ke schématu:

*Tučnými šipkami je znázorněna ta část reakcí, které vedou k syntéze MK:*

Začněme od úplného začátku: Glukosa je v aerobní glykolýze přeměněna na pyruvát. Pyruvát je přenesen do mitochondrií a zde je přeměněn na Ac-CoA. Vzniklý Ac-CoA se spojí v citrátovém cyklu s oxalacetátem za vzniku citrátu. Citrát (má-li buňka dost energie) je přenesen přes mitochondriální membránu do cytoplazmy, kde je zpětně rozložen na Ac-CoA (který se přemění na **malonyl-CoA** potřebný pro syntézu MK) a **oxalacetát**, který je přeměněn na **malát** a **pomocí jablečného enzymu** na pyruvát. Tato reakce poskytne **NADPH+H<sup>+</sup>** potřebné pro syntézu MK.

<sup>8</sup> Podobné rozhodování musela buňka vykonat v GNG s oxalacetátem (buď ho přemění na malát a pošle do cytoplazmy, nebo si ho ponechá v mitochondrii a zapojí jej do CC).





Tenkými šipkami jsou znázorněny další možné osudy pyruvátu vzniklého v reakci jablečného enzymu:

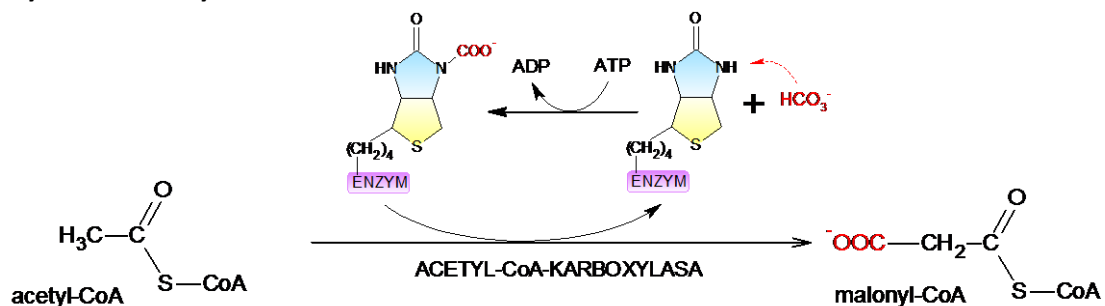
Pyruvát vzniklý reakcí jablečného enzymu se nyní může vrátit do mitochondrie a být oxidativně dekarboxylován za vzniku dalšího Ac-CoA, nebo je možná jej karboxylovat za vzniku oxalacetátu, který se může zapojit do CC (jedná se o anaplerotickou reakcí CC).

Fialovou barvou jsou znázorněny významné enzymy znázorněných přeměn.

Červená barva (křížek) naznačuje, která reakce je utlumena. Tím, že dojde k útlumu této reakce, je možné přenést citrát do cytosolu. Přesněji jde o to, že enzym *isocitrátdehydrogenasa* je inhibován vysokou hladinou ATP (= „buňka má dost energie, není potřeba dále provádět citrátový cyklus, je čas vytvářet zásoby“)

### Tvorba malonyl-CoA

Acetyl-CoA, který vzniká oxidativní dekarboxylací pyruvátu, a který se výše popsaným způsobem dostal do cytoplazmy, nemá dostatečnou energii k tomu, aby vstoupil do syntetických reakcí vedoucím k mastným kyselinám. Je proto potřeba jej povýšit na vyšší energetickou úroveň přeměnou na malonyl-CoA. Jedná se o karboxylaci (kofaktor: biotin), kterou katalyzuje enzym acetyl-CoA-karboxylasa.



Enzym Ac-CoA-karboxylasa rozhoduje o rychlosti syntézy MK. Tento enzym je aktivován citrátem („už si dal tu práci a přešel přes membránu“) a inhibován acylem-CoA (acylem s dlouhým řetězcem), který více méně nese informaci „buňka obsahuje velké množství MK, je

zbytečné je syntetizovat“; navíc dlouhé acyl-CoA jsou produktem syntézy MK (jedná se tedy o inhibici produktem).

Hormonální regulaci zajišťují **inzulin** (zvyšuje syntézu MK, „v buňce je dost glukosy, tedy dost energie, můžeme vytvářet zásoby“) a **glukagon** (snižuje syntézu MK, „buňka má málo glukosy, nemůžeme syntetizovat MK, je potřeba provádět jejich  $\beta$ -oxidaci“).

### (Syntéza NADPH+H<sup>+</sup>)

Rozkladem citrátu v cytoplazmě vzniká acetyl-CoA a **oxalacetát**. Oxalacetát je nepřímo využit k syntéze MK tím, že jeho přeměnou na malát a následně pyruvát vzniká NADPH+H<sup>+</sup>, které je při syntéze MK potřebné. Tato reakce je druhým hlavním (po pentosovém cyklu) zdrojem této látky.

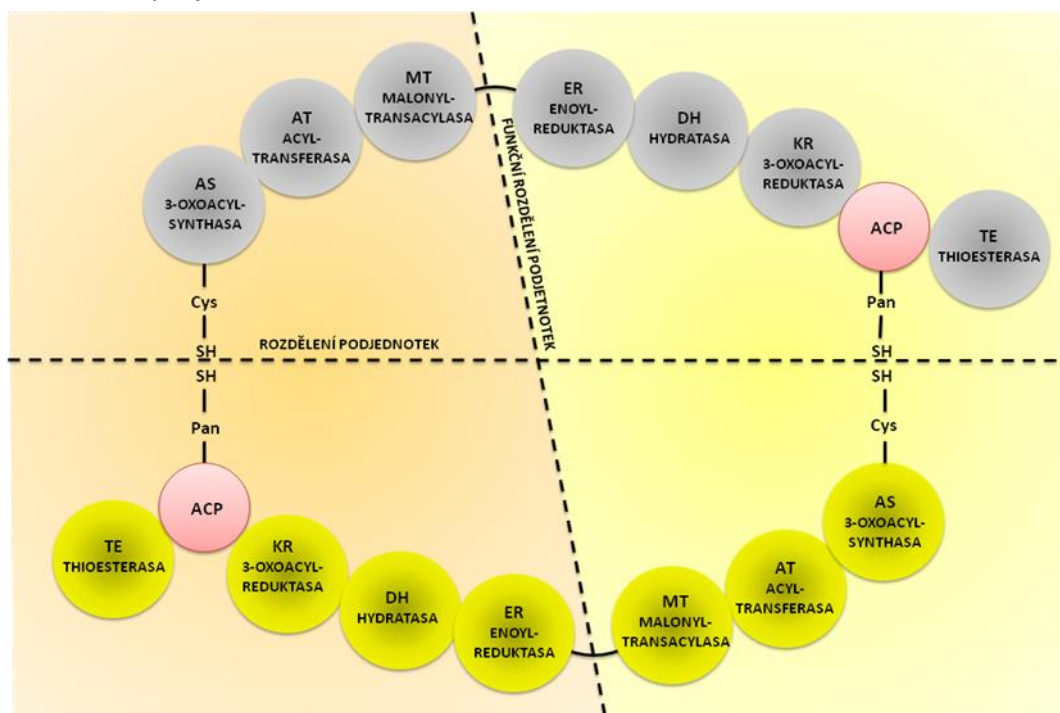
### Reakce na komplexu synthasy MK

Synthasa MK je **multienzymový komplex** se **sedmi enzymovými aktivitami**. U savců se jedná o **dimer**, tvořený **dvěma indentickými komplexy**, z čehož více méně vyplývá, že **jsou paralelně tvořeny dvě molekuly MK**.

Situaci trochu komplikuje to, že **na syntéze jedné molekuly MK se podílejí vždy obě podjednotky**:

- při syntéze první molekuly MK poskytuje jedna podjednotka dimeru tři ze svých enzymů, druhá podjednotka čtyři
- při syntéze druhé molekuly MK poskytují podjednotky ty enzymy, se nevyužily při syntéze první molekuly

Pro názornost využijeme obrázek:

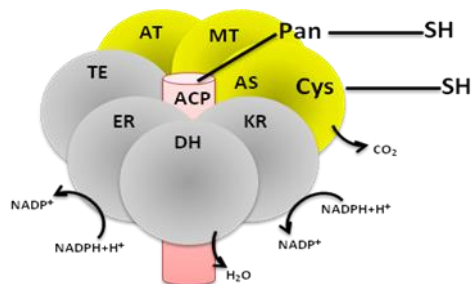


K obrázku:

Černé enzymy a tmavě žluté enzymy naznačují rozdělení pojednotek („horní a dolní“ část obrázku).

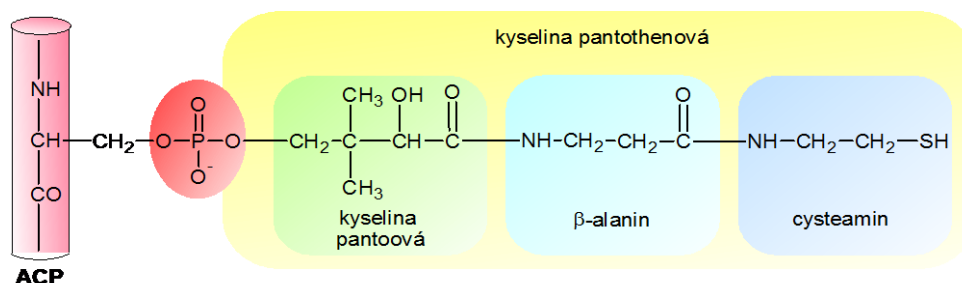
Žlutá a oranžová část obrázku („pravo a levo“) naznačují **funkční** rozdělení podjednotek. Tedy čtyři černé enzymy spolu se třemi tmavě žlutými enzymy (pravá část) se podílejí na syntéze první molekuly, zbytek (levá část) se podílí na syntéze druhé molekuly MK.

Nyní využijeme další obrázek, na kterém znázorníme jen pravou část předchozího obrázku, tedy **jednu funkční jednotku**, na které dochází k syntéze jedné molekuly MK.



**ACP** je zkratka vzniklá spojením slov **acyl-carrier-protein**, jedná se tedy o protein přenášející acyly. Tuto schopnost mu dává sloučenina zvaná **4'-fosfopantethein** (tzv. „**pantetheinová ruka**“), která se na něj naváže, a která má na svém konci volnou **-SH** skupinu.

Struktura **pantetheinu**:

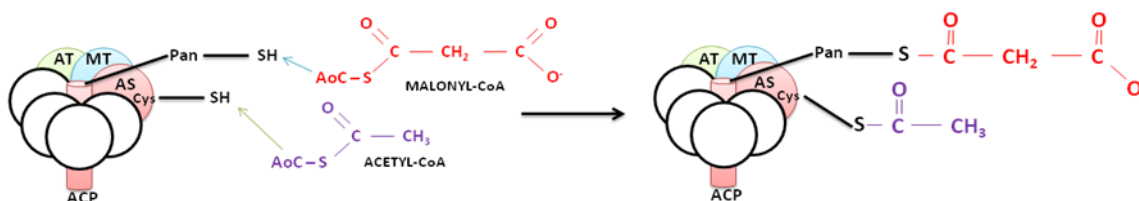


Můžeme si představit, že pantetheinová ruka má na sobě navázaný základ vznikající mastné kyseliny (**přes SH skupinu**) a přenáší jej k jednotlivým enzymům. Enzymy na ní provedou své reakce a po té, co je „jedno kolo“ ukončeno, začíná druhé, ve kterém se budoucí mastná kyselina prodlouží o nové dva uhlíky.

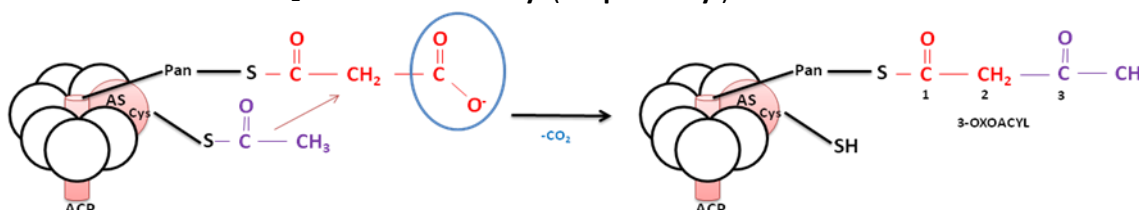
### Vlastní průběh syntézy MK

1) Na prázdný komplex syntézy MK se naváže **malonyl-CoA** a **acetyl-CoA**.

