

Základy biochemie KBC / BCH

Metabolismus lipidů

Inovace studia biochemie prostřednictvím e-learningu

CZ.04.1.03/3.2.15.3/0407



Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky.



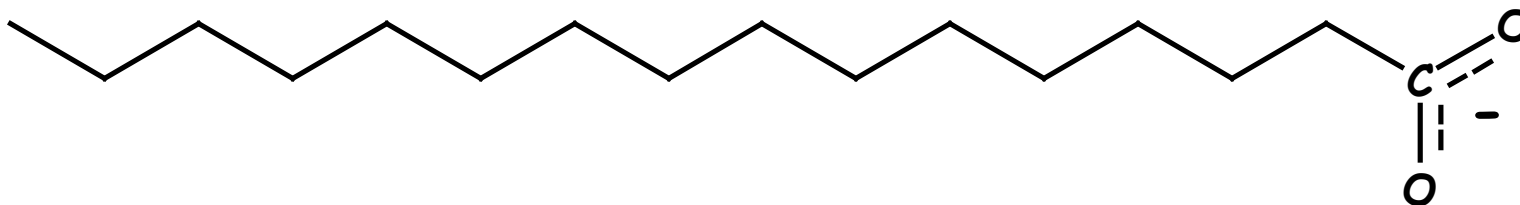
Osnova

- Rozdělení lipidů.
- Mastné kyseliny, membránové lipidy (fosfolipidy, glykolipidy a cholesterol).
- Triacylglyceroly.
- Vstup mastných kyselin do matrix mitochondrie a β -oxidace.
- Odbourávání mastných kyselin na peroxisomech.
- Syntéza mastných kyselin.
- Syntéza cholesterolu.
- Žlučové kyseliny, steroidní hormony, vitamin D, terpeny, fytol a karotenoidy.

Lipidy

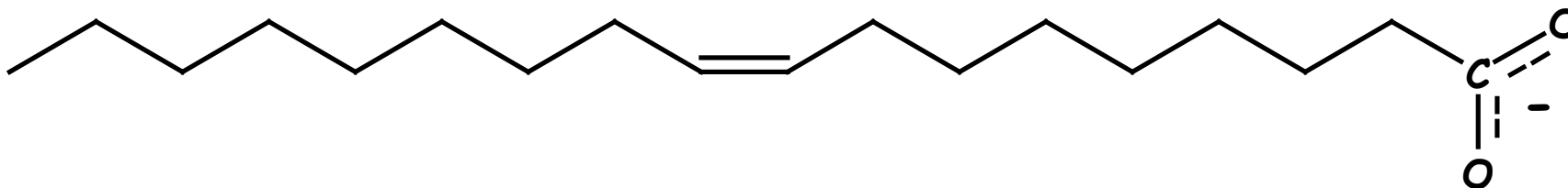
- LIPIDY - jsou ve vodě nerozpustné biomolekuly, dobře rozpustné v organických rozpouštědlech (např. chloroform).
- Lipidy zahrnují:
 - A) Mastné kyseliny
 - B) Triacylglyceroly (neutrální tuky)
 - C) Alkoholy s dlouhým řetězcem a vosky
 - D) Sfingoidy a další báze s dlouhým řetězcem
 - E) Glykolipidy, fosfolipidy a sfingolipidy
 - F) Karoteny, polyprenoly, steroly, terpeny a další isoprenoidy.

Mastné kyseliny - nositelky hydrofobních vlastností



Palmitát

(ionizovaná forma kyseliny palmitové)



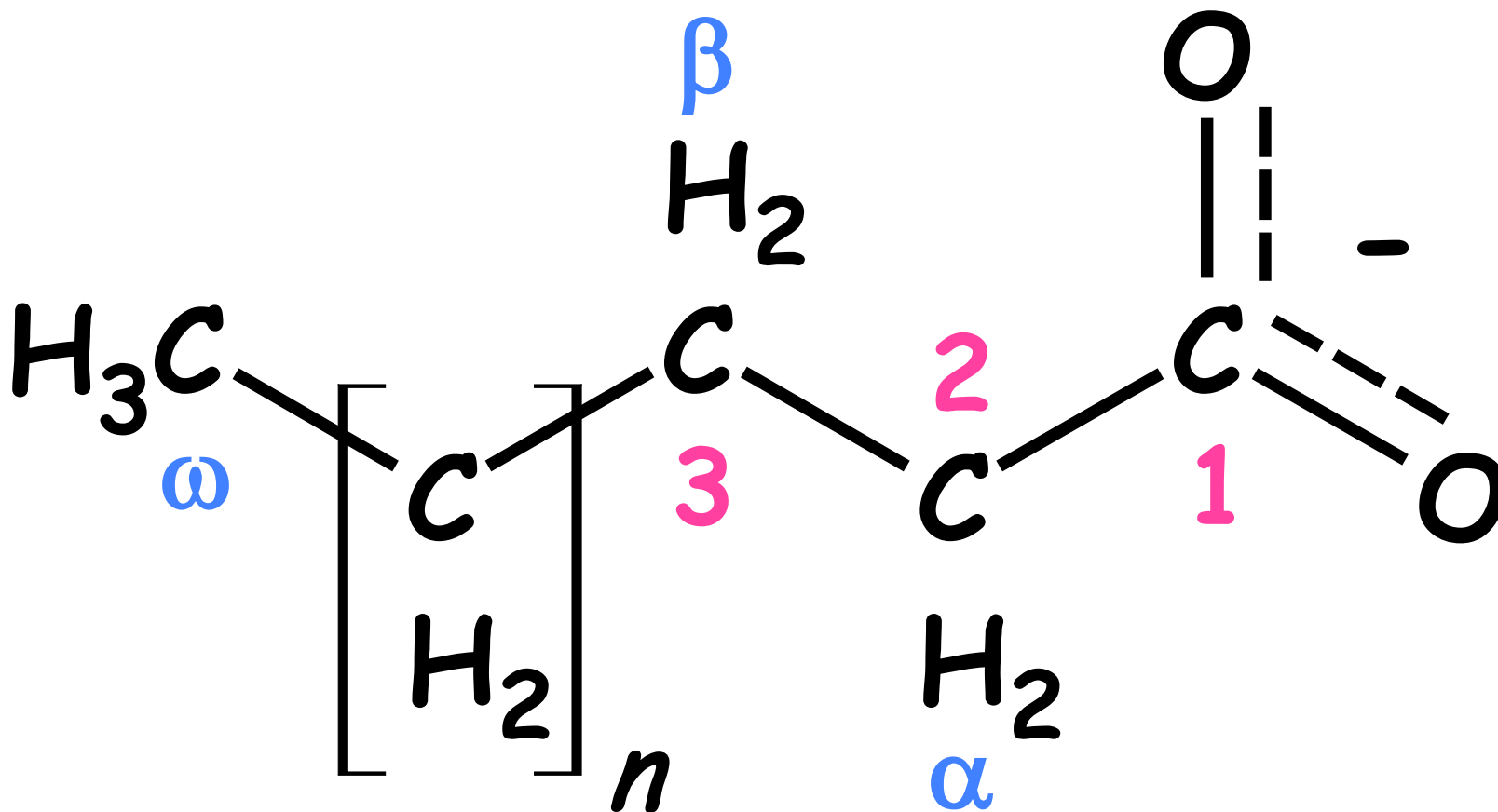
Oleát

(ionizovaná forma kyseliny olejové)

Názvosloví mastných kyselin

- Nasycená mastná kyselina s 18 atomy C (C_{18}) se nazývá oktadekanová (podle uhlovodíku oktadekanu), s dvojnou vazbou pak oktadekenová a se dvěma dvojnými vazbami oktadekadienová kyselina.
- Záznam 18 : 0 značí mastnou kyselinu C_{18} bez dvojně vazby.
Záznam 18 : 2 znamená, že kyselina obsahuje dvě dvojně vazby.
- Uhlíky mastné kyseliny se číslují od karboxylu, atomy 2 a 3 se také označují α a β . Koncový methyl se označuje ω -uhlíkový atom.
- Poloha dvojně vazby se označuje symbolem Δ a číslem v exponentu. Tak např. cis- Δ^9 značí polohu dvojně vazby mezi uhlíky 9 a 10.
- Dvojně vazby je také možné označovat od ω -uhlíkového atomu (má číslo 1). Např. ω - 3 mastná kyselina má dvojnou vazbu na třetím uhlíku od konce.

Značení uhlíkových atomů mastných kyselin

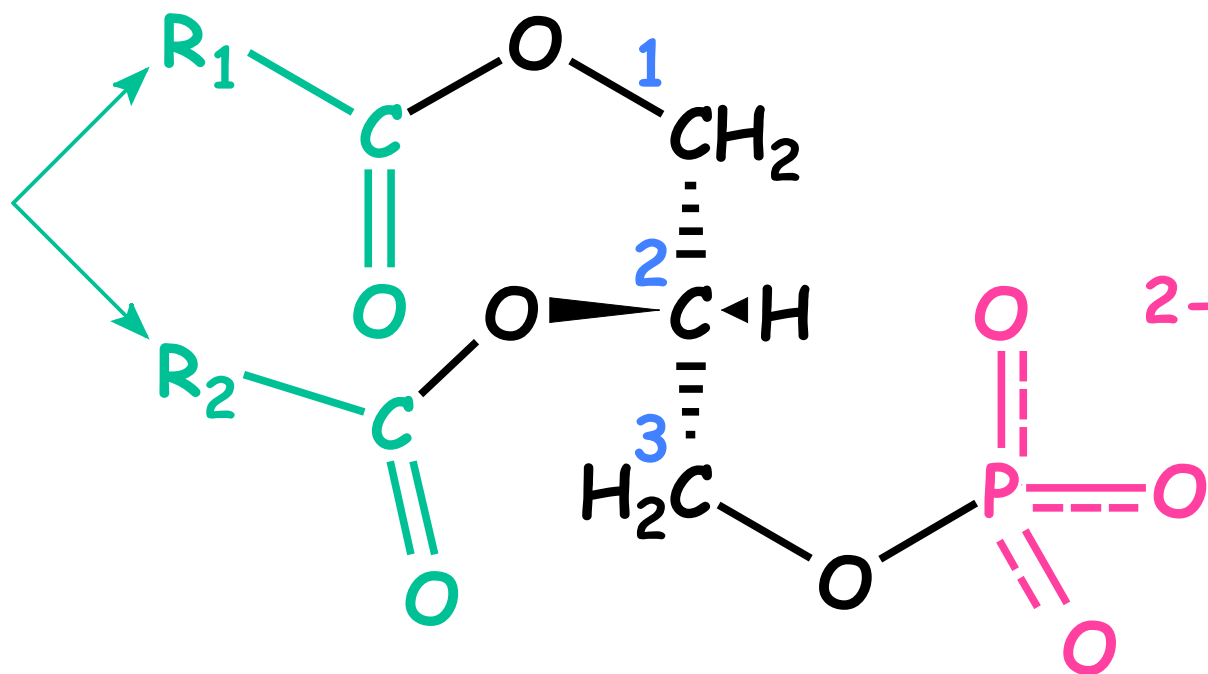


Některé přírodní živočišné mastné kyseliny

Počet C	Počet dvojných vazeb	Název	Systematický název
• 12	0	Laurová	n-dodekanová
• 14	0	Myristová	n-tetradekanová
• 16	0	Palmitová	n-hexadekanová
• 18	0	Stearová	n-oktadekanová
• 20	0	Arachidová	n-eikosanová
• 22	0	Behenová	n-dokosanová
• 24	0	Lignocerová	n-tetrakosanová
• 16	1	Palmitolejová	cis- Δ^9 -hexadecenová
• 18	1	Olejová	cis- Δ^9 -oktadecenová
• 18	2	Linoleová	cis, cis- Δ^9, Δ^{12} -oktadekadienová
• 18	3	Linolenová	all-cis- $\Delta^9, \Delta^{12}, \Delta^{15}$ -oktadekatrienová
• 20	4	Arachidonová	all-cis- $\Delta^5, \Delta^8, \Delta^{11}, \Delta^{14}$ -eikosatetraenová

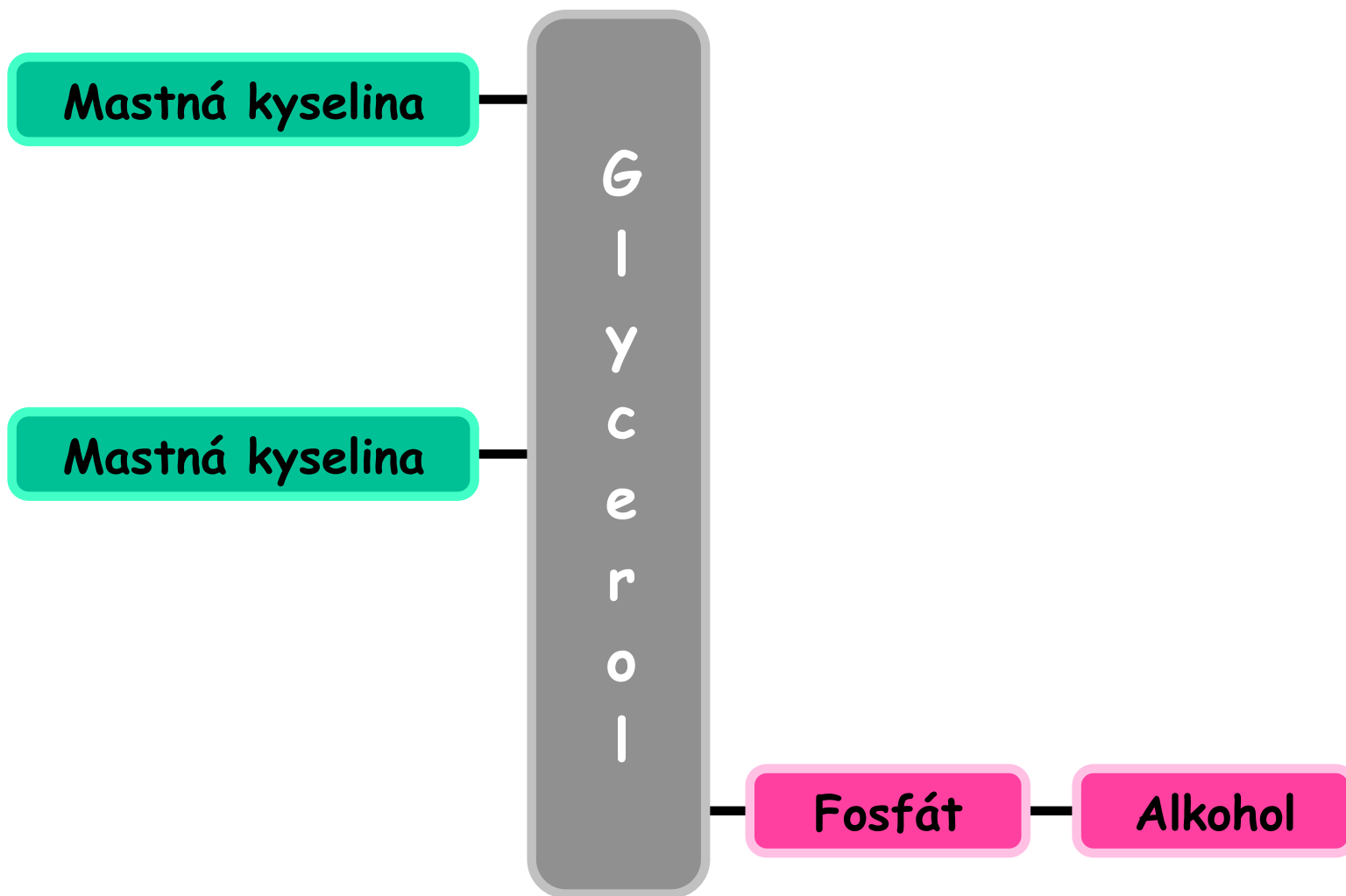
Fosfatidát (Fosfatidová kyselina)