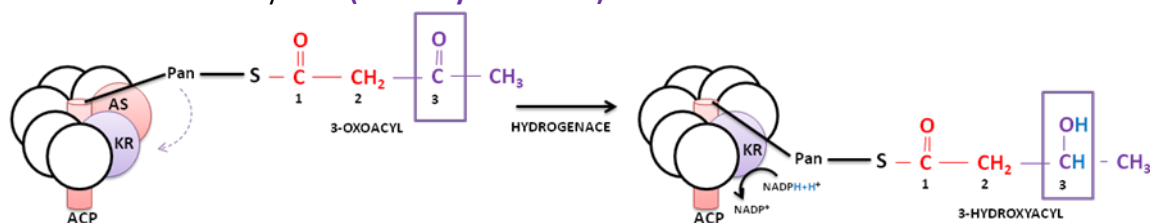
- **malonyl-CoA** se váže na **ACP** (přes **-SH** skupinu pantetheinu) a zůstane na něm navázan po celou dobu „první otočky“; reakce se účastní enzym **MT (malonyltransacylasy)**
- **acetyl-CoA** se váže na enzym **enzym AS (3-oxoacylsynthasy)**; přes **-SH** skupinu cysteinu), avšak jen dočasně; reakce se účastní enzym **AT (acetyltransacylasy)**



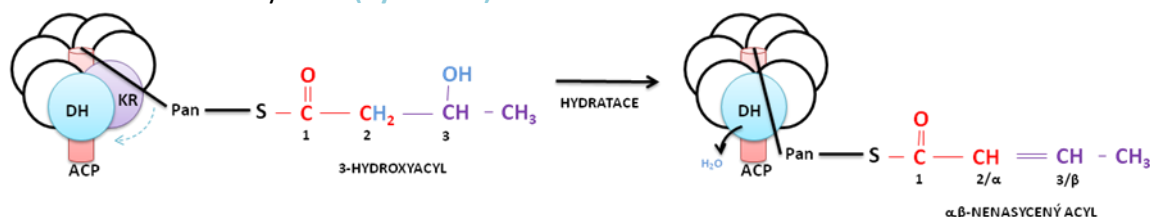
2) V dalším kroku se **acetyl** přeneše na **malonyl** pomocí enzymu **AS (3-oxoacylsynthasy)**. Při této reakci se **uvolní CO<sub>2</sub>** a vznikne **3-oxoacyl** (též **β-oxoacyl**).



- 3) 3-oxoacyl projde **hydrogenací**, které se účastní **NADPH+H<sup>+</sup>**, za vzniku **3-hydroxyacylu**.  
 Reakce se účastní enzym **KR (3-oxoacylreduktasa)**.

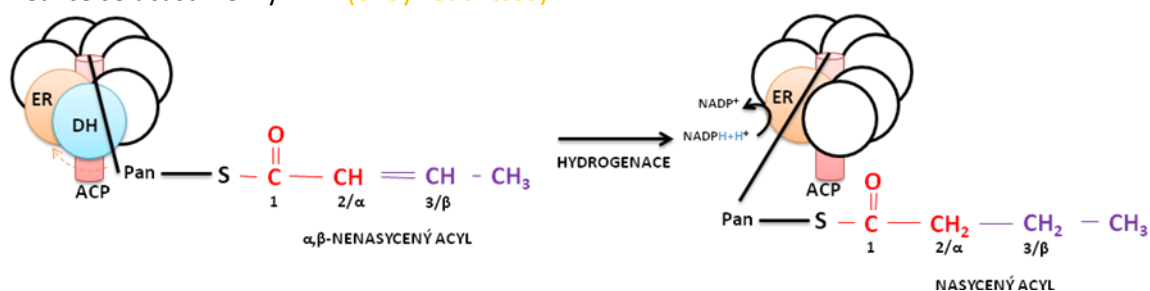


- 4) Následuje **dehydratace** (ztráta vody) 3-hydroxyacylu za vzniku  **$\alpha,\beta$ -nenasyceného acylu**.  
 Reakce se účastní enzym **DH (hydratasa)**



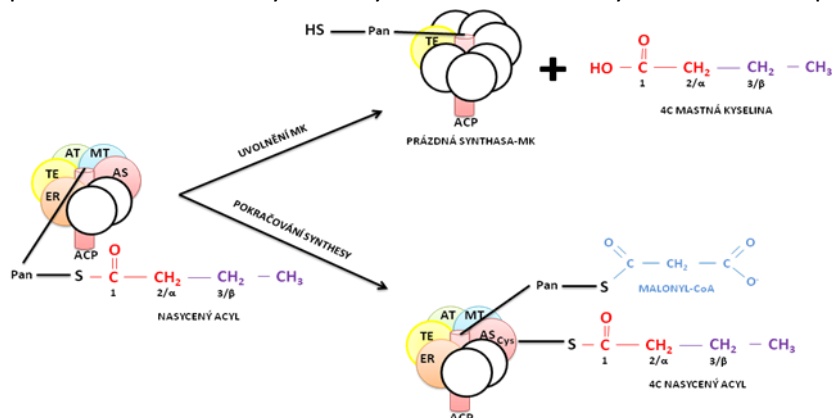
- 5) Po dehydrataci následuje druhá **hydrogenace**, které se opět účastní **NADPH+H<sup>+</sup>**.  
 Z  $\alpha,\beta$ -nenasyceného acylu vzniká **nasycený acyl** o **2 uhlíky delší**, než byl původní úplně původní acyl (v našem případě jsme začínali s 2C acylem (tedy acylem) a prodloužili jsme ho na **4C acyl**)

Reakce se účastní enzym **ER (enoylreduktasa)**



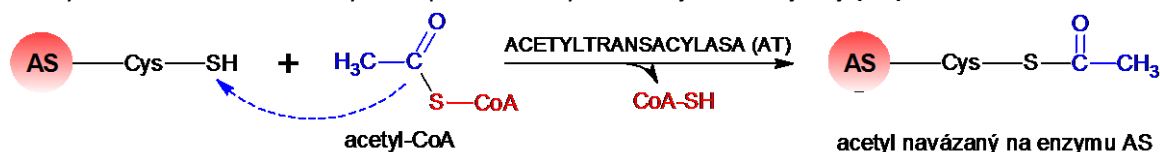
- 6) V následující reakci může dojít ke dvěma situacím:

- acyl je již dost dlouhý (16C, méně často 18C) a je čas jej oddělit od komplexu syntasy; v tom případě zapůsobí enzym TE (thioesterasa) a dojde k uvolnění kyseliny palmitové (16C) nebo stearové (18C)
- acyl ještě není dost dlouhý (jako v našem případě, má teprve 4C) a tak se enzym TE přeskočí a dojde k přenosu 4C acylu na enzym AS. Tím se uvolní ACP a může se na něj navázat další **malonyl-CoA**. V okamžiku, kdy se malonyl-CoA naváže, dojde k přenosu našeho 4C acylu z enzymu AS na ACP a celý sled reakcí se opakuje

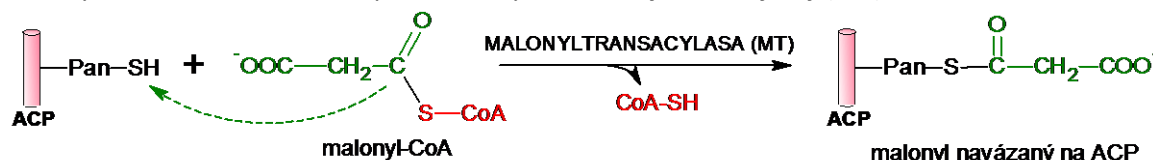


Jelikož reakce popsané výše by se mohly zdát nepřehledně zapsané, uvedeme si zde ještě jeden přehled celé syntézy:

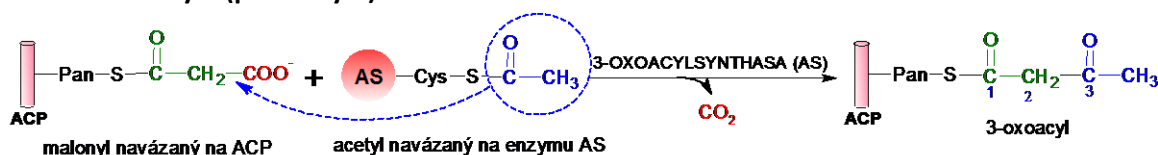
1) Acetyl-CoA se naváže na enzym AS pomocí enzymu **acetyltransacylasy (AT)**:



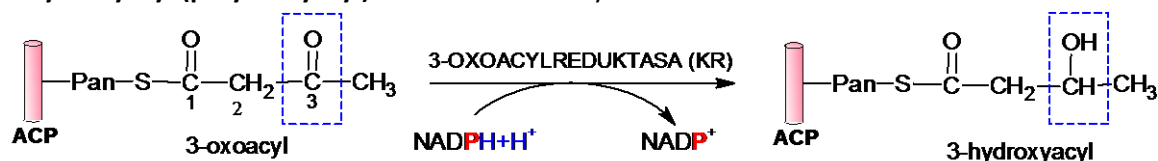
2) Malonyl-Coa se naváže na ACP pomocí enzymu **malonyltransacylasy (MT)**:



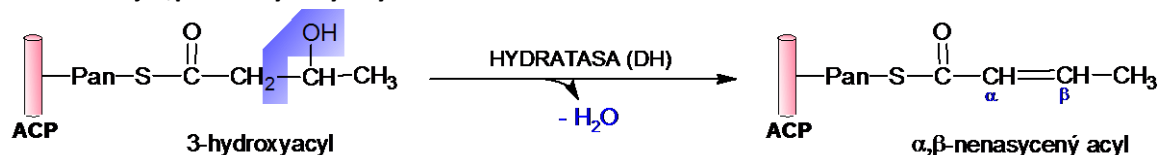
3) Enzym AS (**3-oxoacylsynthasa**), na kterém je napojen **acetyl** zajistí přenos **acetyl**u na **ACP**, za vzniku **3-oxoacylu** (**β-oxoacylu**).



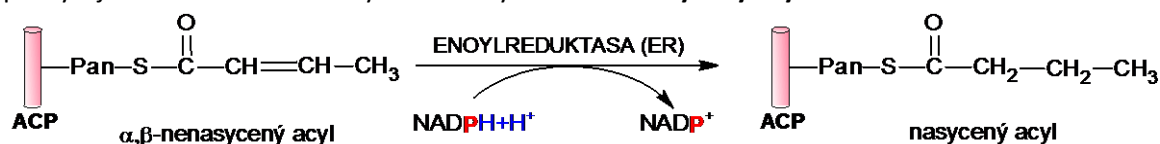
4) V další reakci je 3-oxoacyl enzymem **3-oxoacylreduktasou (KR)** **hydrogenován** na **3-hydroxyacyl** (**β-hydroxyacyl**). Jako kofaktor enzymu slouží **NADPH+H<sup>+</sup>**.



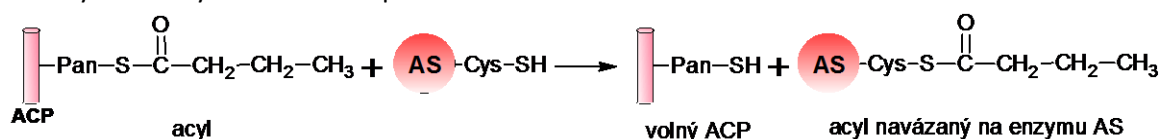
5) 3-hydroxyacyl následně odštěpí vodu (dehydratace) za účasti enzymu **hydratasy (DH)**<sup>9</sup>. Vzniká z něj **α,β-nenasycený acyl**.



6) V následující reakci se zbavíme dvojné vazby pomocí enzymu **enolreduktasy (ER)**, vodíky poskytuje **NADPH+H<sup>+</sup>**. Z nenasyceného acylu vznikne **nasycený acyl**.



7) Nasycený acyl se následně naváže na enzym AS, čímž se uvolní ACP pro navázání dalšího malonyl-CoA a cyklus se může opakovat.



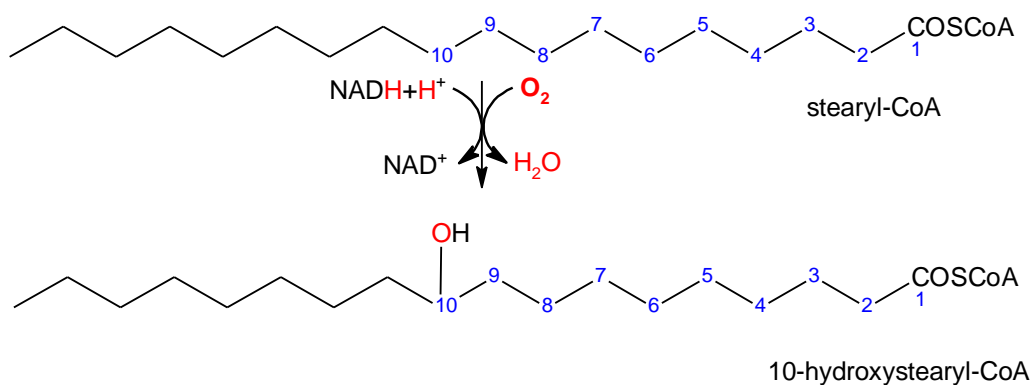
<sup>9</sup> Pozor! Název enzymu je přesně opačný než reakce, kterou provádí!



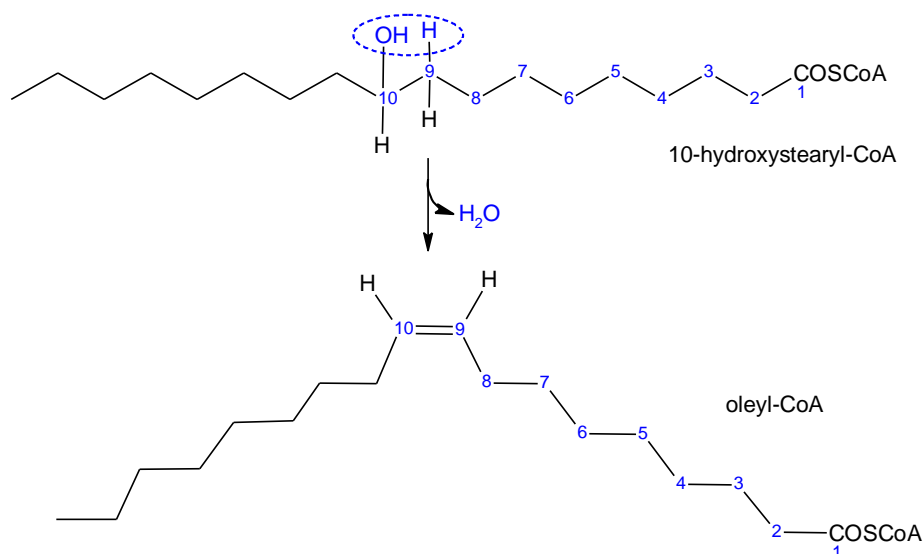
Proces **desaturace** začíná **vytvořením dvojné vazby mezi 9. a 10. uhlíkem**. Mohli bychom očekávat, že se k desaturaci (tedy dehydrogenaci) použije kofaktor FAD a dvojná vazba vznikne přímo, ale **není tomu tak, desaturace je poněkud složitější**.

### Mechanismus desaturace

Nejprve **dochází k hydroxylaci**. Hydroxylace se účastní dikyslík, avšak jen jeden jeho atom dává vznik **-OH skupině na 10. uhlíku**. Druhý atom kyslíku musí být zredukován na vodu, k čemuž slouží **NADH+H<sup>+</sup>**.

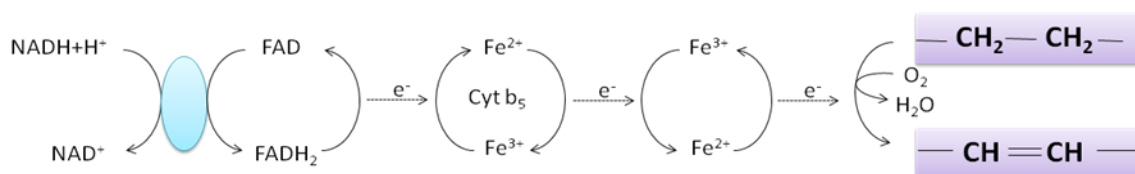


Následuje **dehydratace**, při které **vzniká dvojná vazba**. Vzniklá **nenasycená MK** má konfiguraci **cis**.



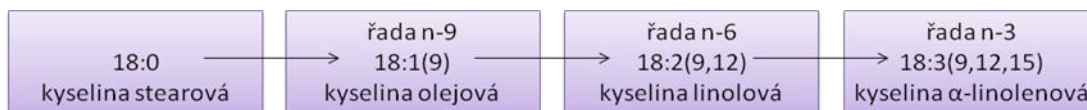
**Povšimněme si, že mastné kyseliny se všech reakcí účastní v podobě acyl-CoA.**

Dvojná vazba tedy vznikají **hydroxylací a dehydratací**. Hydroxylace se (jak již bylo řečeno) účastní dikyslík. Jeho redukce je opět poněkud komplikovanější, než je znázorněno ve schématu. Elektrony potřebné k redukci jsou přeneseny z NADH+H<sup>+</sup> na FADH<sub>2</sub> a odtud na atomy železa.



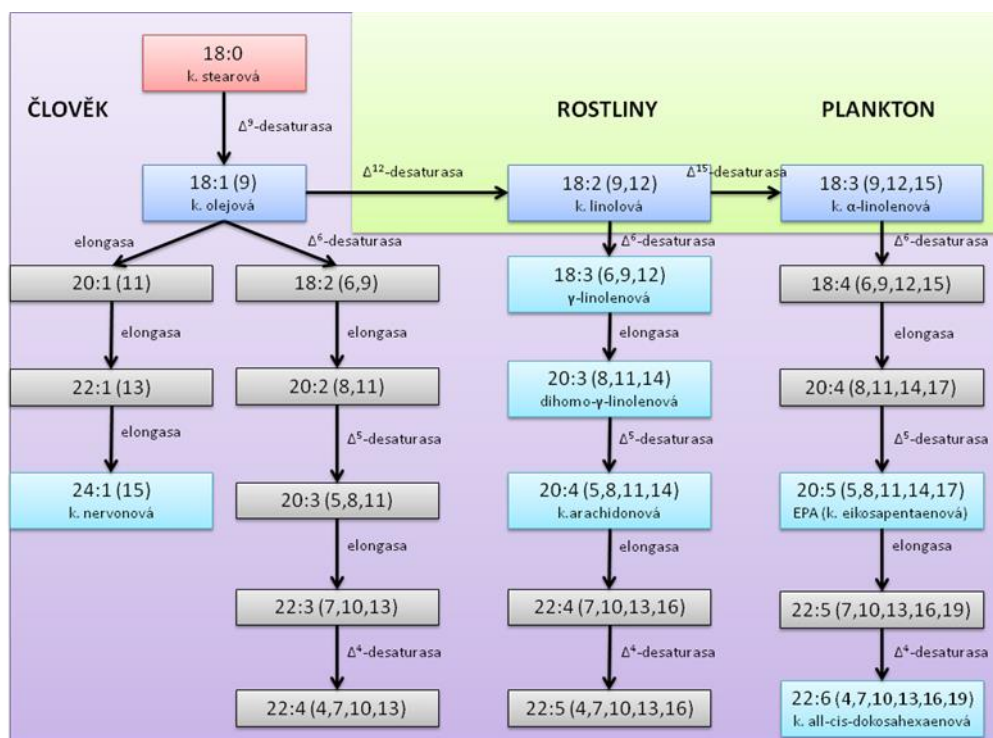
Jak již bylo řečeno, vzniká **první dvojná vazba na 9. uhlíku**. Touto reakcí jsme z kyseliny stearové získali kyselinu **olejovou**. Za devátým uhlíkem od karboxylového však konce nejsme schopni vytvořit další dvojnou vazbu (všechny námi vytvořené MK spadají do skupiny n-9). Toho jsou schopny pouze **rostliny** (mají  $\Delta^{12}$ -desaturasu a tvoří tak řadu n-6) a **plankton, či řasy** (mají  $\Delta^{15}$ -desaturasu a tvoří tak řadu n-3).

Základní tři nenasycené mastné kyseliny tedy vycházejí z kyseliny stearové:



**Kyselina linolová a kyselina α-linolenová jsou pro člověka esenciální.** Ostatní nenasycené MK, které naše tělo potřebuje, jsme již schopni získat úpravami třech výchozích (různě kombinujeme elongaci a desaturaci).

To, jaké kyseliny jsme a nejsme schopni si vyrobit, naznačuje následující schéma:



Ke schématu:

Ve fialovém poli jsou naznačeny všechny MK, které jsme schopni si různými úpravami základních MK vytvořit. V zeleném poli jsou MK, které musíme přijmout v potravě.

Červeně je označena základní kyselina stearová, tmavě modře základní PUFA (polynenasycené MK), světle modře další PUFA, které je třeba umět pojmenovat.

Jak je patrné ze schématu, jsou **kyselina linolová a α-linolenová esenciální** – je tedy potřeba je přijímat v potravě. **Kyselinu linolovou** přijímáme z **rostlinné stravy** – většina rostlin je schopna vytvářet dvojnou vazbu v pozici 12. **Kyselinu α-linolenovou** přijímáme rovněž z rostlinné stravy, ale ne všechny rostliny mají  $\Delta^{15}$ -desaturasu. Tento enzym má k dispozici především **plankton a řasy**, které žijí v chladné vodě. Plankton a řasy sní ryby a my následně sníme ryby – především rybí tuk je na tuto PUFA velmi bohatý.



## Význam PUFA

PUFA ze skupiny n-3 a n-6 jsou nezbytné pro výstavbu membrán. Bylo dokázáno, že jejich deficit (u laboratorních zvířat) vyvolává poruchy permeability kůže, ztráty na váze a akumulaci cholesterolu.

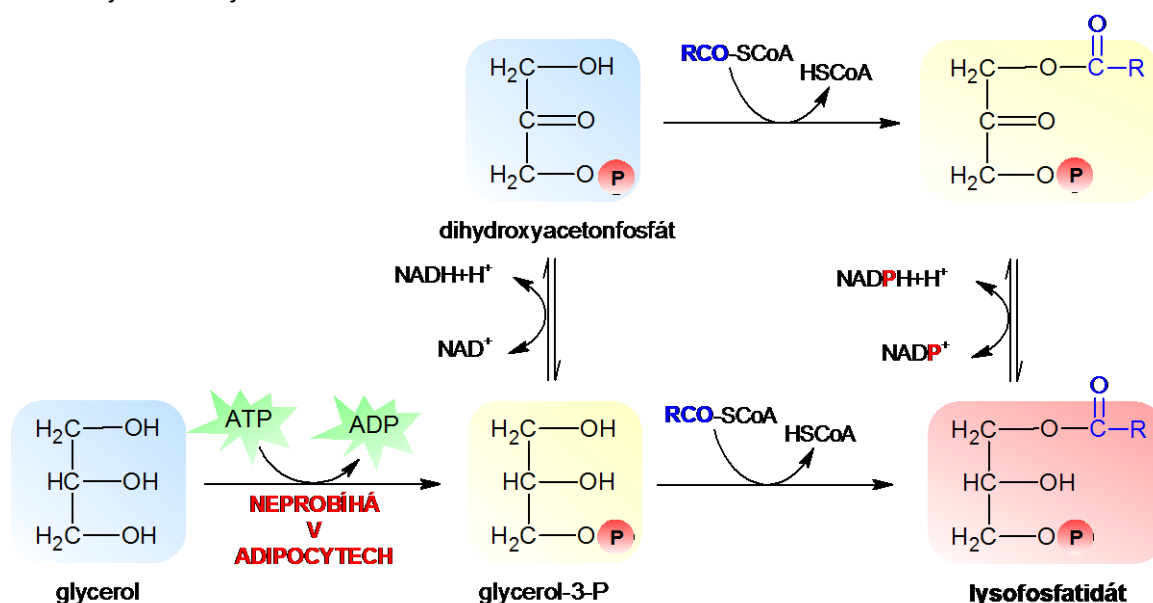
Kyselina arachidonová a EPA jsou **nezbytné pro syntézu prostanoidů**. (viz dále)

## 7.14 Syntéza triacylglycerolů

Doposud jsme řešili, jak je možné TAG rozštěpit a jak je možné zpětně nesyntetizovat mastné kyseliny. Nyní se podíváme na to, jak je možné sestavit z MK a meziproductů citrátového cyklu nové molekuly **triacylglycerolů**.

Syntéza TAG probíhá v **játrech, tukových buňkách** a v **buňkách střevní sliznice**.

Prvním krokem syntézy je vytvoření **lysofosfatidátu**. Ten je možné vytvořit z **dihydroxyacetonfosfátu** (meziproductu citrátového cyklu) nebo **glycerol-3-fosfátu**, jak naznačuje následující schéma:



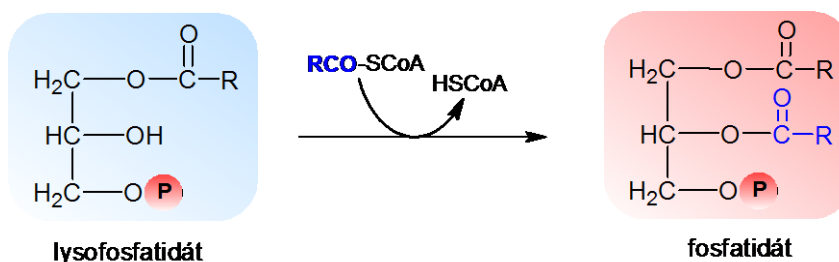
Ke schématu:

Začínáme buď od glycerolu, nebo od dihydroxyacetonfosfátu.