Acylové skupiny
mastných kyselin

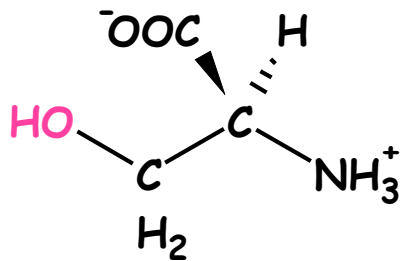


Fosfatidát
(diacylglycerol-3-fosfát)

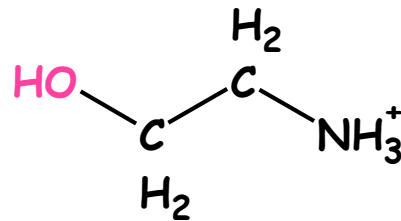
Schematická struktura fosfolipidu



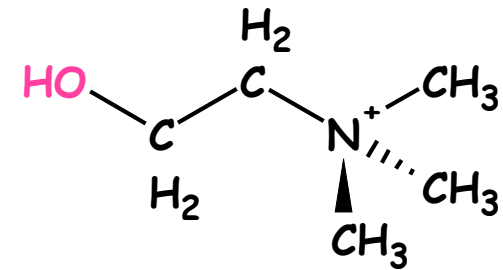
Alkoholy, které se váží esterovou vazbou na fosfatidát:



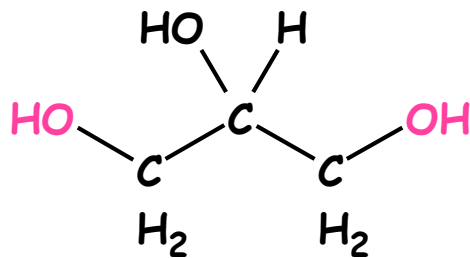
Serin



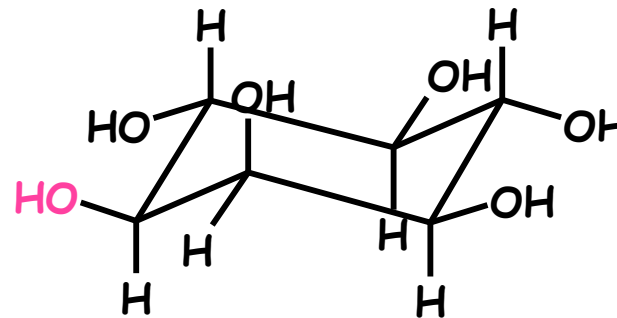
Ethanolamin



Cholin

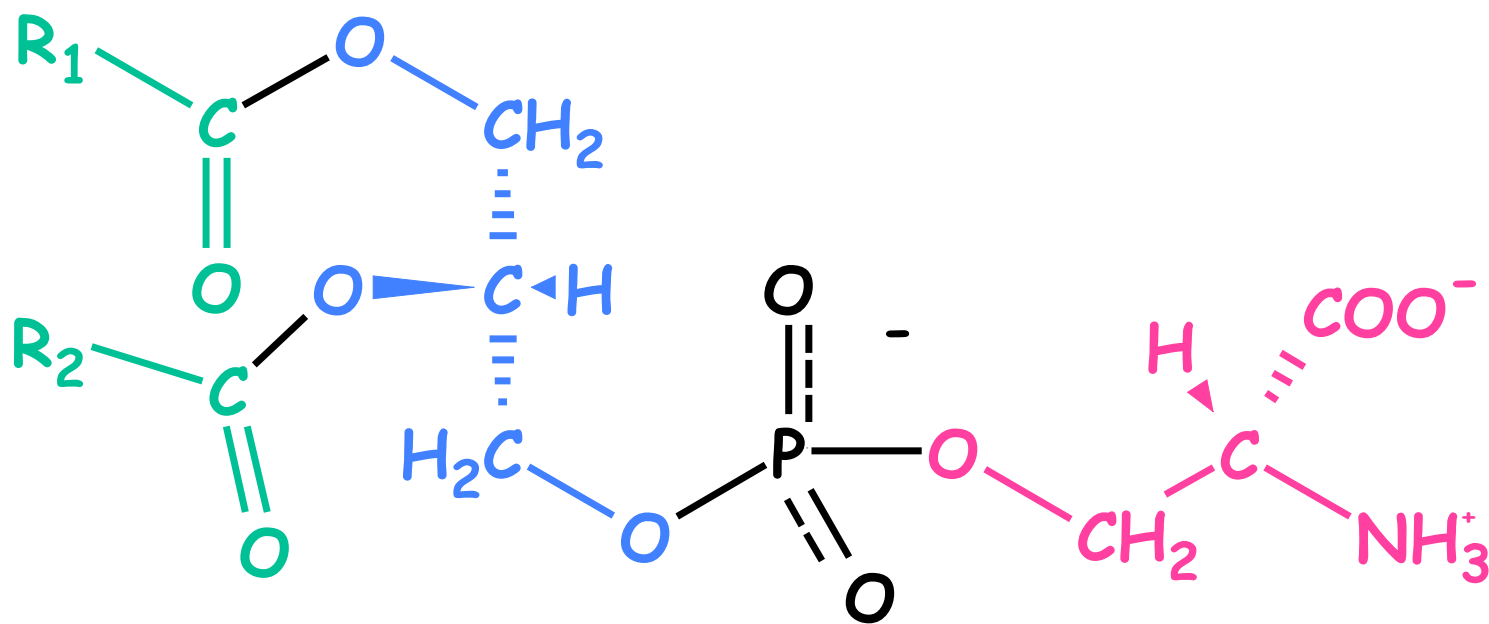


Glycerol



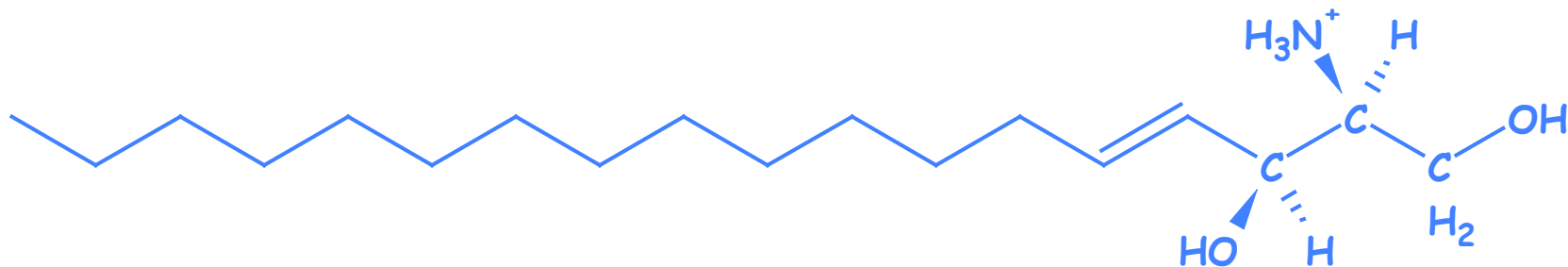
Inositol

Fosfatidylserin - příklad fosfolipidu

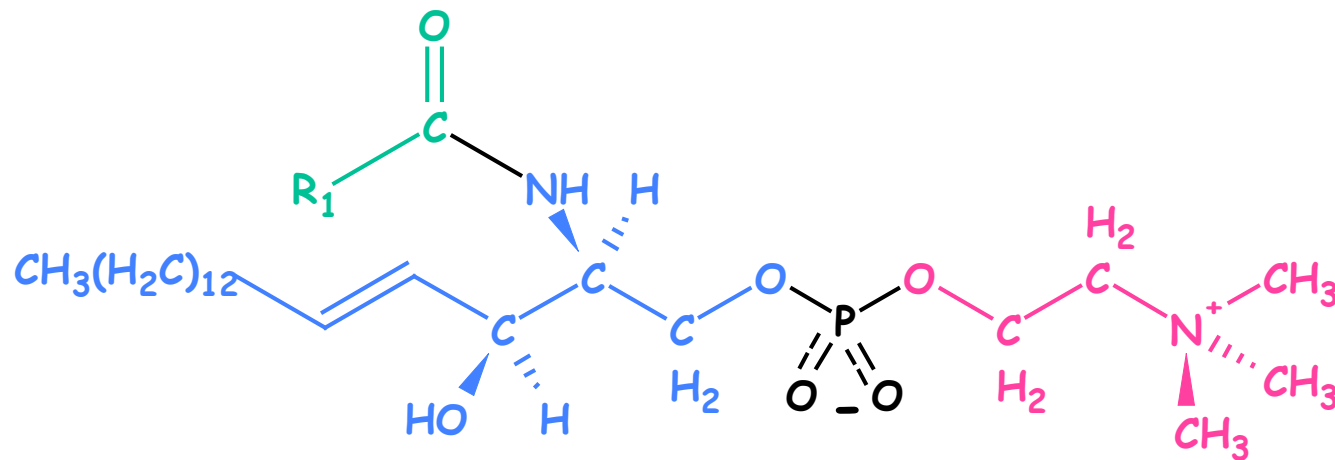


Fosfatidylserin

Struktura sfingosinu a sfingomyelinu.



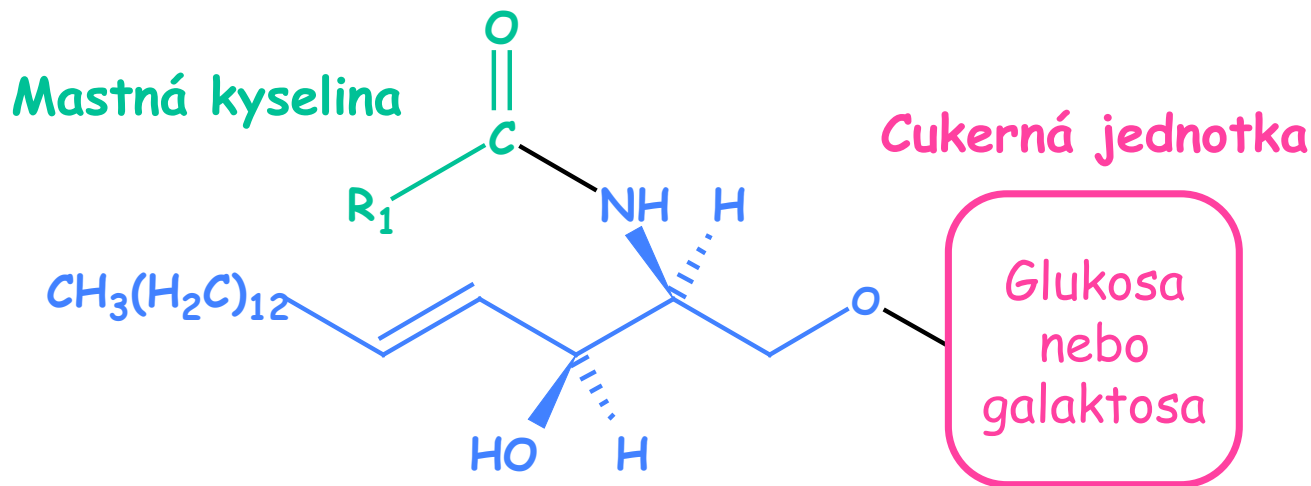
Sfingosin



Sfingomyelin

Glykolipidy- sacharid obsahující lipidy.

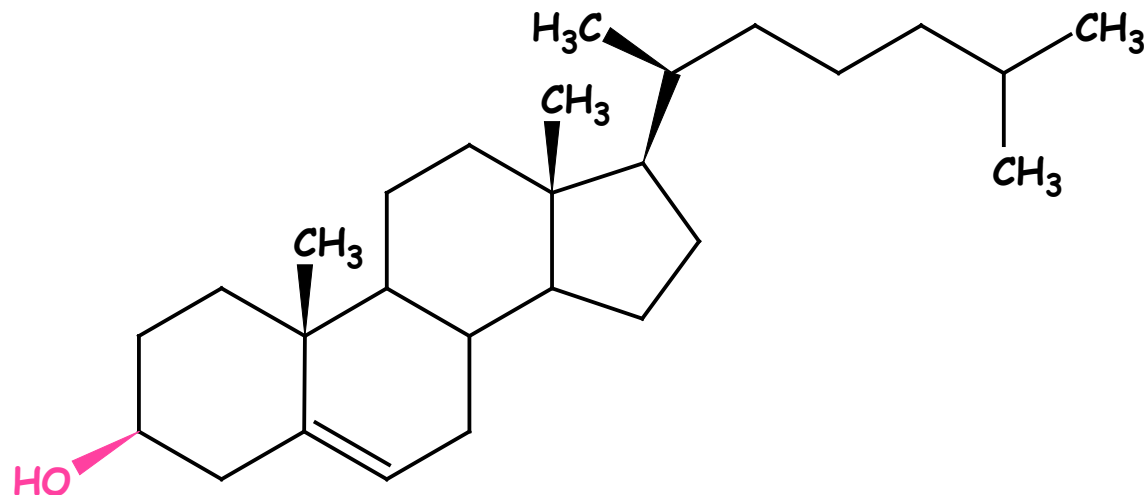
- Glykolipidy živočichů jsou odvozeny od sfingosinu. Aminokupina sfingosinu je acylována mastnou kyselinou (shodné se sfingomyelinem). Na rozdíl od sfingomyelinu je na hydroxyly sfingosinu vázán sacharid. Rostlinné glykolipidy obsahují glukosu, živočišné galaktosu.