Glycerol je možné fosforylovat na **glycerol-3-P** (reakce však neprobíhá v tukových buňkách), který může být následně esterifikován v pozici 1 pomocí aktivované mastné kyseliny (acyl-CoA =  $\text{RCO-SCoA}$ ) na **lysofosfatidát**.

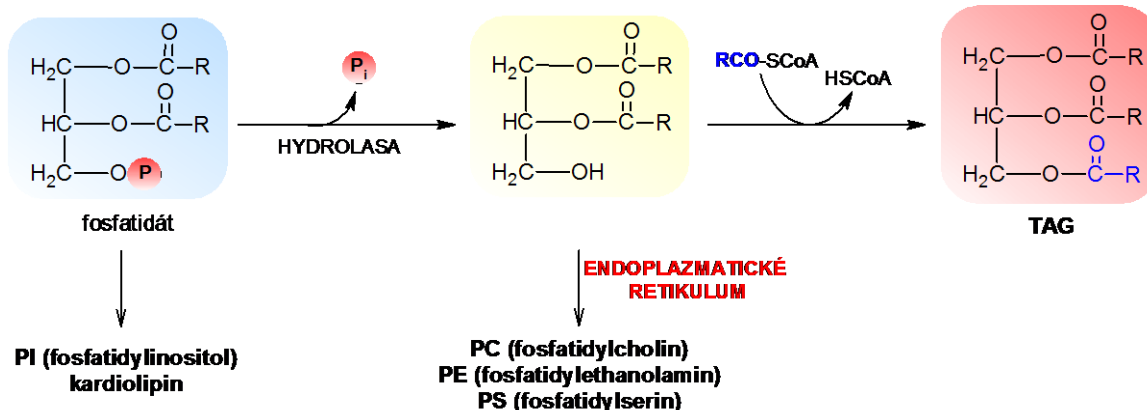
Začneme-li u dihydroxyacetonfosfátu. Ten je možné přeměnit na glycerol-3-P (vratná reakce) nebo jej přímo esterifikovat v pozici 1. Dojde-li k esterifikaci v pozici 1, je potřeba **hydrogenovat** dvojnou vazbu na druhém uhlíku (z  $\text{C=O}$  na  $\text{HC-OH}$ ).

Z **lysofosfatidátu** je nutné vytvořit **fosfatidát** (fosfatidová kyselina) tím, že provedeme esterifikaci na druhém uhlíku.



**Mastná kyselina**, která se připojuje na druhý uhlík, je **obvykle nenasycená**.

Fosfatidát slouží jako výchozí látka k **syntéze nejen TAG**, ale i různých fosfolipidů.



Vzniklé TAG je nyní možné **uložit v tukové tkáni**.

V případě, že TAG vzniknou v **tenkém střevě**, jsou z něj transportovány v podobě **CM (chylomikronů)**, v případě, že vzniknou v **játrech**, jsou transportovány ve formě **VLDL**.

**TAG** jsou v našem těle **nejefektivnější formou ukládání energie**. Ve srovnání s glykogenem mají tu výhodu, že na sebe **nevážou vodu** (zatímco na 1 gram glykogenu jsou navázány 2 gramy vody).

Při spálení jednoho gramu glykogenu, získáme (**spalné teplo**) **17 kJ**, při spálení jednoho gramu TAG, získáme **38 kJ** (tedy zhruba 2x více!).

Pro další srovnání můžeme říci, že 15 kg tuku odpovídá 100 kg hydratovaného glykogenu.

## 7.15 Syntéza fosfolipidů

Mezi hlavní fosfolipidy řadíme:

- **fosfatidylcholin – PC**
- **fosfatidylethanolamin – PE**
- **fosfatidylserin – PS**
- **fosfatidylinositol – PI**
- **kardiolipin – CL**

Fosfolipidy je potřebné **syntetizovat ve všech buňkách**, jelikož jsou **součástí buněčných membrán** (pouze erythrocyty je již nesyntetizují, protože ty již mají svou membránu, se kterou musí nejbližších 120 dní svého života vydržet).

**Syntéza fosfolipidů** probíhá na **membráně hladkého i hrubého endoplazmatického retikula**. Enzymy, které katalyzují jejich syntézu, jsou součástí membrány (integrální membránové proteiny), přičemž jejich **aktivní centra jsou orientovaná do cytoplazmy**. Fosfolipidy jsou tedy nejprve syntetizovány jako **součást vnější vrstvy membrány**, později je možné je pomocí **flipas přenést do vrstvy vnitřní**.

Do ostatních membrán se fosfolipidy dostanou **difuzí v kontinuálních membránách** nebo v podobě **membránových vesikulů**.

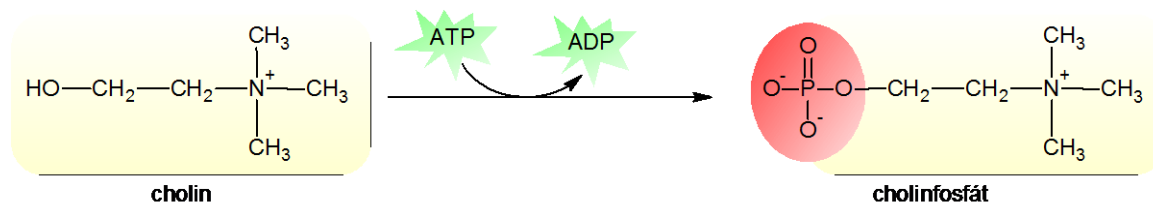
**V cytoplazmě** je možné fosfolipidy přenášet pomocí „**fosfolipid-transfer-proteins**“, tedy fosfolipidy transportujících proteinů.

Syntéza fosfolipidů vychází buď z **fosfatidátu** nebo **1,2-diacylglycerolu** (dle schématu v horní části stránky).

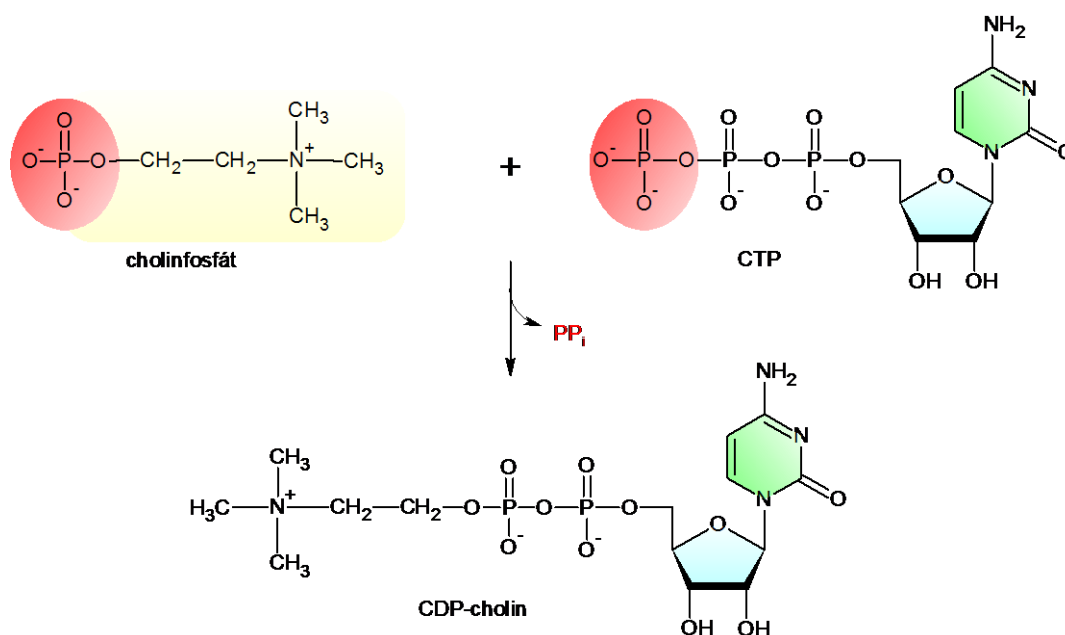
### A) Syntéza fosfatidylcholinu

Cholin je potřeba před syntézou **aktivovat** – u cholinu má tato aktivace **dva kroky**.

#### Fosforylaci:

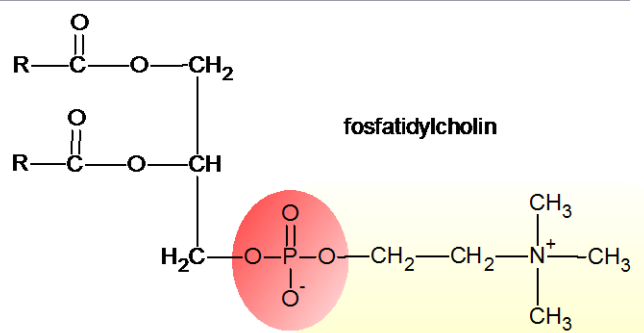
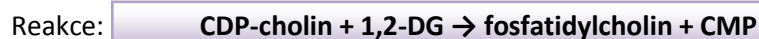


#### Reakci s CTP:



K aktivaci cholinu **potřebujeme energii ekvivalentní 2 ATP**. První ATP spotřebujeme na fosforylaci a energii „druhého ATP“ představuje štěpení CTP.<sup>10</sup>

**Aktivovaný cholin** nyní může reagovat s **1,2-diacylglycerolem**, za vzniku **fosfatidylcholinu**.

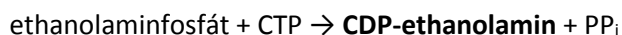


Kromě toho, že si fosfatidylcholin syntetizujeme, přijímáme ho i v potravě a jeho velkou část ukládáme ve sřevech.

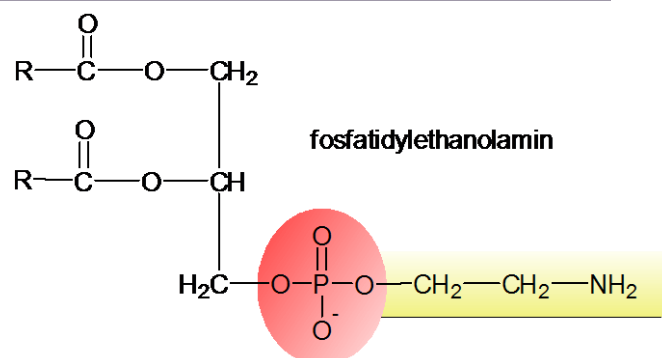
<sup>10</sup> Povšimněme si, že k aktivaci cholinu slouží CTP, v metabolismu sacharidů slouží k aktivaci glukosy UDP.

## B) Syntéza fosfatidylethanolaminu

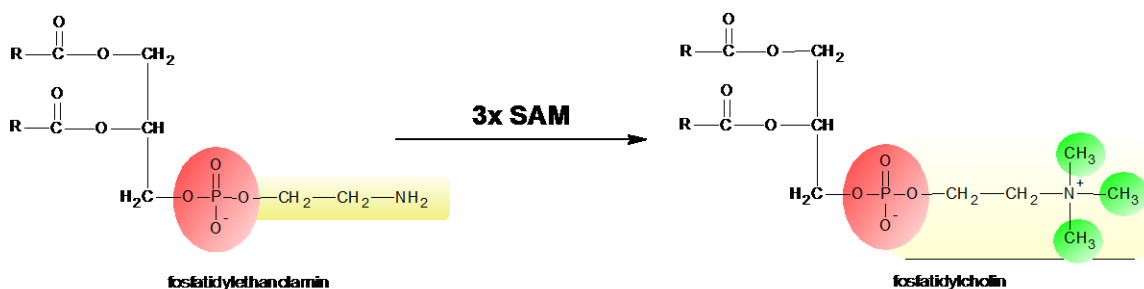
Stejně jako cholin, je potřeba **ethanolamin před syntézou aktivovat**. Aktivace rovněž probíhá ve **dvou krocích** (fosforylace a následná reakce s CTP):



Stejně jako u cholinu následuje reakce CDP-ethanolamin s 1,2-DG:

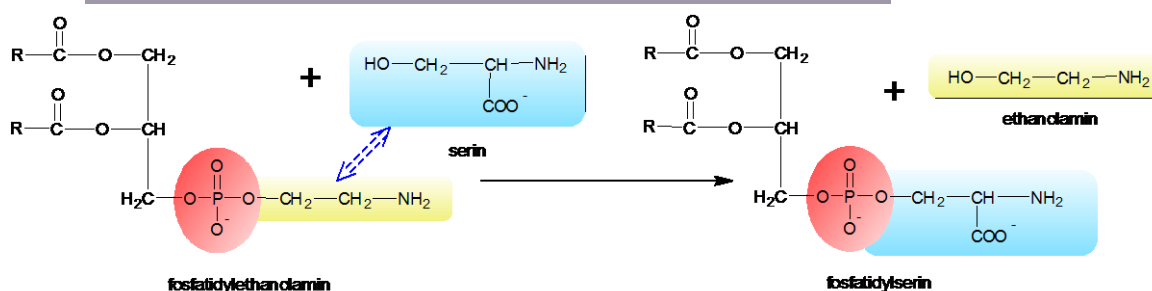


Jelikož je struktura **fosfatidylethanolaminu velmi podobná struktuře fosfatidylcholinu**, je možné **fosfatidylcholin z fosfatidylethanolaminu syntetizovat trojnásobnou N-methylací pomocí SAM**. Tento způsob syntézy **probíhá v játrech**.



## C) Syntéza fosfatidylserinu

Syntéza fosfatidylserinu probíhá odlišně, než doposud popsané syntézy. Opět se v ní jistou roli hraje fosfatidylethanolamin – ten reaguje se serinem za vzniku volného ethanolaminu a **fosfatidylserinu**.

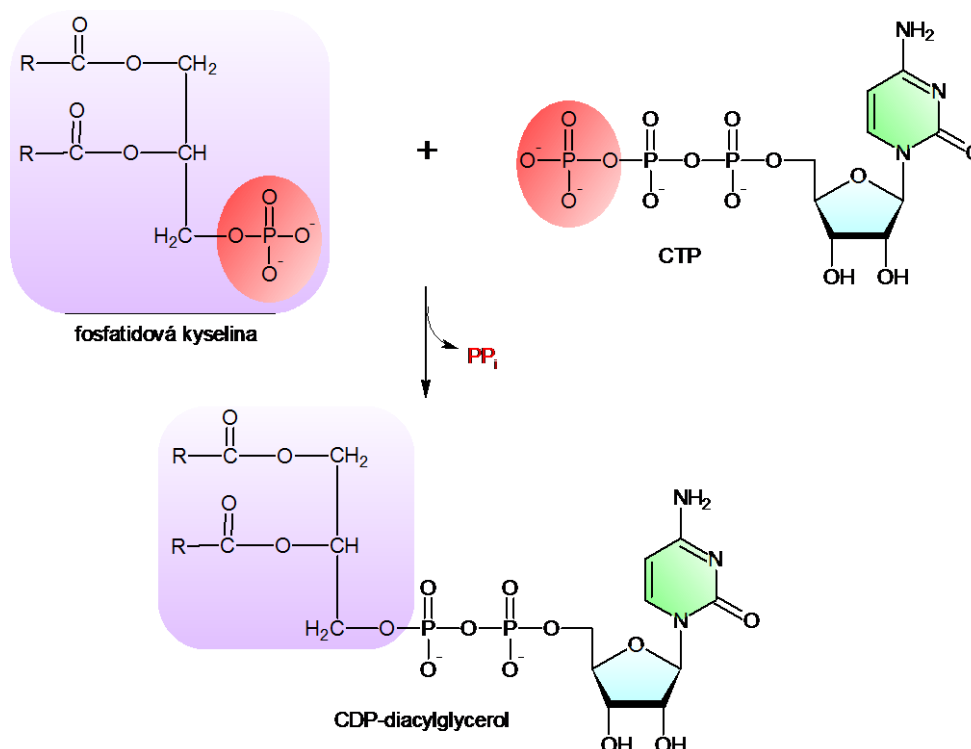


**Dekarboxylací fosfatidylserinu vzniká (v játrech) zpětně fosfatidylethanolamin.**

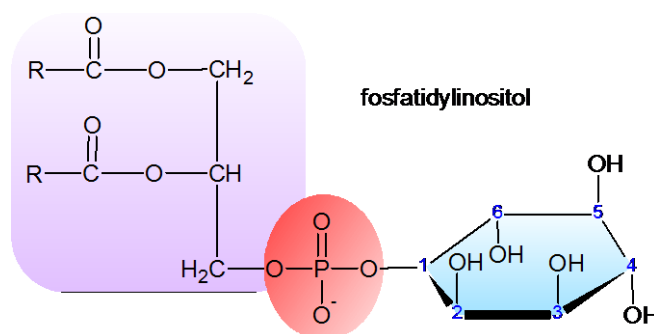
#### D) Syntéza fosfatidylinositolu

Fosfatidylinositol vzniká zcela jinak, než předešlé fosfolipidy.

Jeho syntéza začíná nikoliv aktivací inositolu, ale aktivací fosfatidové kyseliny (fosfatidátu) pomocí CTP.



Jakmile je fosfatidová kyselina aktivována, je možné přistoupit k reakci s **inositem**. Na fosfatidovou kyselinu se inositol připojuje přes **polohu 1**.

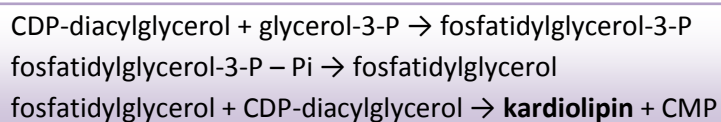


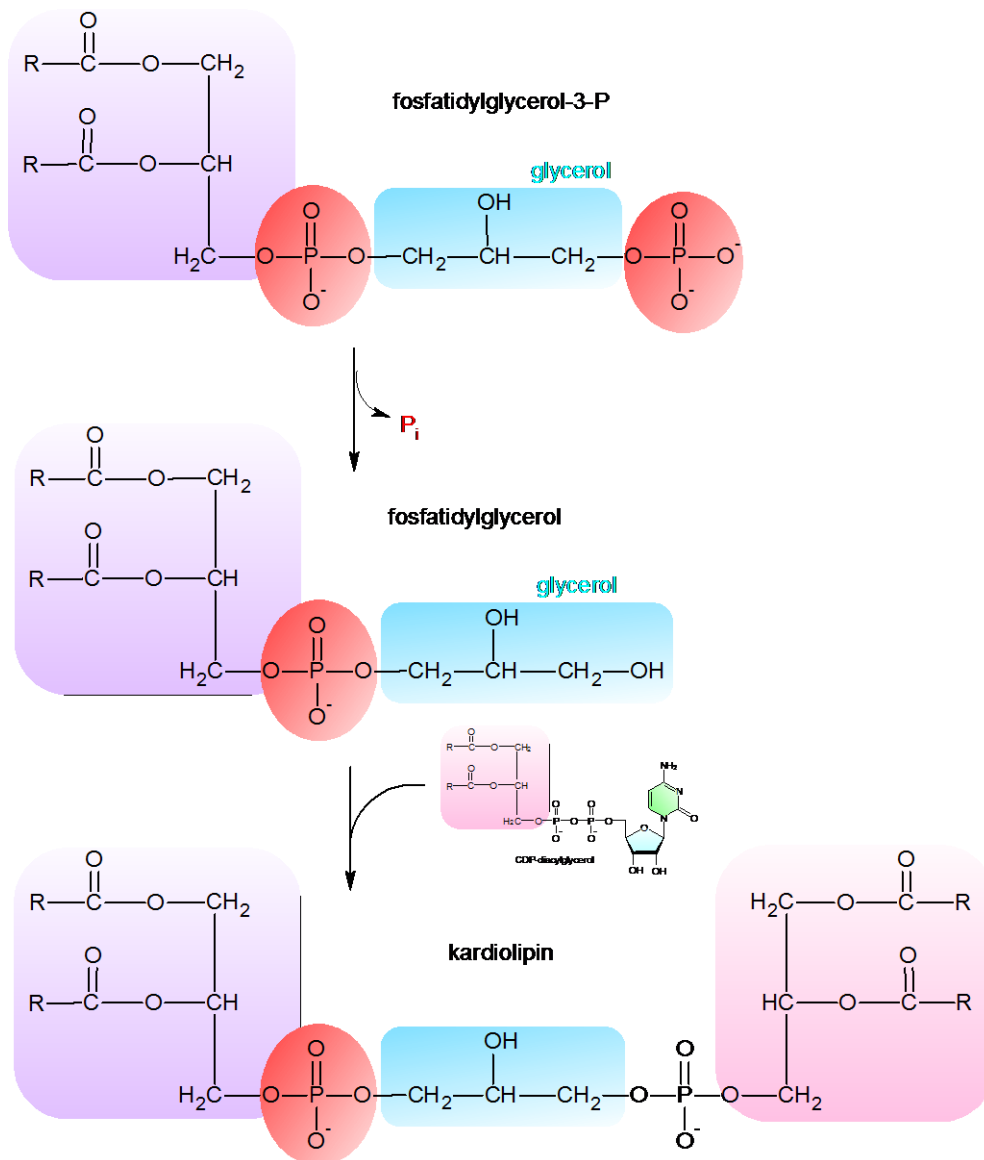
#### E) Syntéza kardiolipinu

Podobně jako při syntéze fosfatidylinositolu dochází nejprve k aktivaci **fosfatidové kyseliny na CDP-diacylglycerol**. Tato látka reaguje s **glycerol-3-P** za vzniku **fosfatidylglycerol-3-P** (reakce nejsou zahrnuty ve schématu).

Fosfatidylglycerol-3-P odštěpí fosfát a vznikne z něj **fosfatidylglycerol**. Ten reaguje s další molekulou CDP-diacylglycerolu za vzniku **kardiolipinu**.

Souhrnně:





Kardiolipin nacházíme ve větší míře ve **vnitřní mitochondriální membráně**.

### 1) Výměna acylů na C2

Všechny výše popisované reakce se více méně týkaly **C3 uhlíku**, neboť na uhlících 1 a 2 jsou navázány zbytky mastných kyselin (=acyly). Ovšem ani ty nejsou navázány fixně – **struktura fosfolipidu se může během jeho existence změnit**.

V diacylglycerolech i fosfolipidech se na **C2 nejčastěji setkáme s nenasycenou MK**. V diacylglycerolech je touto MK většinou **kyselina olejová**, ve fosfolipidech se jedná o různé PUFA, nejčastěji o kyselinu **arachidonovou**.

Výměnu kyseliny olejové za PUFA je umožněna díky **transacylačním reakcím**. Jejich mechanismu se podobněji věnovat nebudeme (jednoduše řečeno dochází k odštěpení původní kyseliny olejové a navázání nové PUFA).

## 7.16 Význam fosfolipidů

Nyní již víme, jak jednotlivé fosfolipidy vznikají, tak se podívejme na jejich využití v organismu. Obecně lze říci, že se jedná o **strukturní složky membrán** a **součást všech lipoproteinů**. Díky tomu, že jsou na jejich C2 navázány různé PUFA, jsou **fosfolipidy zásobárnou PUFA pro různé syntézy** (v případě nutnosti je z nich potřebná PUFA odštěpena).

Jednotlivé fosfolipidy mohou v organismu plnit **speciální funkce** – o funkcích fosfatidylcholinu a fosfatidylinositolu se zmíníme podrobněji.

### A) Fosfatidylcholin (plicní surfaktant)

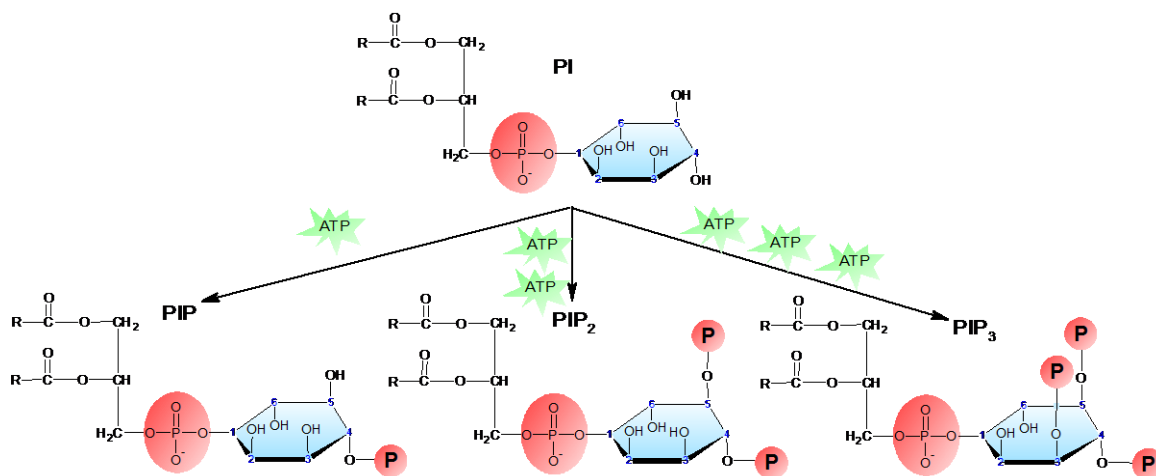
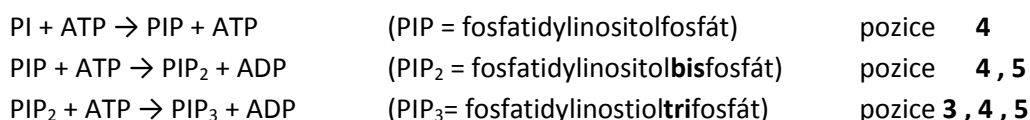
Plicní surfaktant obecně je směs **fosfolipidů (90%)** a **proteinů (10%)**, přičemž hlavním fosfolipidem je **dipalmitoylfosfatidylcholin**.