Cerebrosid
(glykolipid)

Cholesterol

- Cholesterol je lipid na bázi steroidního skeletu - steranu.
- V membránách je cholesterol orientován rovnoběžně se řetězcem mastných kyselin. Je až 25 % součástí membránových lipidů nervových buněk, ale je nepřítomen v intracelulárních membránách. Cholesterol neobsahují prokaryotní membrány.



Cholesterol

Úloha mastných kyselin:

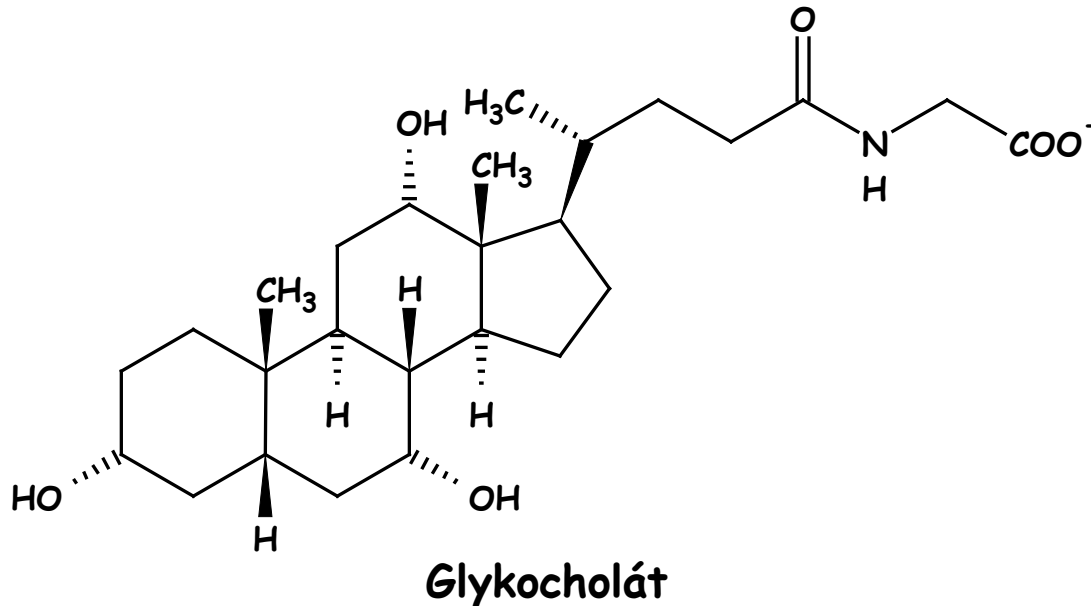
- 1. Součást biologických membrán - fosfolipidy a glykolipidy.
- 2. Mnohé proteiny jsou modifikovány kovalentní vazbou s mastnými kyselinami a tímto způsobem jsou lokalizovány v membránách.
- 3. Mastné kyseliny jsou zásobárnou energie. Obvykle jsou skladovány jako **triacylglyceroly** (nebo také neutrální mastné kyseliny, triglyceridy).

Triacylglyceroly

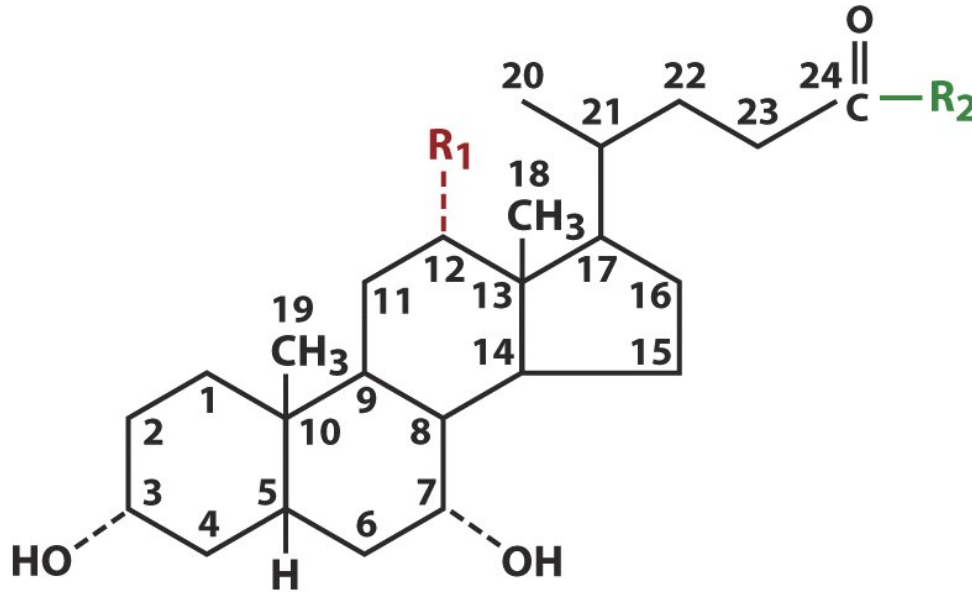
- Triacylglyceroly skladují velké množství metabolické energie, protože jsou bezvodé a redukované.
- Kompletní oxidací jednoho gramu mastné kyseliny se získá 38 kJ energie, zatímco z 1 g sacharidů nebo proteinů pouze 17 kJ.
- Triacylglyceroly jsou výhodně skladovatelnou energií. Jeden gram tuku skladuje 6 x více energie než 1 g hydratovaného glykogenu.
- Typický 70 kg vážící muž má energetickou rezervu 420 000 kJ ve formě triacylglycerolu, 10 000 kJ v proteinech (svaly), 2 500 kJ v glykogenu a 170 kJ v glukose.
- Celková hmotnost triacylglycerolů je 11 kg. Pokud by se takové množství energie skladovalo v glykogenu, byla by tělesná hmotnost 55 x vyšší.
- Zásoby glykogenu a glukosy vystačí zásobovat organismus energií jeden den. Triacylglyceroly týdny.
- U savců je hlavním místem akumulace triacylglycerolů cytoplasma adiposních buněk (tukových buněk).

Triacylglyceroly z potravy.

- Triacylglyceroly ze střevní sliznice jsou z důvodu nerozpustnosti převáděny na micely za účasti žlučových kyselin. Žlučové kyseliny jsou amfipatické (obsahují polární i nepolární části), jsou syntetizovány v játrech a uvolňovány ze žlučníku.
- Žlučové kyseliny obalí triacylglyceroly a usnadní tak funkci hydrolytickým lipasám. Např. glykocholát.



Struktura hlavních žlučových kyselin a jejich Gly a taurinových konjugátů.



Cholic acid

Chenodeoxycholic acid



Glycocholic acid

Glychenodeoxycholic acid



Taurocholic acid

Taurochenodeoxycholic acid

Model transportu triacylglycerolů a cholesterolu u lidí.

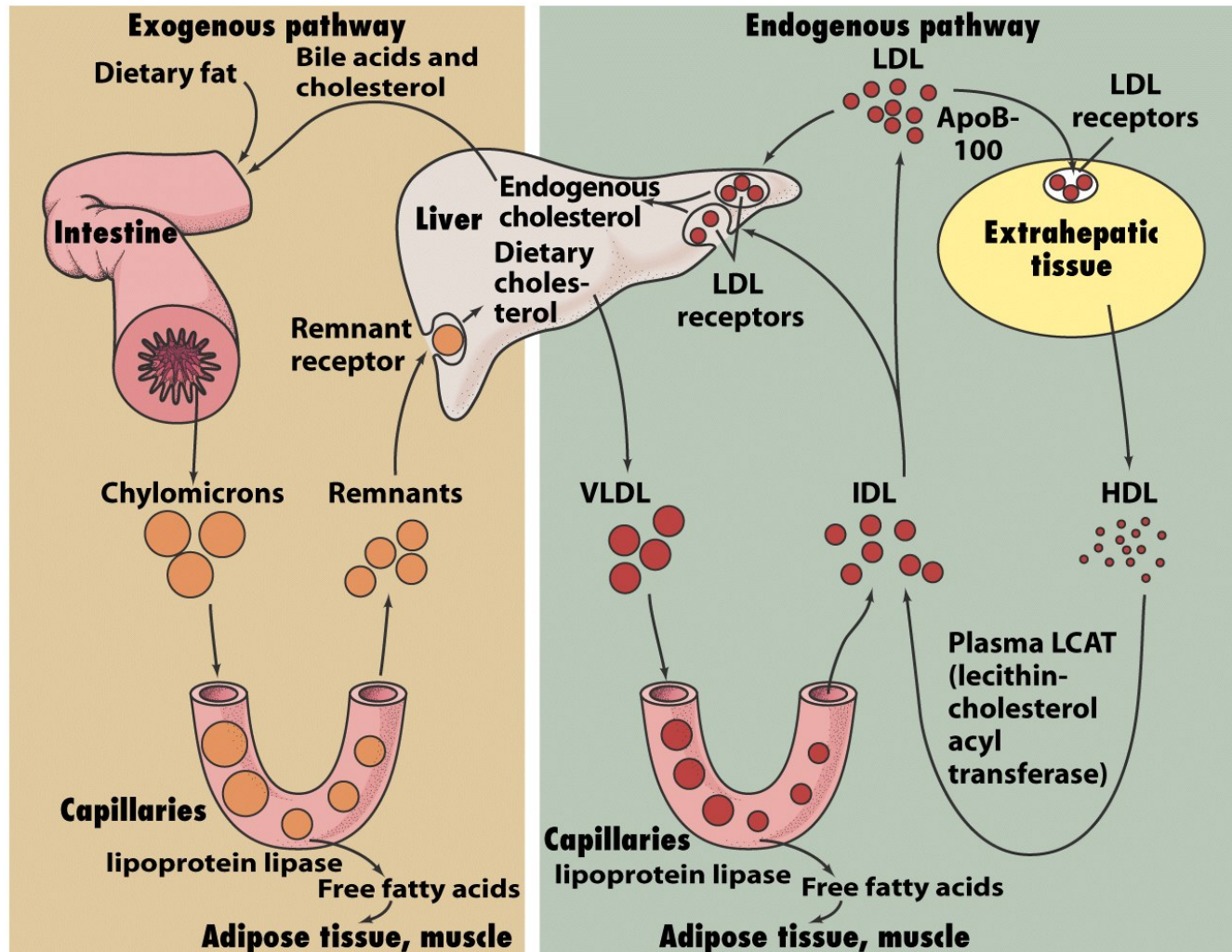
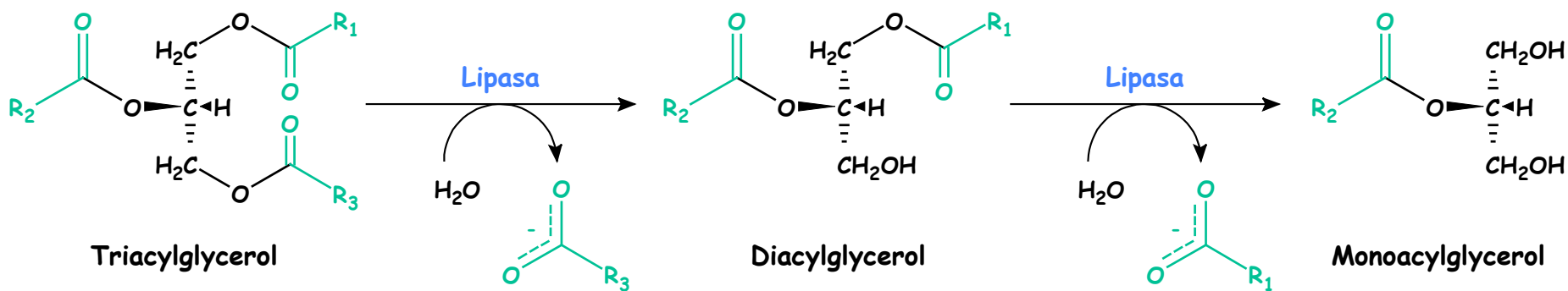


Figure 19-7 Fundamentals of Biochemistry, 2/e
© 2006 John Wiley & Sons

Hydrolytické štěpení triacylglycerolu pankreatickými lipasami:



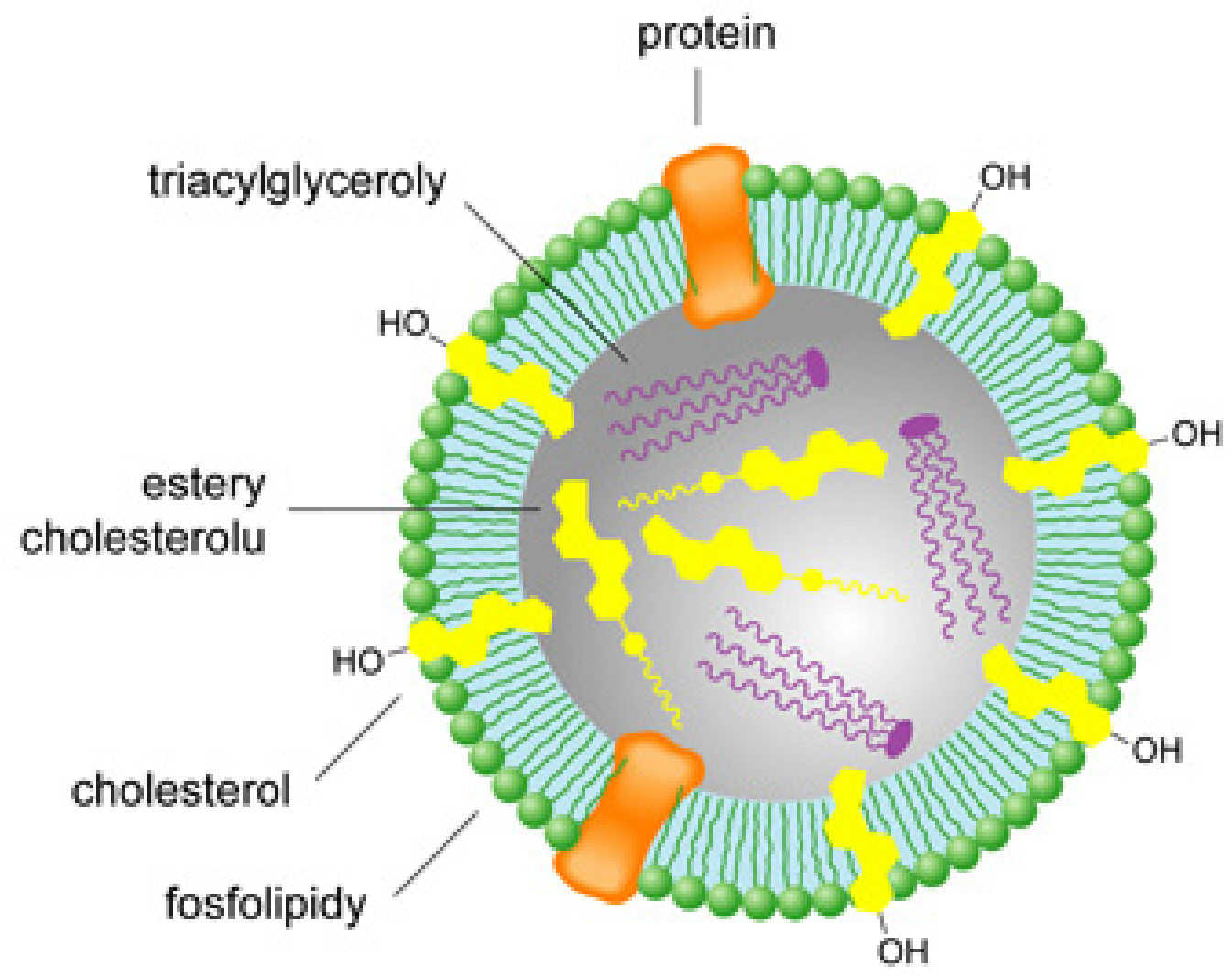
Resyntéza triacylglycerolů ve sliznici střeva

- Resyntetizované triacylglyceroly jsou sbaleny do lipoproteinových transportních částic - chylomikronů, které přes lymfu vstupují do krve.
- Chylomikrony se váží na membránách (přednostně adiposní tkáň a svalstva) vázané lipoproteinové lipasy, kde jsou triacylglyceroly opět hydrolyzovány na mastné kyseliny a monoacylglycerol, aby je bylo možné transportovat do tkání.
- Periferní tkáň využívají energii lipidů skladovaných v adiposní tkáni ve třech stupních:
 - 1. Mobilizace lipidů - hydrolýza na mastné kyseliny a glycerol, které jsou transportovány do potřebných tkání.
 - 2. Aktivace mastných kyselin a jejich transport do matrix mitochondrií.
 - 3. Odbourávání mastných kyselin na acetyl CoA, který vstupuje do cyklu trikarboxylových kyselin.

Krevní lipoproteiny

- jsou nekovalentní komplexy lipidů se specifickými bílkovinami (tzv. apolipoproteiny) vyskytující se v krevní plasmě. Zajišťují transport a distribuci lipidů (triacylglycerolů, steroidních hormonů, vitaminů rozpustných v tucích, cholesterolu, fosfolipidů atd.). Jsou tvořeny jádrem nepolárních lipidů (triacylglyceroly, cholesterol), obklopeným polárními lipidy a apolipoproteiny. Podle obsahu lipidů, který přímo určuje jejich hustotu, dělíme krevní lipoproteiny na **chylomikrony (obsah lipidů 99 %)**, **lipoproteiny s velmi nízkou hustotou (angl. very low density lipoproteins, VLDL, 93 %)**, **lipoproteiny se střední hustotou (intermediate density lipoproteins, IDL, 89 %)**, **lipoproteiny s nízkou hustotou (low density lipoproteins, LDL, 80 - 75 %)**, **lipoproteiny s vysokou hustotou (high density lipoproteins, HDL, 65 - 50 %)** a **lipoproteiny s velmi vysokou hustotou (very high density lipoproteins, VHDL, 35 - 3 %)**. Jednotlivé frakce mají různé úkoly při transportu lipidů; jejich stanovení v krevní plasmě má velký význam pro diagnostiku řady chorob. Osud lipoproteinových částic je pestrý; mohou procesem endocytosy vstupovat do buněk, kde jsou obvykle rozloženy lysosomální hydrolysou, mohou být v plasmě hydrolysovány lipoproteinlipasami {EC 3.1.1.34}, přičemž jeden typ přechází postupně na druhý (ve směru od chylomikronů k částicím s větší hustotou) atd.

Stavba krevního lipoproteinu



Lipoproteiny = komplexy lipidů a proteinů.
Proteinová složka = apolipoprotein.

Table 19-1 Characteristics of the Major Classes of Lipoproteins in Human Plasma.

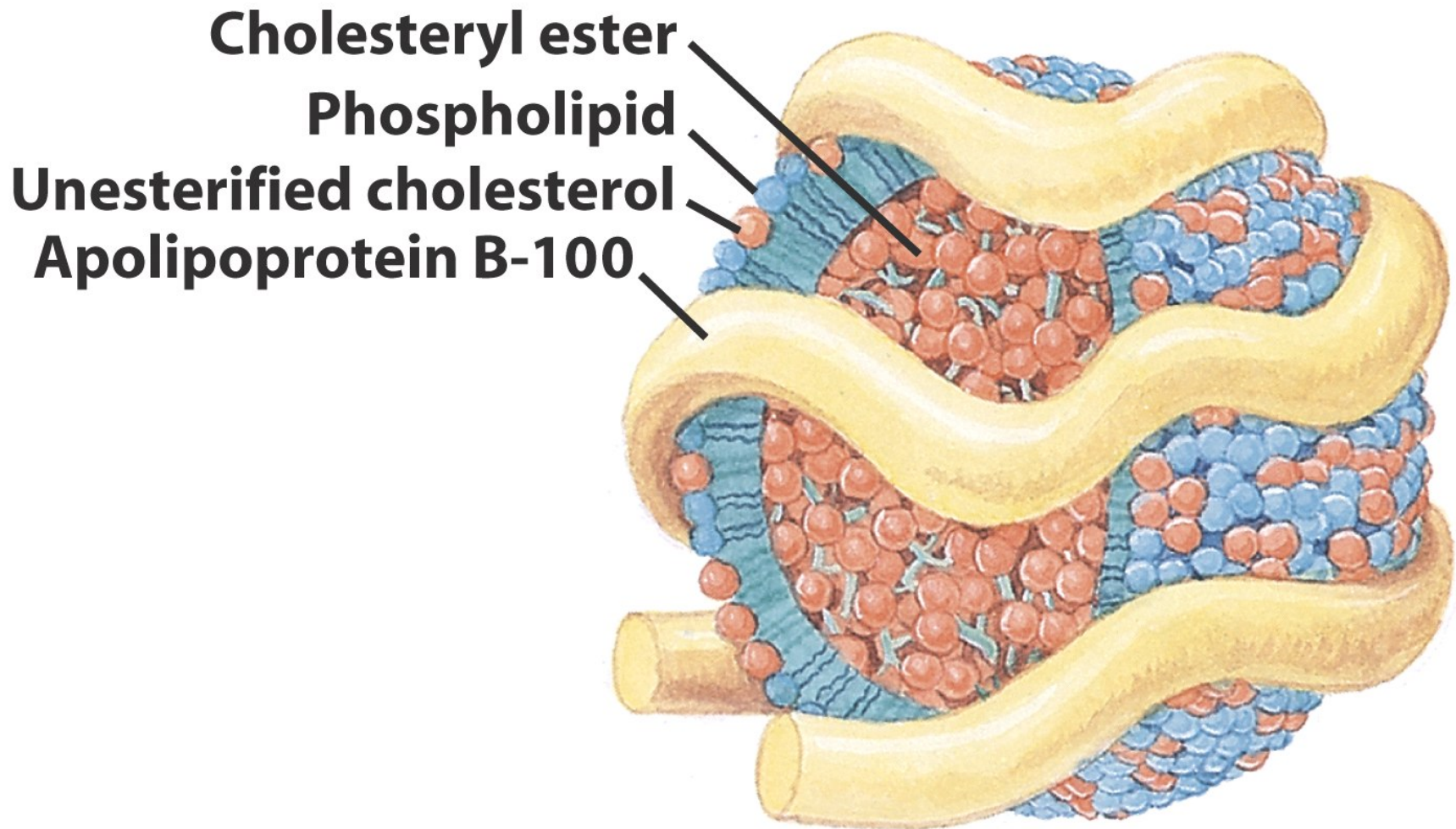
	Chylomicrons	VLDL	IDL	LDL	HDL
Density ($\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$)	<0.95	<1.006	1.006–1.019	1.019–1.063	1.063–1.210
Particle diameter (Å)	750–12,000	300–800	250–350	180–250	50–120
Particle mass (kD)	400,000	10,000–80,000	5000–10,000	2300	175–360
% Protein ^a	1.5–2.5	5–10	15–20	20–25	40–55
% Phospholipids ^a	7–9	15–20	22	15–20	20–35
% Free cholesterol ^a	1–3	5–10	8	7–10	3–4
% Triacylglycerols ^b	84–89	50–65	22	7–10	3–5
% Cholesteryl esters ^b	3–5	10–15	30	35–40	12
Major apolipoproteins	A-I, A-II, B-48, C-I, C-II, C-III, E	B-100, C-I, C-II, C-III, E	B-100, C-I, C-II, C-III, E	B-100	A-I, A-II, C-I, C-II, C-III, D, E

^aSurface components.

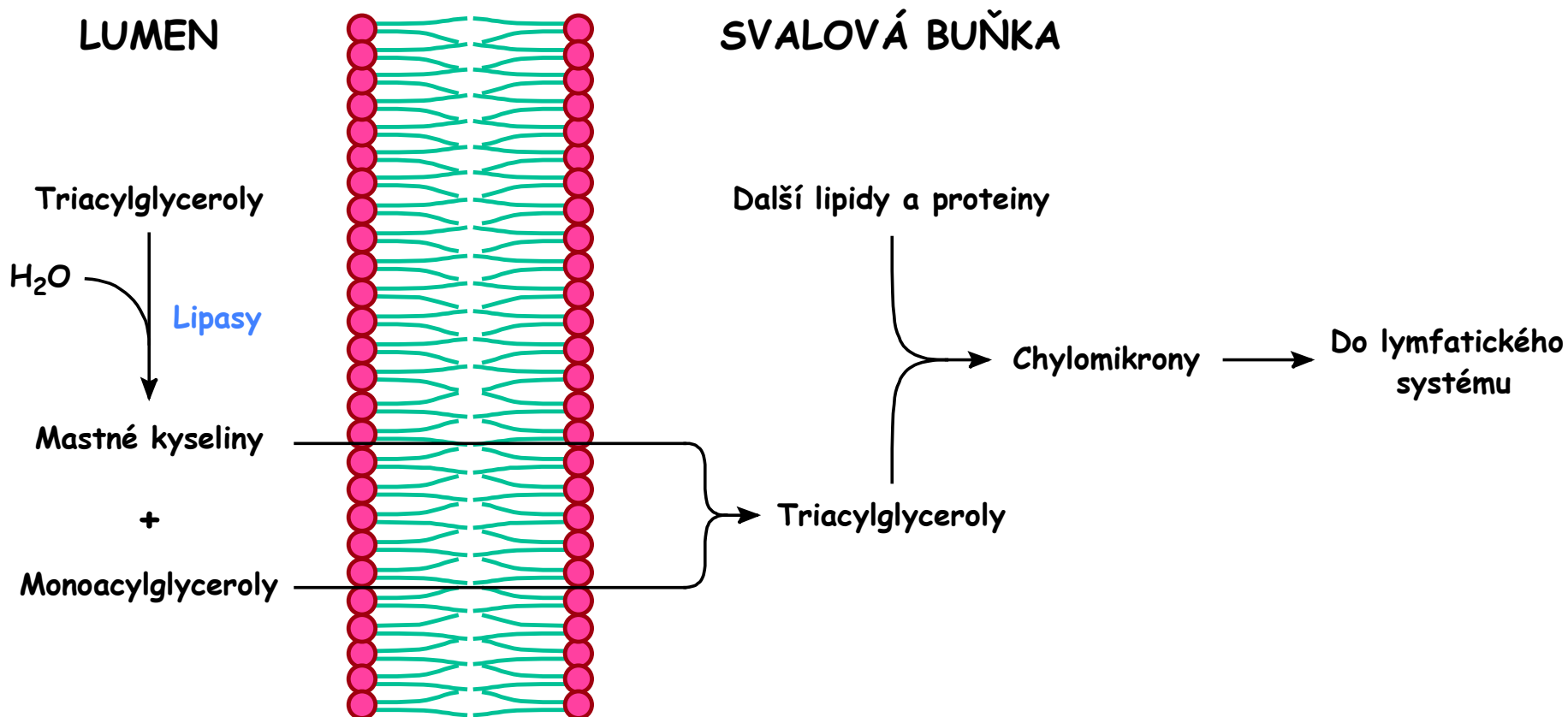
^bCore lipids.

Table 19-1 Fundamentals of Biochemistry, 2/e
© 2006 John Wiley & Sons

Obrázek LDL - hlavní transportér cholesterolu krví.

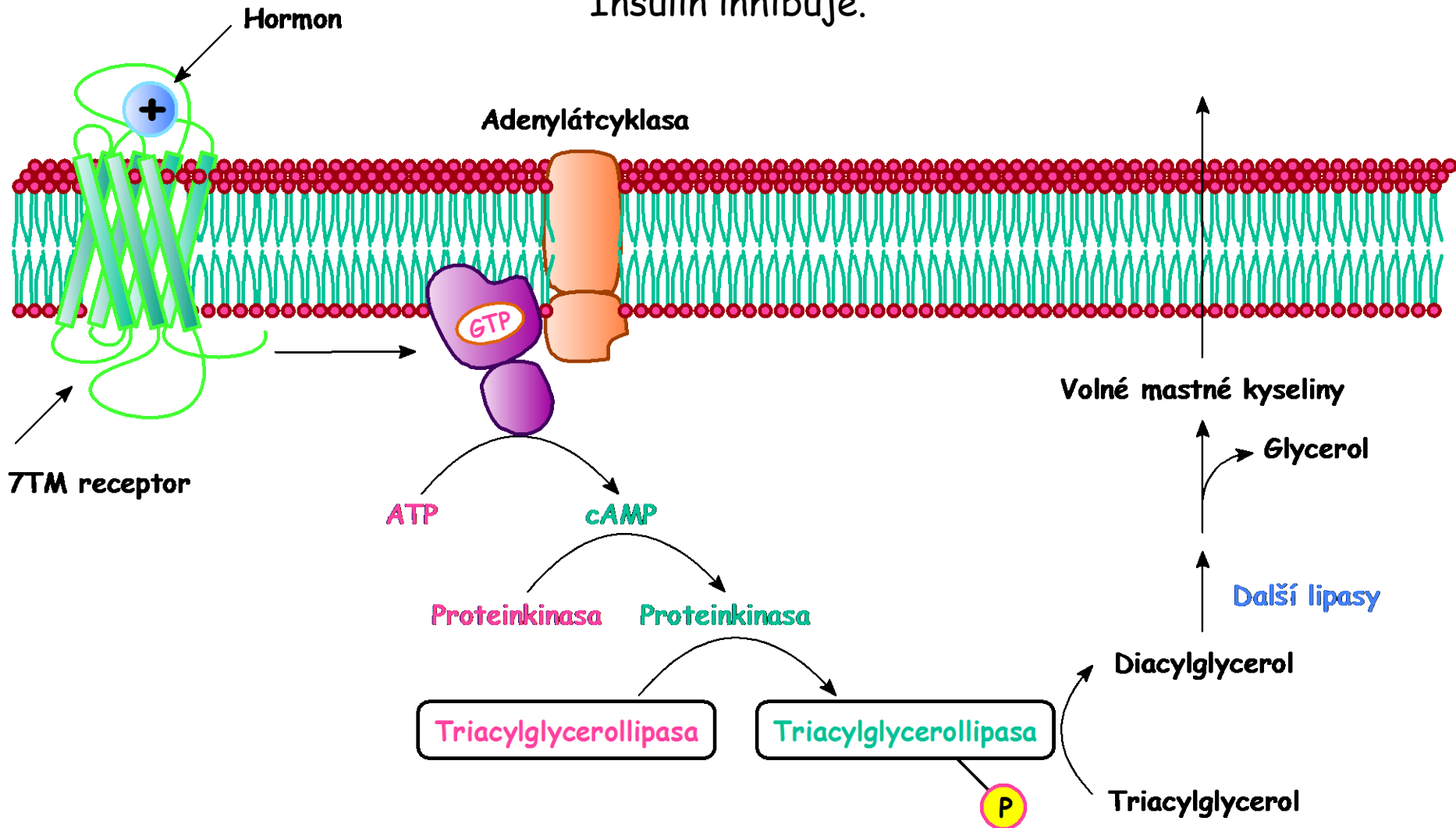


Tvorba chylomikronů:



Hormonální regulace hydrolýzy triacylglycerolů

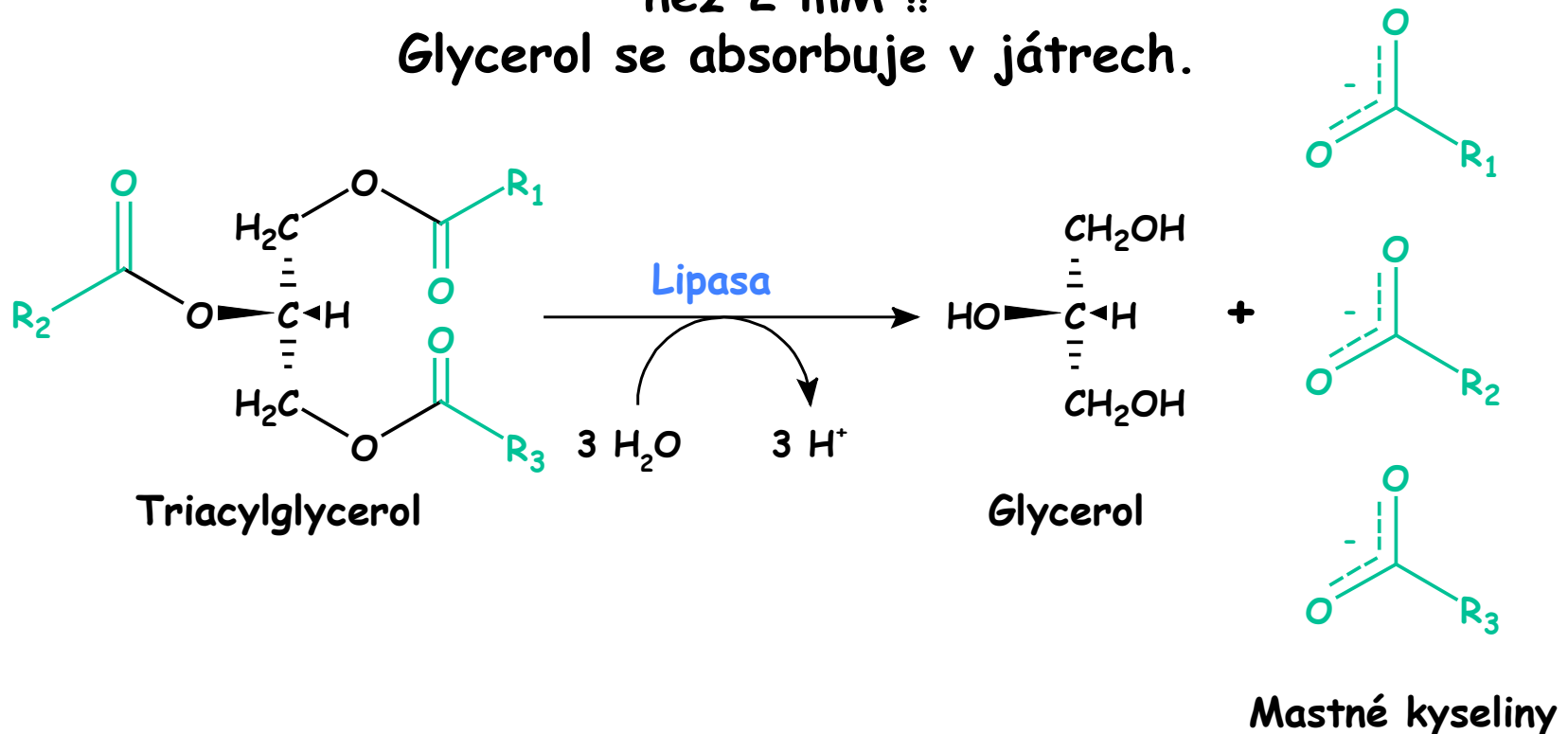
Lipasy adiposních buněk jsou aktivovány adrenalinem, (nor...), glukagonem a ACTH.
Insulin inhibuje.



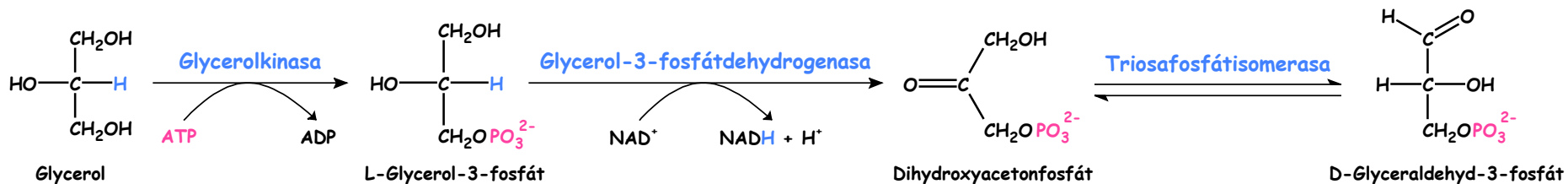
Lipolýzou uvolněné mastné kyseliny se váží na sérový albumin, který slouží jako jejich nosič do tkání.

Albumin je rozpustný protein 66 kD. Rozpustnost samotných mastných kyselin je $\sim 10^{-6}$ M, v komplexu s albuminem je vyšší než 2 mM !!

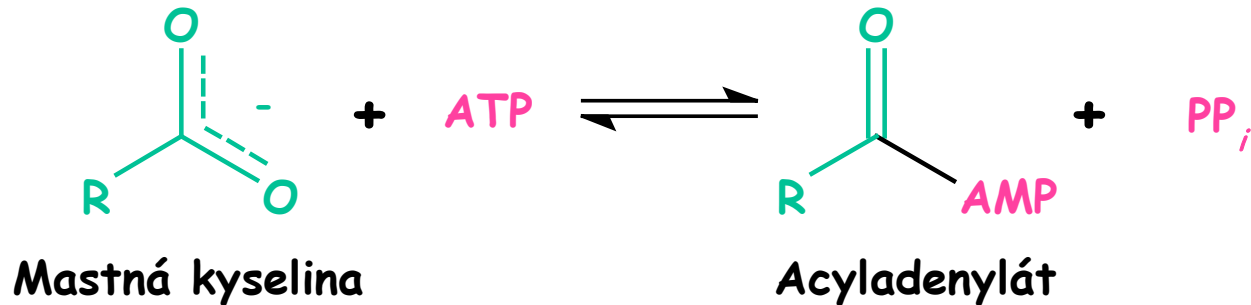
Glycerol se absorbuje v játrech.



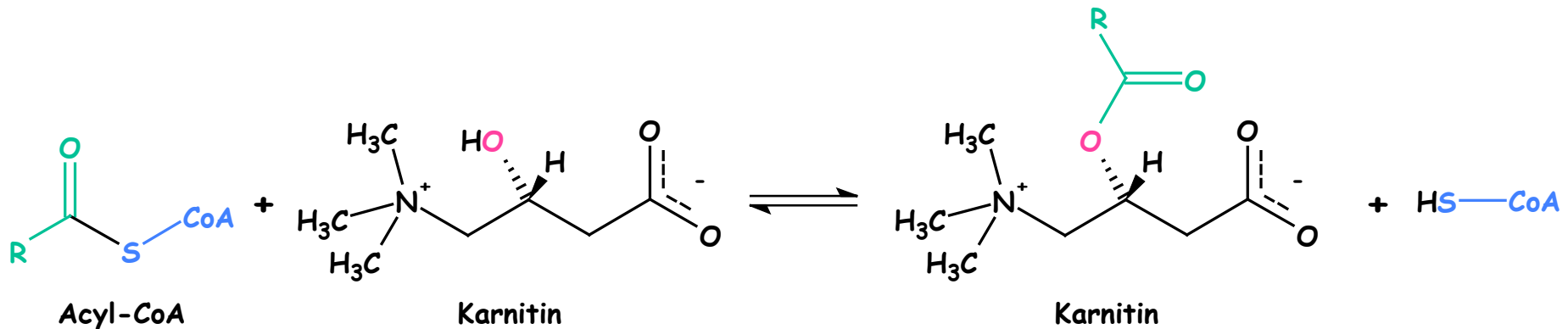
Glycerol se přeměňuje na meziprodukty glykolýzy



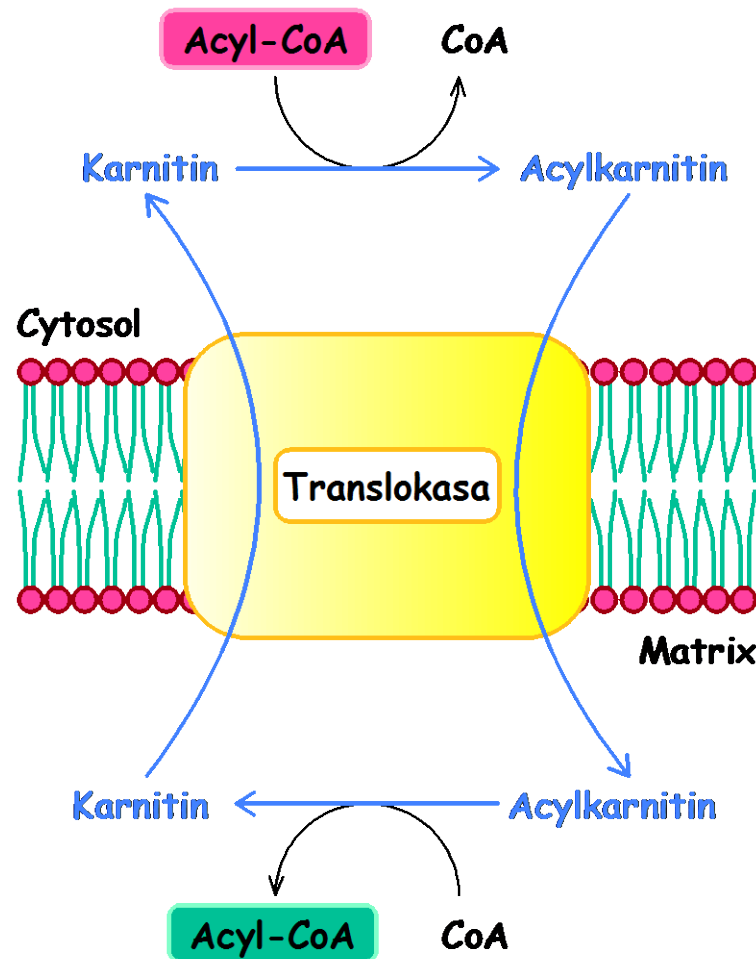
Na vnější membráně mitochondrie jsou mastné kyseliny aktivovány za katalýzy acyl CoA syntetasy (také thiokinasa mastných kyselin):



Tvorba acylkarnitinu - karnitinacyltransferasa I.
Na vnitřní straně mitochondriální membrány se za katalýzy karnitinacyltransferasy II přenáší acyl na CoA SH.



Aktivovaná mastná kyselina je přenášena do matrix vázána na karnitin přes translokasu.
Tvorbu acylkarnitinu katalyzuje karnitinacyltransferasa I.