Úkolem plicního surfaktantu je **snížení povrchového napětí na povrchu alveolů**<sup>11</sup>. Tím usnadňuje jejich otevření během aspirace (vdechu) a zabrání „slepení“ jejich stěn (kolapsu alveolů) při expiraci (výdechu). Nedostává-li se člověku plicního surfaktantu, pociťuje **dechovou tíseň**.

### B) Fosfatidylinositol

Fosfatidylinositol (PI) plní po **své fosforylaci roli druhého posla**.

Fosforylaci může vznikat:



*Jak fungují fosfatidylinositolfosfáty („PIPové“)?*

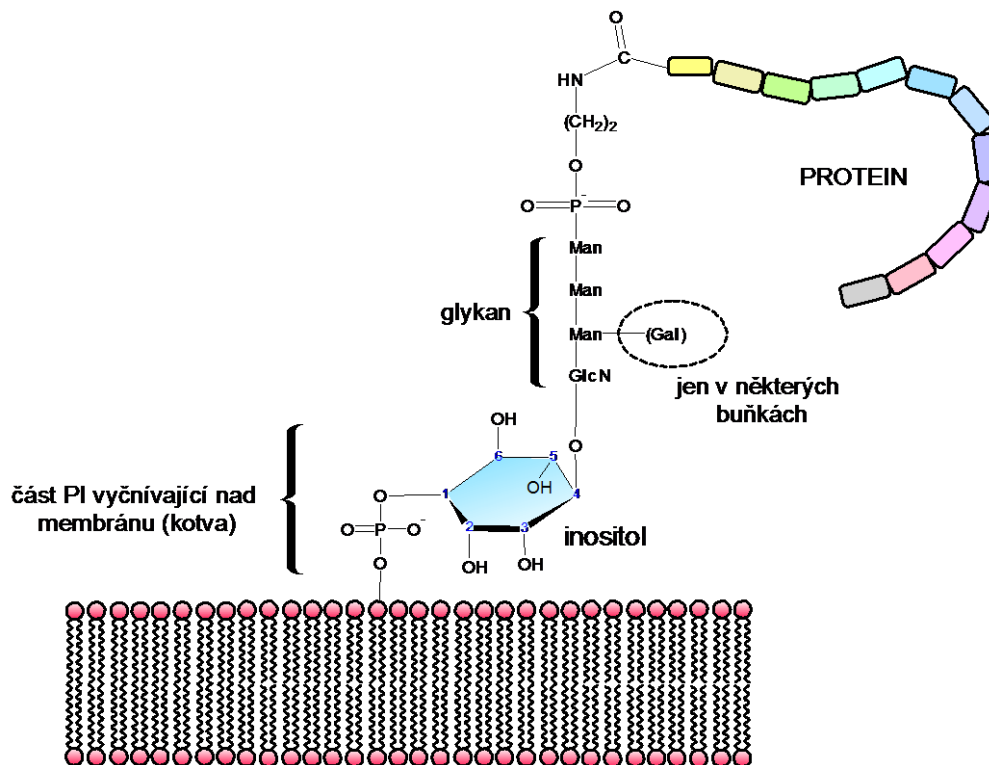
Na cytoplazmatické membráně buňky se nacházejí různé receptory. Po navázání určitých mediátorů/hormonů na konkrétní receptory je možné **aktivovat enzym fosfolipasu C**, který umí rozštěpit fosfatidylinositolfosfáty na **inositolfosfáty** ( $PIP \rightarrow IP_2$ ;  $PIP_2 \rightarrow IP_3$ ;  $PIP_3 \rightarrow IP_4$ ). Inositolfosfáty pak slouží **druzí poslové** (lze říci, že odštěpením fosfatidové 1,2-DG z molekuly PIP je molekula aktivována).

*Druhý posel (obecně) je látka, která vzniká v buňce jako důsledek navázání mediátoru/hormonu na membránový receptor. Jeho úkolem je zprostředkovat účinek navázané látky (která buňce nese nějakou informaci, ale nemůže do ní proniknout, proto musí využít poslíčka, aby nesenou informaci „vyřídil“).*

<sup>11</sup> Povrch alveolů je pokryt molekulami vody. V okamžiku výdechu se k sobě stěny alveolů přibližují a mezi molekulami vody tak začnou působit přitažlivé síly, které by mohly bránit opětovnému otevření alveolů. Plicní surfaktant omezuje působení těchto přitažlivých sil.

Kromě funkce druhé posla plní **PI funkci fosfatidylinositolové kotvy**.

Na fosfatidylinositol ukotvený v membráně se **naváže polysacharidový řetězec**. Na tento řetězec mohou být následně navázány **proteiny**, které potřebují komunikovat s okolím (např. **alkalická fosfatáza, acetylcholinesteráza, antigeny...**). Tím, že jsou napojeny na „PI kotvě“ vyčnívají nad povrch membrány a mohou tak plnit svou funkci (jsou dostupnější pro další enzymy, hormony...).



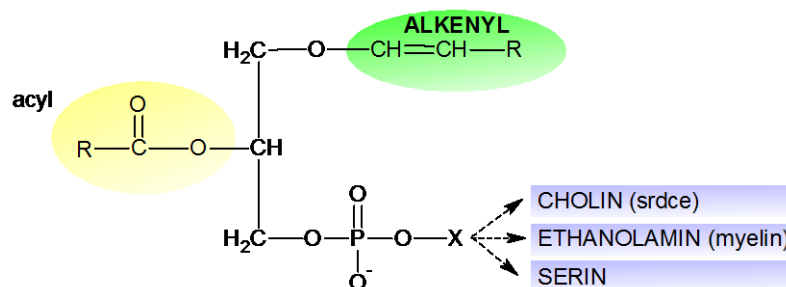
## 7.17 Modifikované fosfolipidy

Doposud jsme se bavili o různých změnách na C3 uhlíku (může na něm být navázán fosfát a přes něj ethanolamin, cholin, serin...) a vycházeli jsme z předpokladu, že na uhlících C1 a C2 jsou **dlouhé acyly mastných kyselin**. V modifikovaných fosfolipidech jsou právě tyto acyly různé nahrazovány – může se jednat např. o deriváty etherů (glycerolfosfoetherové lipidy) apod.

Budeme se zabývat **plazmalogeny** a **PAF (platelet activating factor)**

### Plazmalogeny

U plazmalogenů je **acyl na C1 nahrazen alkenylem**. Alkenyl vznikne tak, že je acyl nahrazen alkylem pocházejícím z alkoholu, přičemž  $-OH$  skupina je následně eliminována (dehydratace) za vzniku dvojné vazby (desaturace).

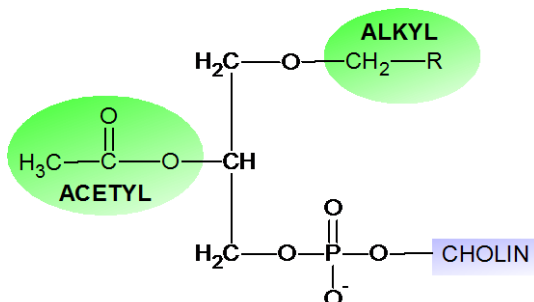


Nachází se především v srdeční tkáni (50% fosfolipidů tvoří plazmalogeny), myelinové pochvě neuronů a mitochondriálních lipidech.



### PAF (krevní destičky aktivující faktor; platelet activating factor)

PAF je modifikován ještě více než plazmalogeny – nahrazeny jsou oba dva acyly. Na uhlíku C1 je acyl nahrazen **alkylem** a na uhlíku C2 je acyl nahrazen **acylem**. Nahrazení acylu za **acetyl vede ke zvýšení rozpustnosti PAF**.



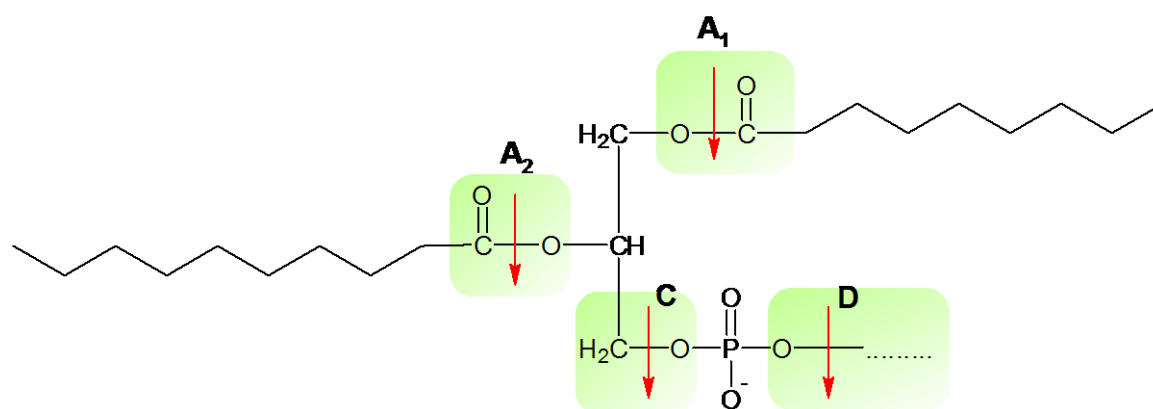
PAF je hlavní mediátor hypersenzitivní reakce, anafylaktického šoku a akutního zánětu, je produkován v leukocytech.

Jeho hlavním úkolem je **agregovat krevní destičky** a způsobovat **vasodilataci**. Má i řadu dalších fyziologických účinků.

### 7.18 Štěpení fosfolipidů

Fosfolipidy jsou látky, které ve svých molekulách **mají velké množství míst, na kterých je možné provádět štěpení**. Enzymy, které štěpí fosfolipidy, se obecně nazývají **fosfolipázy**. Podle toho, kterou vazbu konkrétně štěpí, rozlišujeme jejich několik typů.

Vyjdeme z následujícího schématu:



Fosfolipasa:

- A<sub>1</sub> štěpí acyl na **prvním uhlíku**
- A<sub>2</sub> štěpí acyl na **druhém uhlíku**, je využívána např. při remodelaci fosfolipidů (např. náhrada kyseliny olejové za PUFA) a při odštěpování PUFA, které se následně zapojí do metabolismu ikosanoidů
- C štěpí vazbu mezi fosfátem a glycerolem na třetím uhlíku; tato fosfolipáza je využívána **fosfatidylinositolovým systémem** (při vzniku „IPů“ z „PIPů“)
- D štěpí fosfoesterovou vazbu mezi fosfátem a další strukturou připojenou na fosfát (např. ethanolaminem, cholinem...); touto fosfolipázou jsou vybaveny **pouze rostliny**