Klasický experiment F. Knoopa (1904, potvrzeno až v roce 1950) dokazující, že mastné kyseliny se oxidují v β poloze (odd - lichý počet uhlíků, even = sudý).

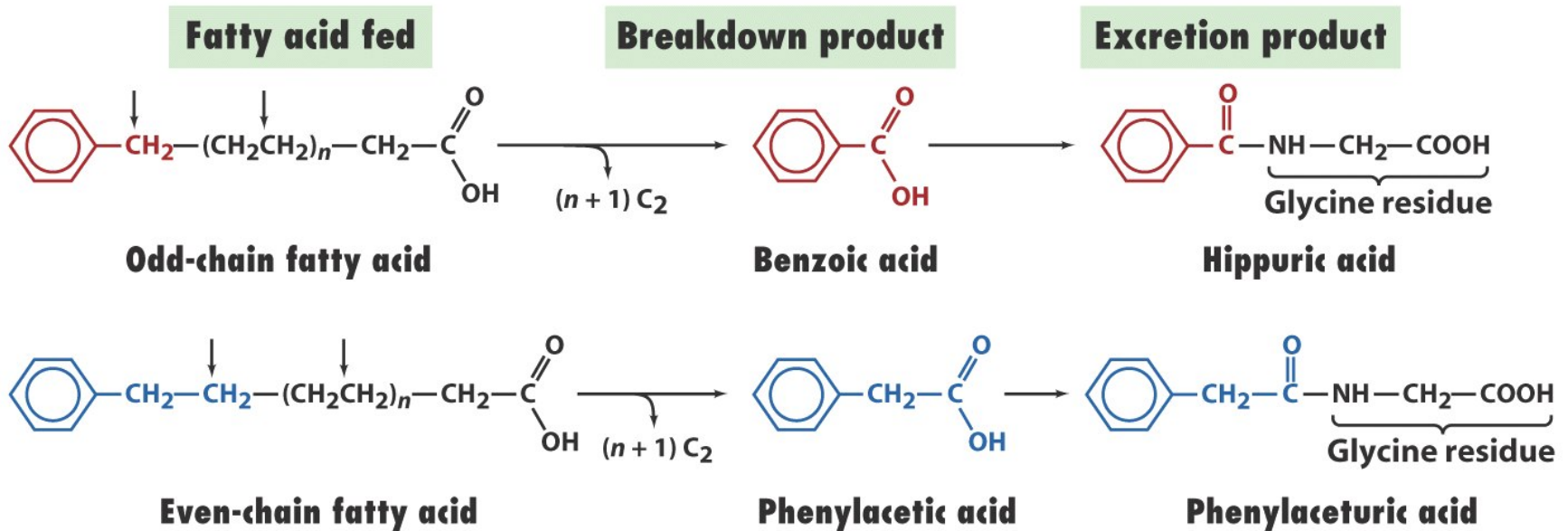
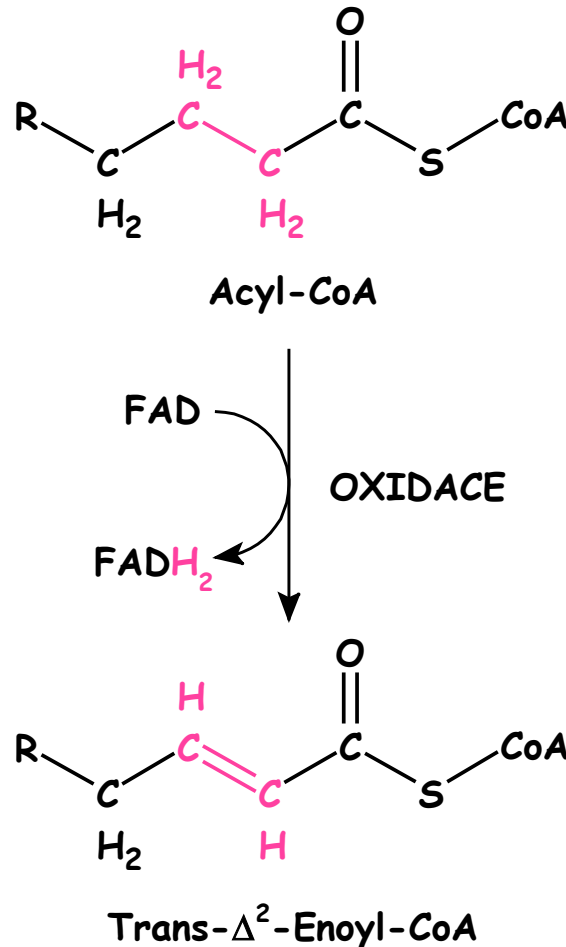


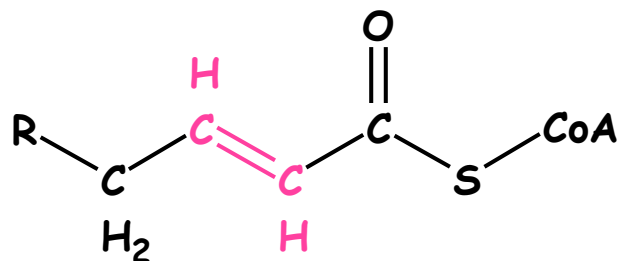
Figure 19-9 Fundamentals of Biochemistry, 2/e
© 2006 John Wiley & Sons

Odbourávání nasycených acyl CoA - β - oxidace.

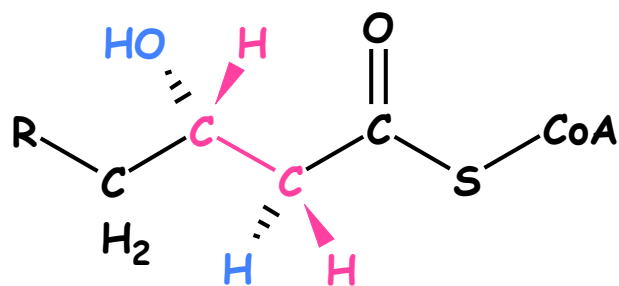
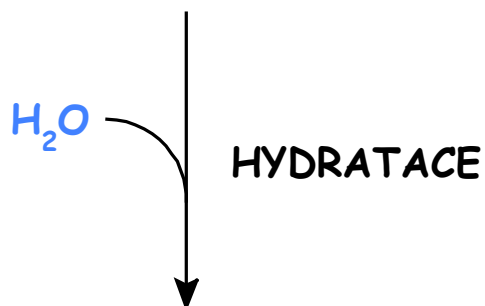
1. Acyl CoA dehydrogenasa (FAD) - tvorba trans- Δ^2 -enoyl CoA.



2. Enoyl CoA hydratasa

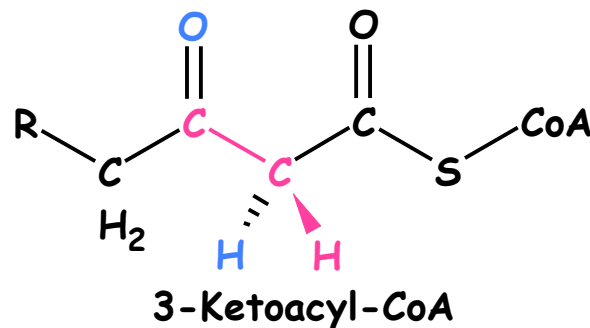


Trans- Δ^2 -Enoyl-CoA

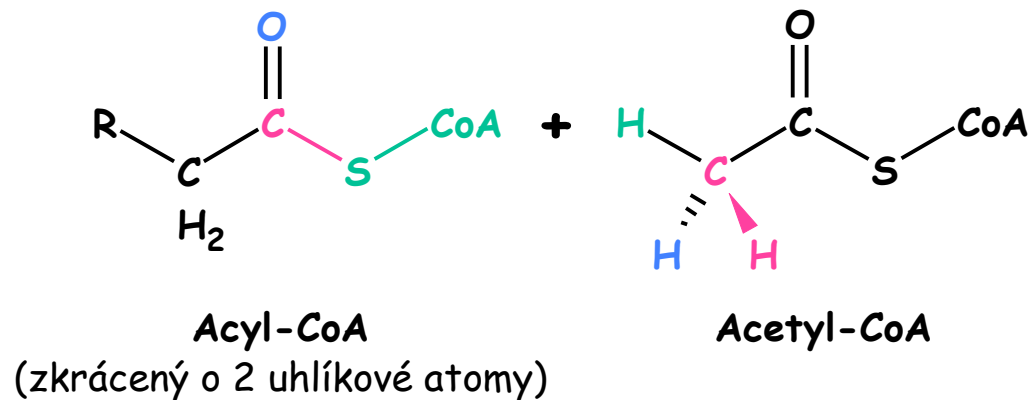


L-3-Hydroxyacyl-CoA

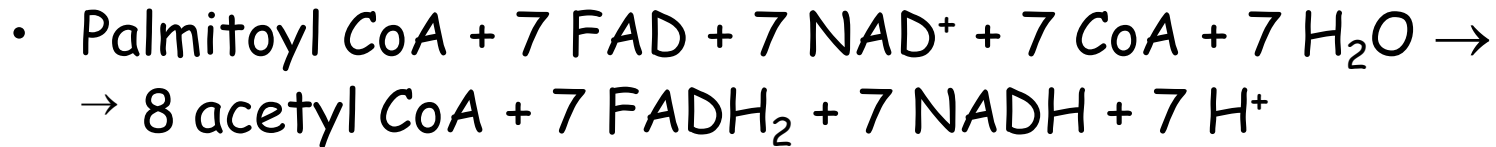
4. β -Ketothiolasa



THIOLÝZA



Výtěžek kompletní oxidace palmitátu:



V dýchacím řetězci se získá z jednoho NADH asi 2,5 ATP
a z jednoho FADH₂ asi 1,5 ATP.

Sečteno:

$$7 \times \text{FADH}_2 = 10,5 \text{ ATP}$$

$$7 \times \text{NADH} = 17,5 \text{ ATP}$$

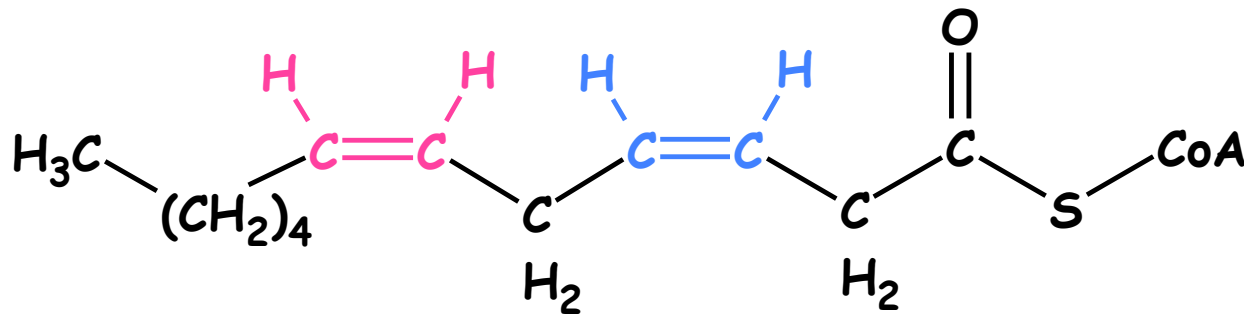
Oxidace 8 acetyl CoA v citrátovém cyklu = 80 ATP

Součet : 108 ATP

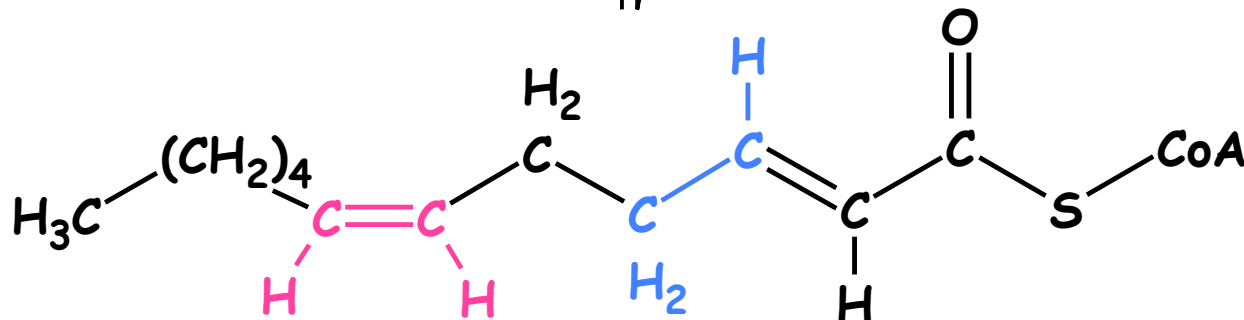
Spotřeba na aktivaci mastné kyseliny: 2 ATP

Konečný součet : 106 ATP

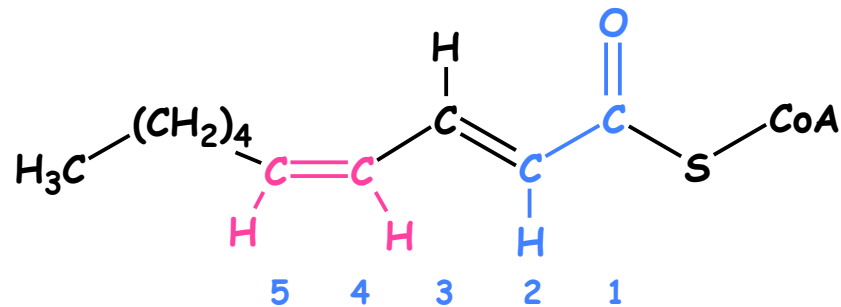
Odbourávání nenasycených mastných kyselin. *Cis* izomer je převeden na *trans* isomerasou.