## 7.19 Sfgingolipidy

### A) Sfgingofosfolipidy

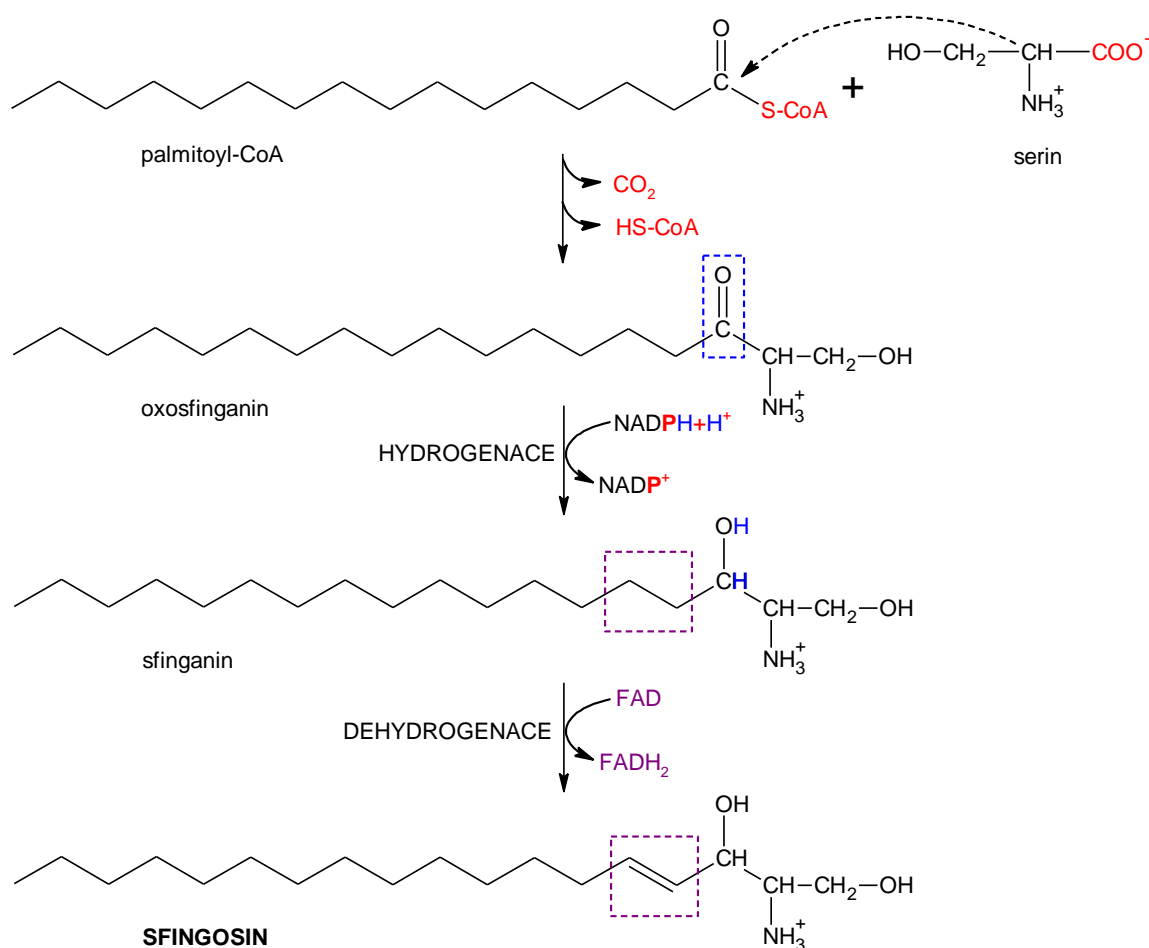
Sfgingofosfolipidy jsou další skupinou fosfolipidů, jejichž struktura se neodvozuje od glycerolu, ale od **sfgingosinu**. Hrají roli v **mezibuněčné komunikaci** – slouží jako **antigenní determinanty**.

Jediným zástupcem této skupiny, kterému se budeme věnovat, je **sfgingomyelin**. Jeho syntézu si popíšeme od úplného začátku – tedy od palmitátu a serinu, ze kterých vzniká sfgingosin, jehož následnými modifikacemi získáme právě sfgingomyelin.

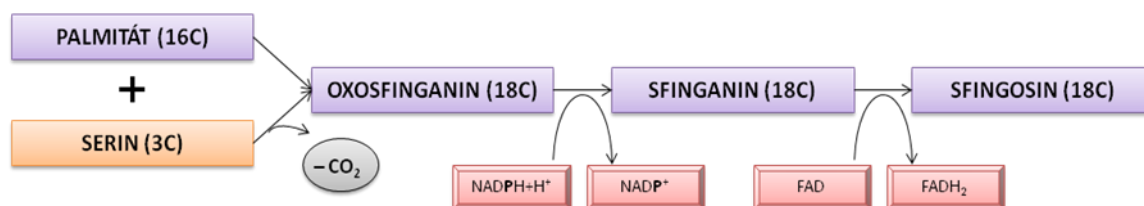
### Syntéza sfgingosinu

Sfgingosin je **18 uhlíkatý nenasycený aminodiol** (-OH skupiny na C1 a C4; -NH<sub>2</sub> skupina na C2; dvojná vazba vychází z C4).

Jeho syntéza vychází z **palmitátu** (palmitoyl-CoA) a **serinu**. Tyto dvě sloučeniny svou syntézou (a dekarboxylací) poskytnou **oxosfginganin**, který je následně hydrogenován a dehydrogenován za vzniku sfgingosinu:

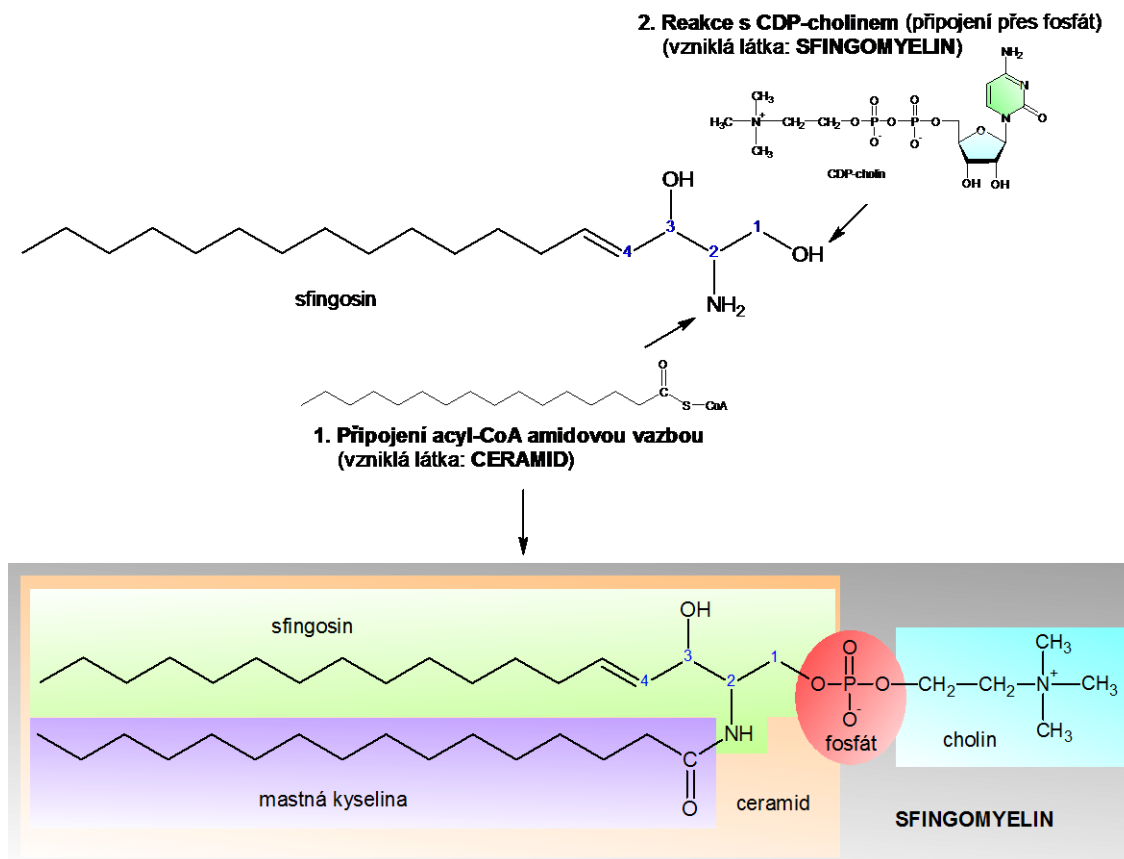


Souhrnně bychom mohli syntézu sfgingosinu zapsat následujícím schématem:



Sfingomyelin získáme ze sfingosinu tak, že:

- na  $-NH_2$  skupinu se **připojí aktivovaná mastná kyselina** (vzniklá látka má obecný název **ceramid**)
- na  $-OH$  skupině (C1) dojde k reakci s **CDP-cholinem** (připojí se fosfocholin) a vznikne tak **sfingomyelin**



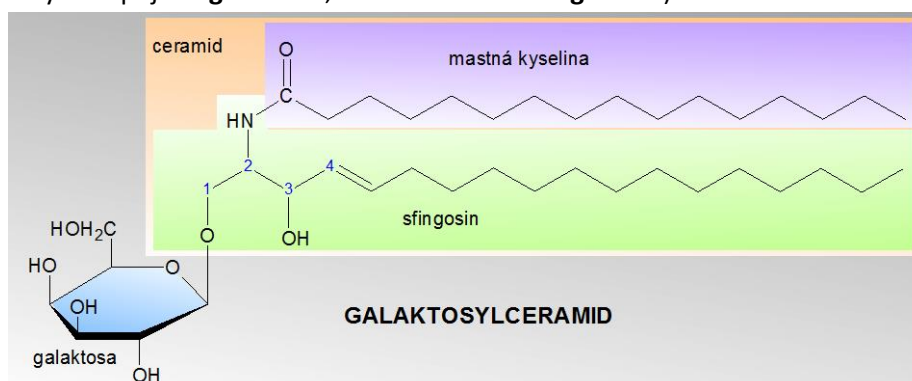
## B) Glykosfingolipidy

Glykosfingolipidy jsou, dalo by se říci, „deriváty ceramidů.“ Na ceramid (tedy sfingosin spojený amidovou vazbou s mastnou kyselinou, viz výše) je přes  $-OH$  skupinu (na C1) **připojena oligosacharidová složka** (pomocí O-glykosidové vazby).

Můžeme rozlišit:

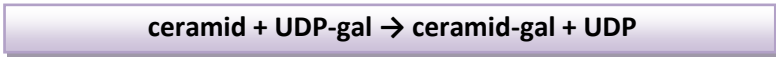
**Neutrální:**

- cerebrosidy** (monoglykosylceramidy = na ceramid je napojen monosacharid; v nervové tkáni bývá napojena **galaktosa**, v ostatních tkáních **glukosa**)



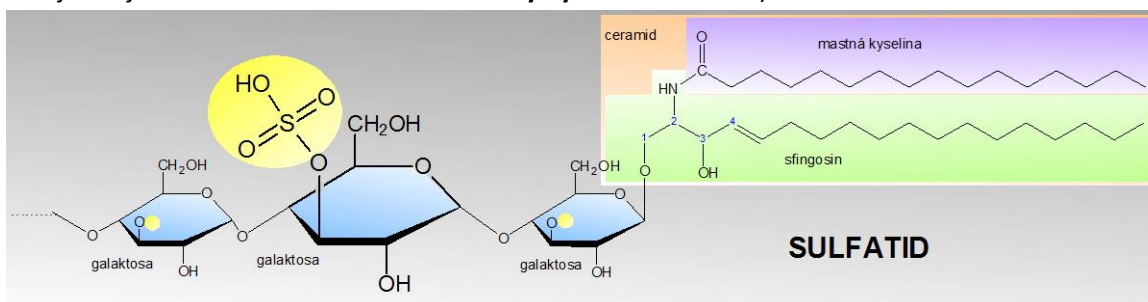
- b) **globosidy** (oligoglykosylceramidy = na ceramid je napojeno více sacharidových jednotek)  
*Pozn. Název globosidy se dnes již moc neužívá, obě skupiny (gangliosidy i globosidy) se označují jako cerebrosidy.*

Biosyntéza **cerebrosidů** (cerebrosidů i gangliosidů) probíhá tak, že **na ceramid je připojen aktivovaný sacharid**, např. **UDP-glukosa, UDP-galaktosa** apod. Nejčastěji se začíná připojením **UDP-galaktosy**, na ni jsou pak navazovány další monosacharidy.



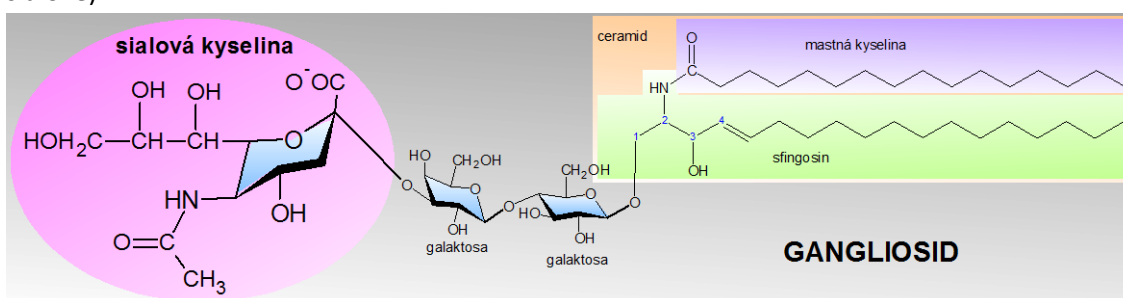
**Kyselé:**

- a) **sulfoglykosfingolipidy/sulfatidy** (= glykosfingolipidy, které jsou na některém z hydroxylů – nejčastěji na třetím uhlíku – **esterifikovány kyselinou sírovou**)

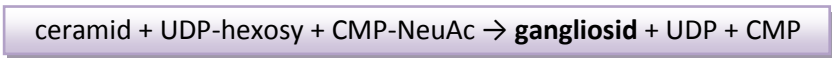


Biosyntézu sulfatidů vychází z **cerebrosidů** a zajišťuje kofaktor **PAPS** (slouží jako **sulfatační činidlo**). Po připojení na **cerebrosid sulfatuje jednotlivé sacharidové složky** za vzniku **sulfatidu**.

- b) **gangliosidy/sialoglykosfingolipidy** (= glykosfingolipidy, které ve své oligosacharidové části obsahují navázanou molekulu **sialové kyseliny**<sup>12</sup>; oligosacharidová složka se většinou skládá z 2-5 sacharidových zbytků, na které je napojeno 1-5 molekul kyseliny sialové)



Biosyntéza gangliosidů probíhá podobně jako syntéza cerebrosidů. Na **ceramid** jsou připojeny různé **UDP-hexosy** (UDP-gal, UDP-glu...) a na ně je následně připojena 1-5 molekul **CMP-NeuAc** (CMP-neuraminové kyseliny).



Největší výskyt **gangliosidů** je v **membránách gangliových buněk** (nervová tkáň).

<sup>12</sup> Sialová kyselina je N-acyl nebo O-acyl derivát kyseliny neuraminové.

### C) Odbourávání sfingosinu, glykosfingolipidů a sfingomyelinu

Odbourávání sfingosinu a glykosfingolipidů probíhá **v lysozomech**. Ty jsou vybaveny velkou řadou enzymů, z nichž každý je **specifický pro monosacharid, který odštěpuje z molekuly nebo glykosidovou vazbu, kterou štěpí**. Např.

- galaktosidasa (štěpí glykosidovou vazbu mezi galaktosovými zbytky)
- hexosaminidasa (odštěpuje hexosaminy)
- gangliosidneuraminidasa (odštěpuje neuraminovou kyselinu z molekul gangliosidů)
- glukocerebrosidasa (odštěpuje glukosu z molekul cerebrosidů)
- ...

Nedostatek kteréhokoliv z těchto enzymů **vede k akumulaci jeho substrátů v lysozomech**, což může vyústit v choroby zvané **sfingolipidózy**.

Odbourávání sfingomyelinu **zajišťuje enzym sfingomyelinasa**, která jej rozštěpí na **ceramid a fosfocholin**.

### D) Sfingolipidózy

Jedná se o velkou skupinu chorob, které jsou zapříčiněny chyběním (vrozenou deficiencí) určitého degradačního lysozomálního enzymu. Nejvíce je těmito chorobami ovlivňován CNS (většina gangliosidů a cerebrosidů se vyskytuje právě v něm).

Příklady:

#### a) Tay-Sachsova choroba

Deficience **hexoaminidasy A** vede k akumulaci **gangliosidu G<sub>M2</sub>**.

Postižení touto chorobou trpí **mentální retardací, slepotou, hepatosplenomegalií** a většinou se nedožívají více než 3 let života.

#### b) Gaucherova choroba

Snížení aktivity **β-glukosidasy** na 10-20%.

Nastává až v dospělém věku. Projevy: **trombocytopenie, splenomegalie, psychomotorické poruchy a rigidita**. V 50% případů se rozvíjí **epilepsie**.

## 7.20 Peroxidace lipidů

Peroxidace lipidů je proces, při kterém jsou **polynenasycené MK<sup>13</sup> lipidů poškozovány působením volných radikálů a kyslíku** za vzniku **hydroperoxidů**, ze kterých vznikají další škodlivé produkty.

Peroxidace lipidů může probíhat jako **enzymová** (při níž vznikají důležité látky, jako jsou leukotrieny, prostaglandiny apod., o kterých bude pojednáno v kapitole 8.2) či jako **neenzymová**. V této kapitole se zaměříme právě na **nekontrolovatelnou neenzymovou peroxidaci** (obecně lze říci, že když se mluví o peroxidaci, je myšlena právě ta neenzymová).

Peroxidace lipidů probíhá podobně jako radikálová substituce alkanů – můžeme rozlišit tři fáze nazývané **iniciace, propagace a terminace**.

Při **iniciaci** (*podbarveno žlutě*) je molekula mastné kyseliny **napadena radikálem**, nejčastěji **radikálem hydroxylovým**. Radikál napadá **nejcitlivější místo** mastné kyseliny, **kterým je skupina**

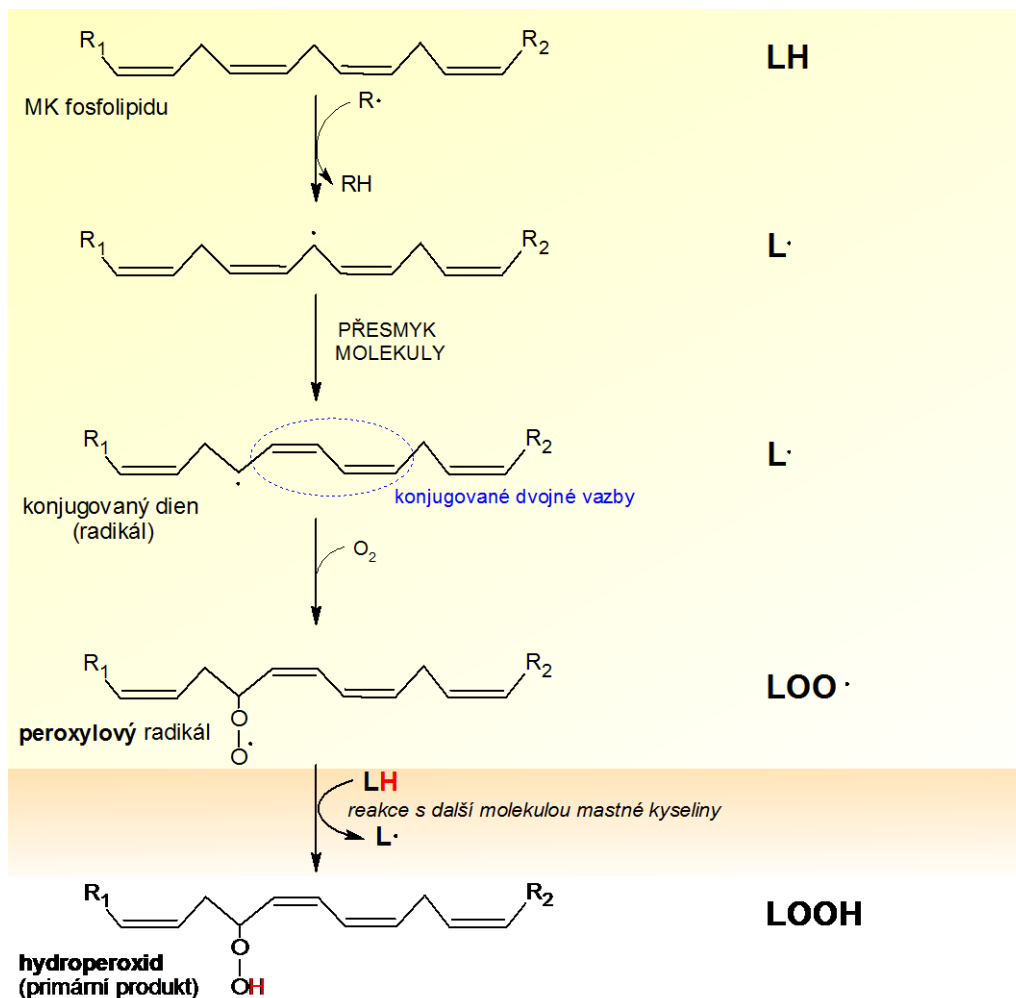
<sup>13</sup> Tj. MK s **více jak dvěma dvojnými vazbami**. Radikály (či kyslík) napadají uhlík nacházející se mezi dvěma dvojnými vazbami.

–CH<sub>2</sub>– mezi dvěma dvojnými vazbami (viz schéma). Radikál ze skupiny **odtrhne vodík**, čímž z mastné kyseliny vytvoří **radikál**, který označujeme jako **L•**. V takto vzniklému radikálu dojde k **přeskupení dvojných vazeb** (z izolovaných se stanou **konjugované**, proto hovoříme o vzniku **konjugovaného dienu**). Konjugovaný dien je velmi reaktivní a **reaguje s molekulou kyslíku** za vzniku **lipoperoxylového radikálu LOO•**. Lipoperoxylový radikál je velmi reaktivní a **může reagovat s další molekulou mastné kyseliny**, čímž z ní vytvoří radikál L• a ze sebe vytvoří **hydroperoxid LOOH**. Tímto (vznikem radikálu L•) se začíná proces **propagace** (*podbarveno oranžově*).

V propagaci vznikají volné radikály tak dlouho, dokud:

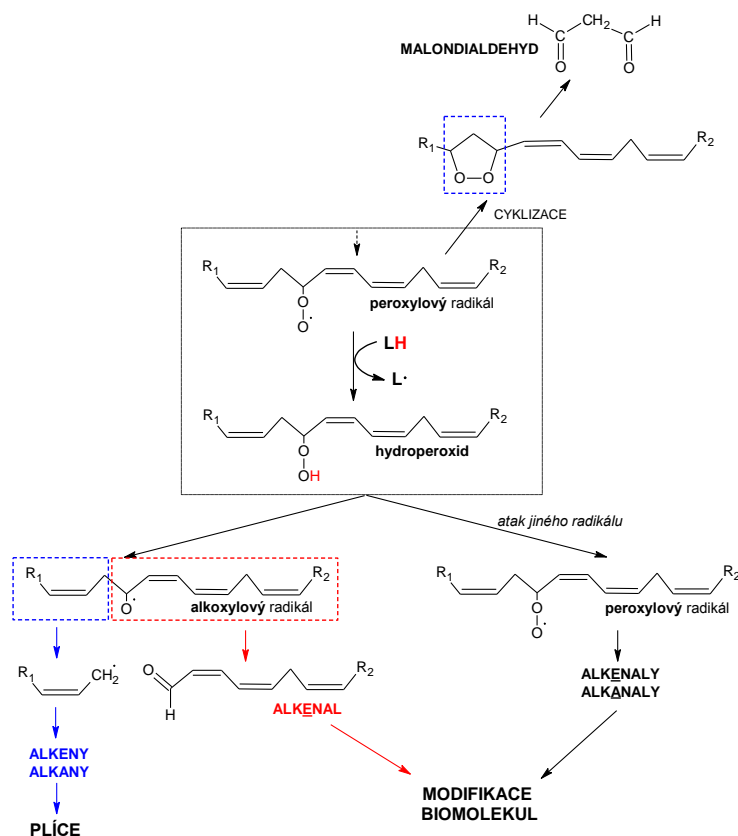
- se nasetkají dva různé radikály
- se nasetká radikál s antioxidantem, kterým nejčastěji bývá  **tokoferol**

Pokud nastane jeden z výše uvedených případů, hovoříme o **terminaci**.



Primárním produktem neenzymové peroxidace lipidů jsou **hydroperoxydy LOOH**. Větší nebezpečí pro organismus však tvoří **sekundární produkty**. Ty mohou atakovat další biomolekuly (nejen mastné kyseliny), nebo jsou pro organismus přímo toxické (nejnebezpečnější jsou asi dialdehydy, např. **malondialdehyd**, 4-hydroxynonenal).

Látky, které mohou vznikat z hydroperoxidů (a peroxylových radikálů), jsou znázorněny na následujícím schématu:



Produkty lipoperoxidace (můžeme říct, že i lipoperoxidace samotná), a to primární i sekundární, narušují **stavbu membrán** – mění jejich fluiditu, čímž např. zvyšují propustnost pro ionty, tím se mění membránový potenciál a může proto dojít k lýze (zániku) buněk.

### Antioxidanty

Jedná se o látky, které zabraňují peroxidaci lipidů. Rozlišujeme:

- preventivní antioxidanty** (zabraňují vzniku volných radikálů a neumožňují tak vůbec začátek lipoperoxidace)
  - **katalasa/peroxidasy** (rozkládají peroxid vodíku a zabraňují tak jeho přeměně na hydroxylový radikál)
  - **superoxiddismutasa** (vychytává superoxidový anion-radikál)
  - **transferin, ferritin, ceruloplasmin** (látky, které vychytávají ionty mědi a železa<sup>14</sup> a neumožňují jim tak vstup do Fentonovy reakce)
- antioxidanty zastavující propagaci** (jedná se o látky, které mají schopnost reagovat s radikály za vzniku stabilních produktů, čímž zamezují řetězové reakci; musí mít **lipofilní charakter**)
  - **tokoferol** (vitamin E)
  - **karotenoidy**
  - **ubichinol** (nachází se na mitochondriální membráně)
  - **flavonoidy**

<sup>14</sup>  $Fe^{2+}$  ionty poskytují elektron do **Fentonovy reakce** (přemění se při ní na  $Fe^{3+}$  ionty), která se v případě hydroperoxidu dá zapsat rovnicí:  $LOOH + Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+} + LO\cdot + OH^-$ .  
Ionty  $Fe^{3+}$ , které při Fentonové reakci vznikají, mohou **iniciovat** další lipoperoxidaci.