Cis- Δ^3 -Enoyl-CoA-isomerasa



Další dvojná vazba mezi uhlíky 4 a 5 je odstraněna redukcí:

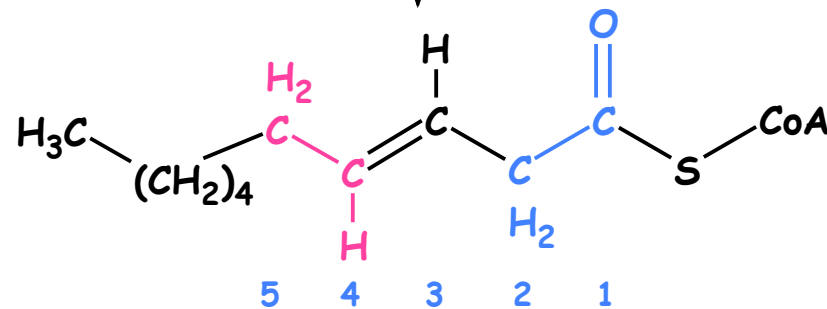


2,4-Dienoyl-CoA

$H^+ + NADPH$

2,4-Dienoyl-CoA-reduktasa

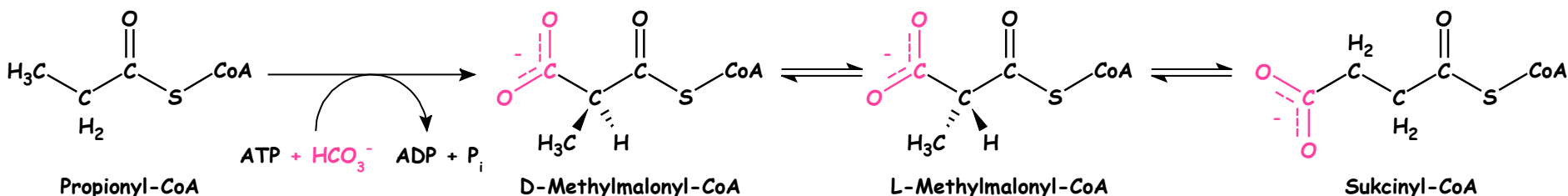
$NADP^+$



Trans- Δ^3 -Enoyl-CoA

Odbourávání mastných kyselin s lichým počtem uhlíků vede k sukcinyl CoA.

Převodění L-methylmalonyl CoA na sukcinyl CoA probíhá za účasti enzymu methylmalonyl CoA mutasy jehož koenzymem je derivát vitamínu B₁₂ - kobalamin.



Struktura 5'-deoxyadenosinkobalaminu.

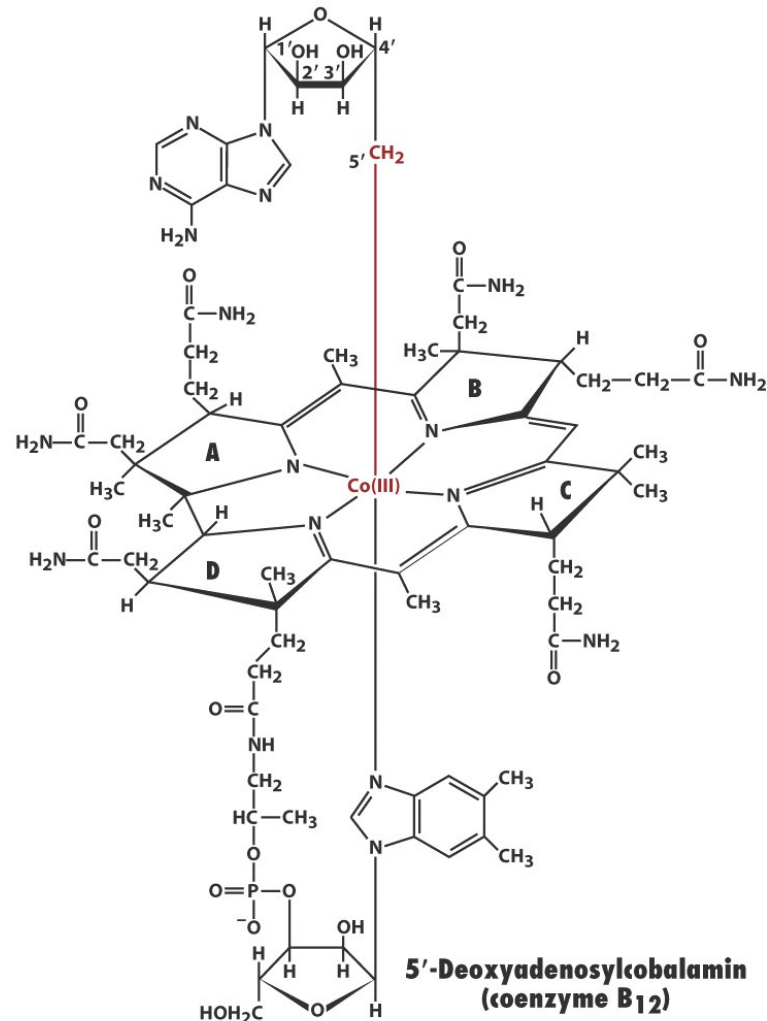


Figure 19-17 Fundamentals of Biochemistry, 2/e
© 2006 John Wiley & Sons

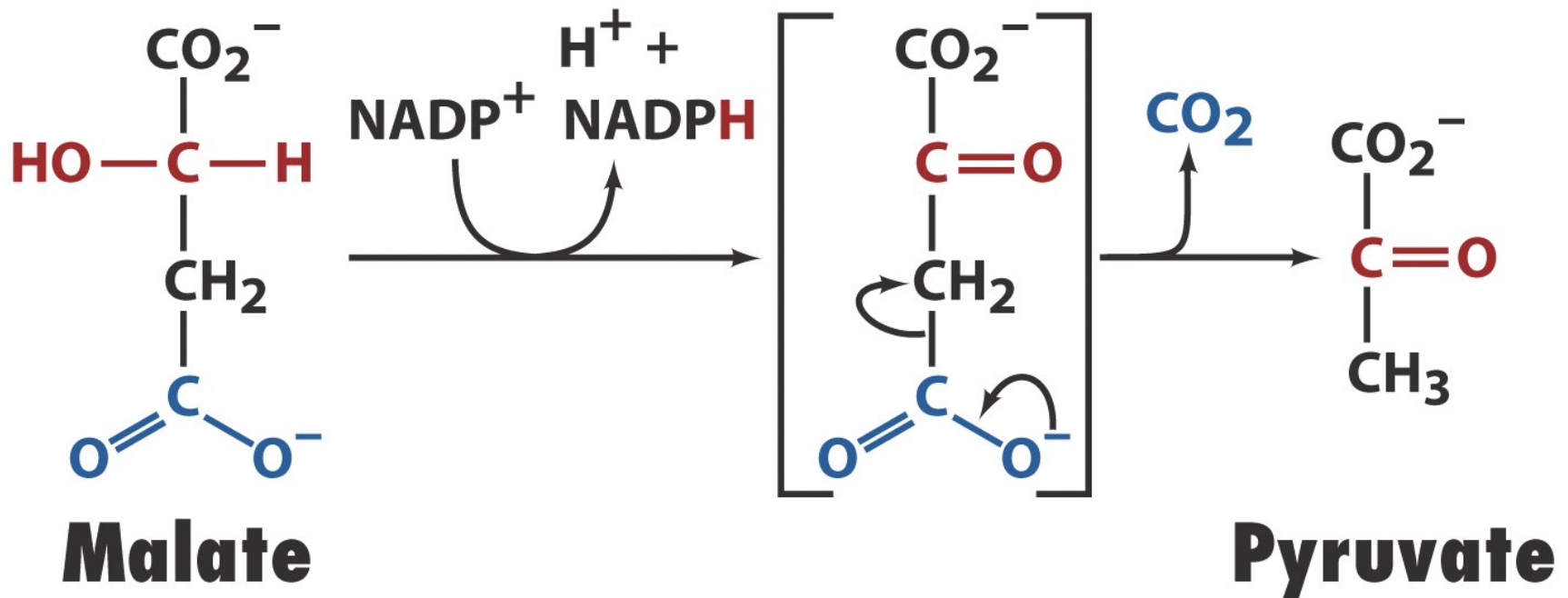
Nedostatek vitamínu B₁₂

- Vit. B₁₂ byl zmíněn v roce 1926 v souvislosti s onemocněním **perniciózní anemie**.
- Snížená hladina erythrocytů, nízká hladina Hb a progresivní nervové onemocnění .
- Léčila se požíváním syrových jater.
- Vit. B₁₂ byl izolován a popsán v roce 1948. D.C. Hodgkin, Nobelova cena za chemii 1935 za rengenostрукturní analýzu biologických molekul. (Třetí žena v pořadí NC za chemii).
- B₁₂ není syntetizován rostlinami ani živočichy - jen některými střevními bakteriemi.
- Lidé dostávají dostatek vitamínu z masa. V zachycení vitamínu hraje roli tzv. **intrinsic faktor** produkovaný žaludkem.
Vegetariáni !!!
- Normální denní potřeba vit. B₁₂ je ~ 3 μg. Játra skladují 3 až 5 letou potřebu vitamínu.

Další osud sukcinyl-CoA

- **Meziprodukty C_4 jsou katalyzátory CC a ne substráty.**
- Pokud se má sukcinyl-CoA odbourat v CC musí být převeden na pyruvát a posléze na acetyl-CoA.
- Reakce startuje převedením sukcinyl-CoA na malát (reakce citrátového cyklu).
- Poté následuje transport do cytoplasmy a oxidativní dekarboxylace na pyruvát a CO_2 jablečným enzymem (**malic enzyme**).
- **Malic enzym** je také součástí cyklu C_4 rostlin při fotosyntéze.
- Pyruvát je poté pyruvátdehydrogenasovým komplexem převeden na acetyl-CoA, který vstoupí do CC.

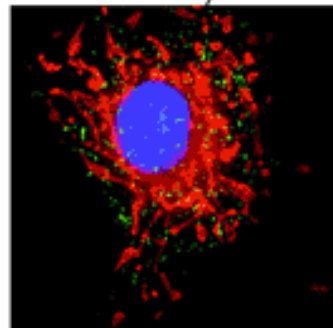
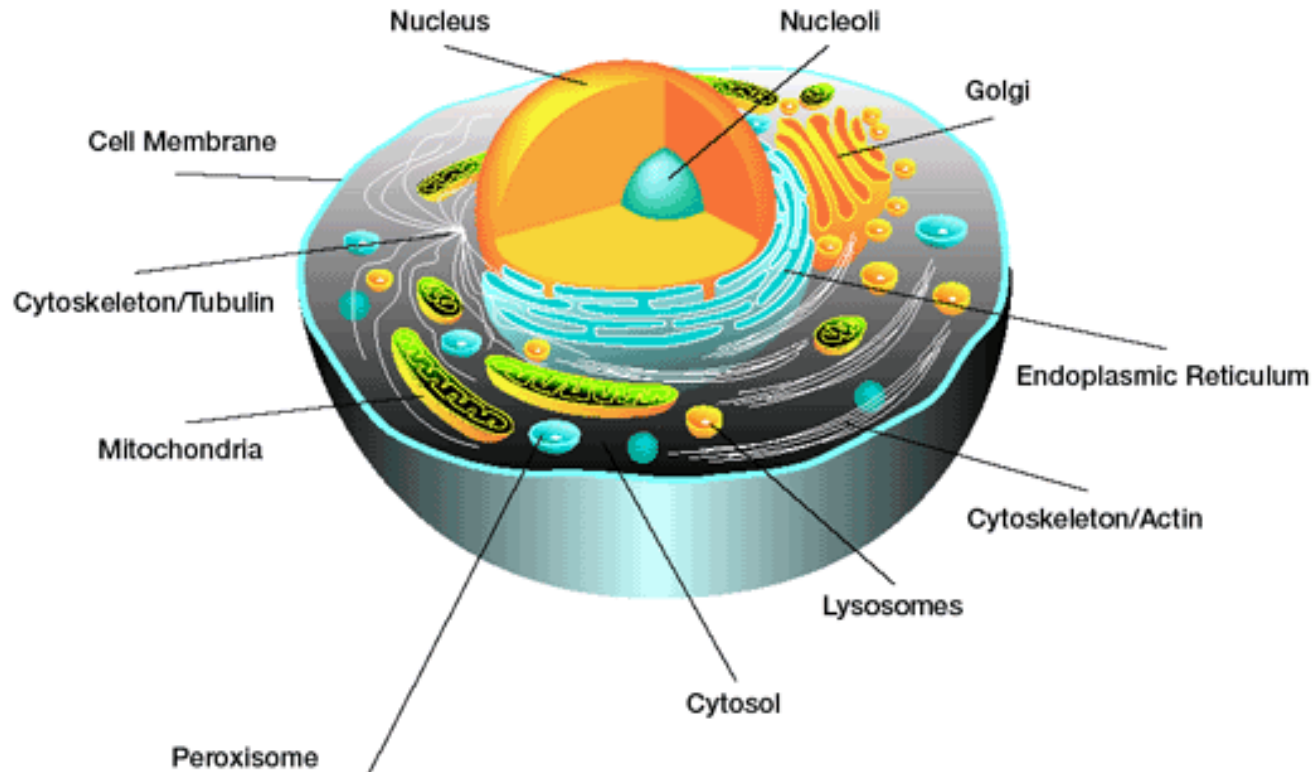
Převedení malátu na pyruvát jablečným enzymem v cytoplasmě .



Odbourávání mastných kyselin na peroxisomech

- Peroxisomy obsahují velké množství enzymu katalasy, který katalyzuje dismutaci peroxidu vodíku na vodu a kyslík !!!
- Na peroxisomech živočichů se mastné kyseliny jen zkracují na délku oktanoyl CoA, který je poté snadněji odbouráván v matrix mitochondrií β -oxidací.
- Jediným místem odbourávání mastných kyselin u rostlin a kvasinek jsou peroxisomy.

Základní struktura peroxisomu.

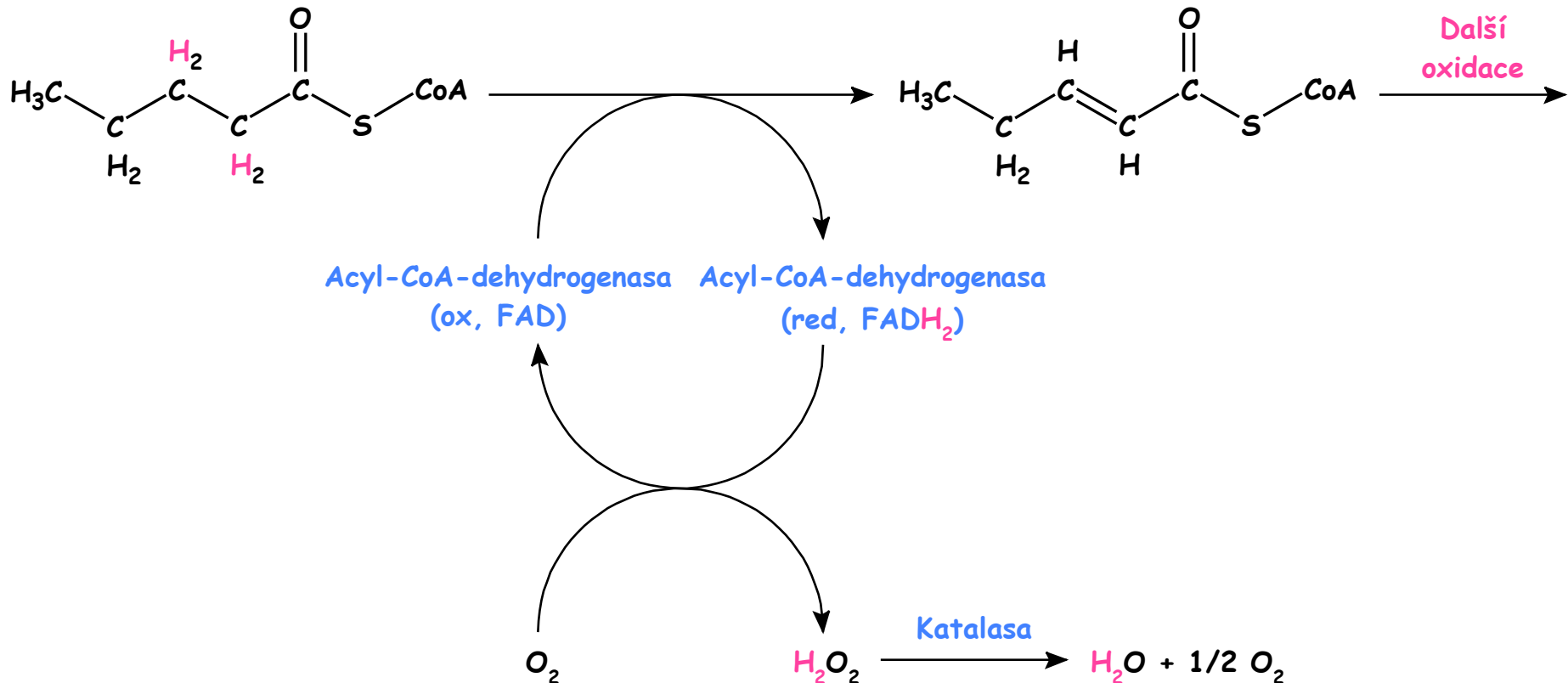


Peroxisomes — Human cells contain several hundred peroxisomes, depicted in this photo as green spheres.
Photo courtesy of Molecular Probes.

Funkce peroxisomů

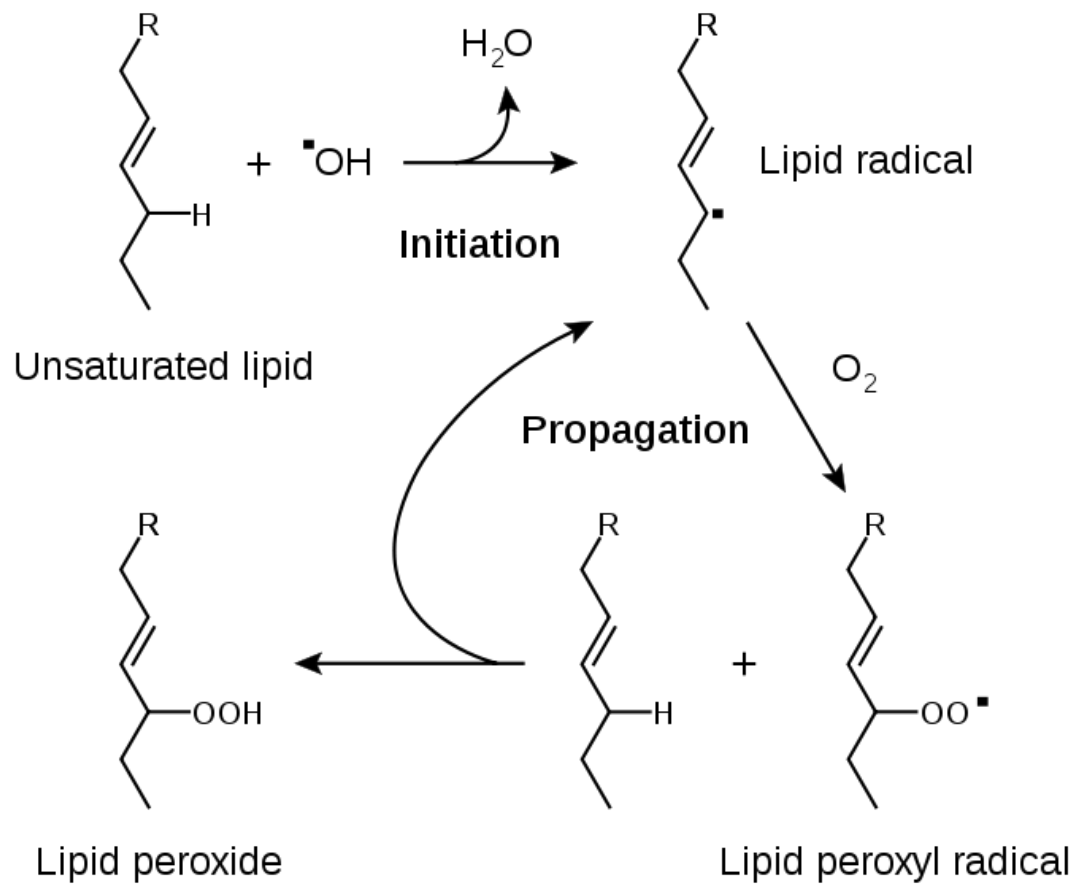
- V případě, že se nahromadí nadbytek peroxidu vodíku v buňce, převádí ho katalasa na vodu a kyslík podle rovnice:
- $2 \text{H}_2\text{O}_2 = 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$.
- **Hlavní funkcí peroxisomů je štěpení mastných kyselin v procesu zvaném beta-oxidace.**
- Vzniklý acetyl CoA je transportován zpět do cytoplasmy pro další využití.
- V živočišných buňkách probíhá beta oxidace hlavně v mitochondriích. V kvasinkách a rostlinných buňkách probíhá beta oxidace jen v peroxisomech.
- V rostlinných peroxisomech probíhá fotorespirace. V podobných organelách rostlinných buněk (glyoxysomech) je lokalizován glyoxylátový cyklus.

První stupeň peroxisomální oxidace mastných kyselin katalyzuje flavoproteinová dehydrogenasa, která přenáší elektrony na kyslík za tvorby peroxidu vodíku (Rozdíl od β -oxidace). **Oxidace se zastavuje na řetězci C_8 - thiolasa nekatalyzuje kratší řetězce - pasívní transport do mitochondrie**

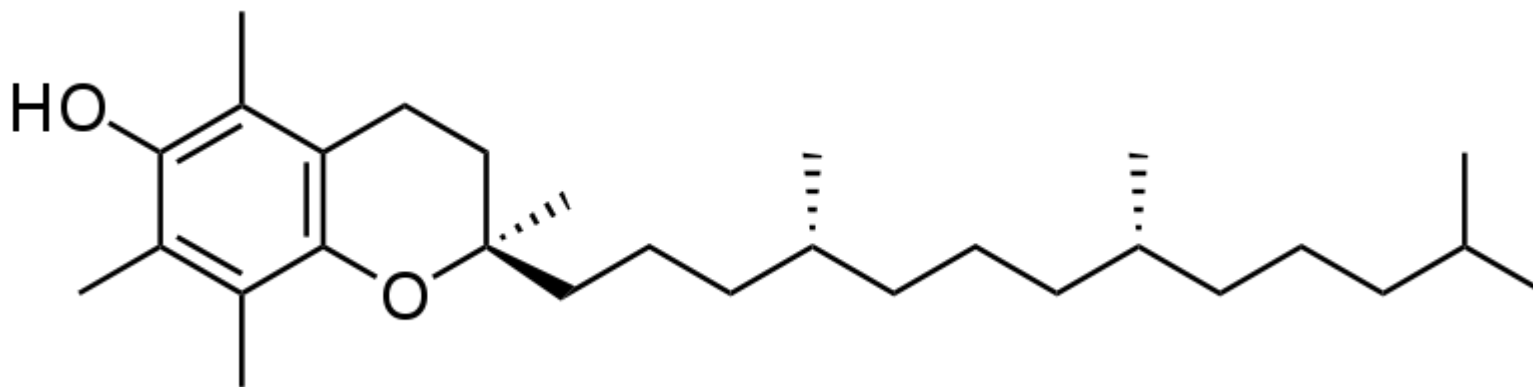


- Peroxisomy obsahují oxidační enzymy jako jsou katalasa, oxidasa D-aminokyselin a oxidasa močové kyseliny.
- Většina enzymů využívá molekulární kyslík za účelem odstranění vodíkových atomů ze specifických organických substrátů (označeny jak R) v oxidační reakci produkující peroxid vodíku (který je také toxický).
- $RH_2 + O_2 = R + H_2O_2$
- Katalasa je dalším enzymem v peroxisomech využívající peroxid vodíku k oxidaci dalších substrátů jako jsou fenoly, mravenčí kyselina, formaldehyd a alkoholy..
- $2 H_2O_2 \rightarrow 2 H_2O + O_2$ - může za minutu přeměnit 5 milionů molekul H_2O_2 . (Obsahuje hem - prostetická skupina). Homotetramer - monomer 500 aminokyselin.
- Peroxidační reakce:
- $H_2O_2 + RH = R-OH + H_2O$
- Takto dochází k eliminaci toxického peroxidu vodíku.
- Reakce jsou důležité v jaterních a ledvinových buňkách, kde peroxisomy detoxifikují různé toxické substráty, které se dostaly do krve.
- Asi 25% ethanolu, který vypijeme je oxidováno na ethanal (acetaldehyd) tímto způsobem.

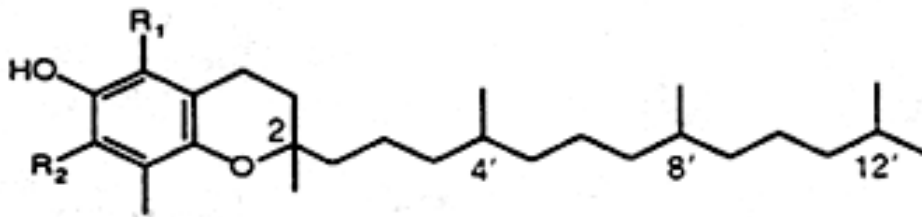
Peroxidace lipidů !! (Iniciace ROS)



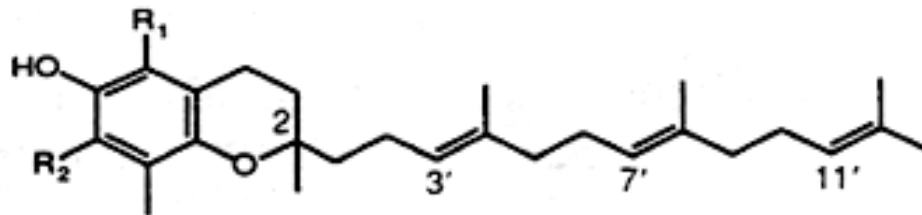
Antioxidanty. Vitamin E α (tokoferoly α až δ , tokotrienoly); další antioxidanty askorbát, retinol, ubiquinol.



Tokoferoly a tokotrienoly. Základem je 6-hydroxychroman + fytol.



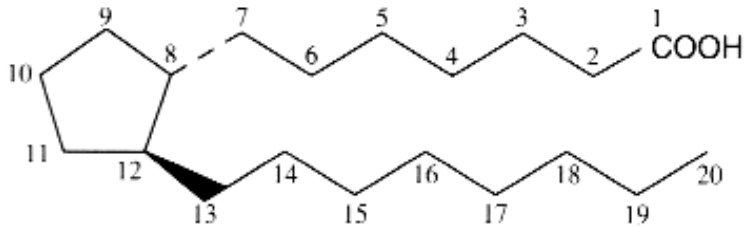
R ¹	R ²	
CH ₃	CH ₃	α-Tocopherol
CH ₃	H	β-Tocopherol
H	CH ₃	γ-Tocopherol
H	H	δ-Tocopherol



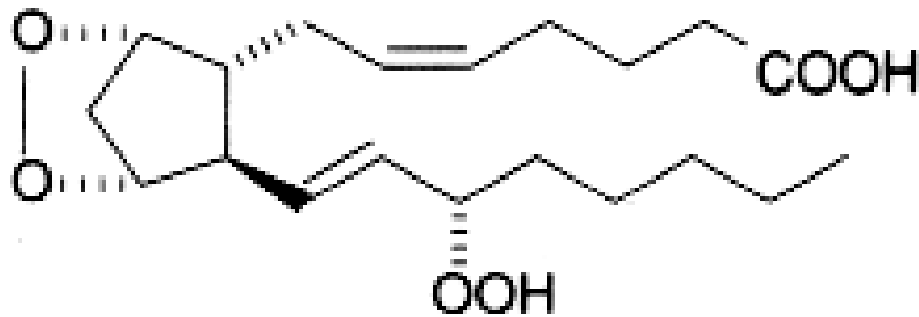
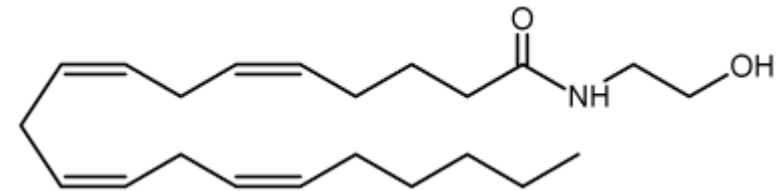
R ¹	R ²	
CH ₃	CH ₃	α-Tocotrienol
CH ₃	H	β-Tocotrienol
H	CH ₃	γ-Tocotrienol
H	H	δ-Tocotrienol

Enzymová lipoperoxidace-lipoxygenasa a cyklooxygenasa (arachidonová kyselina)

Eikosanoidy - prostaglandiny, anandamid-endogenní opiát
(ananda ze sanskrtu blaženost)

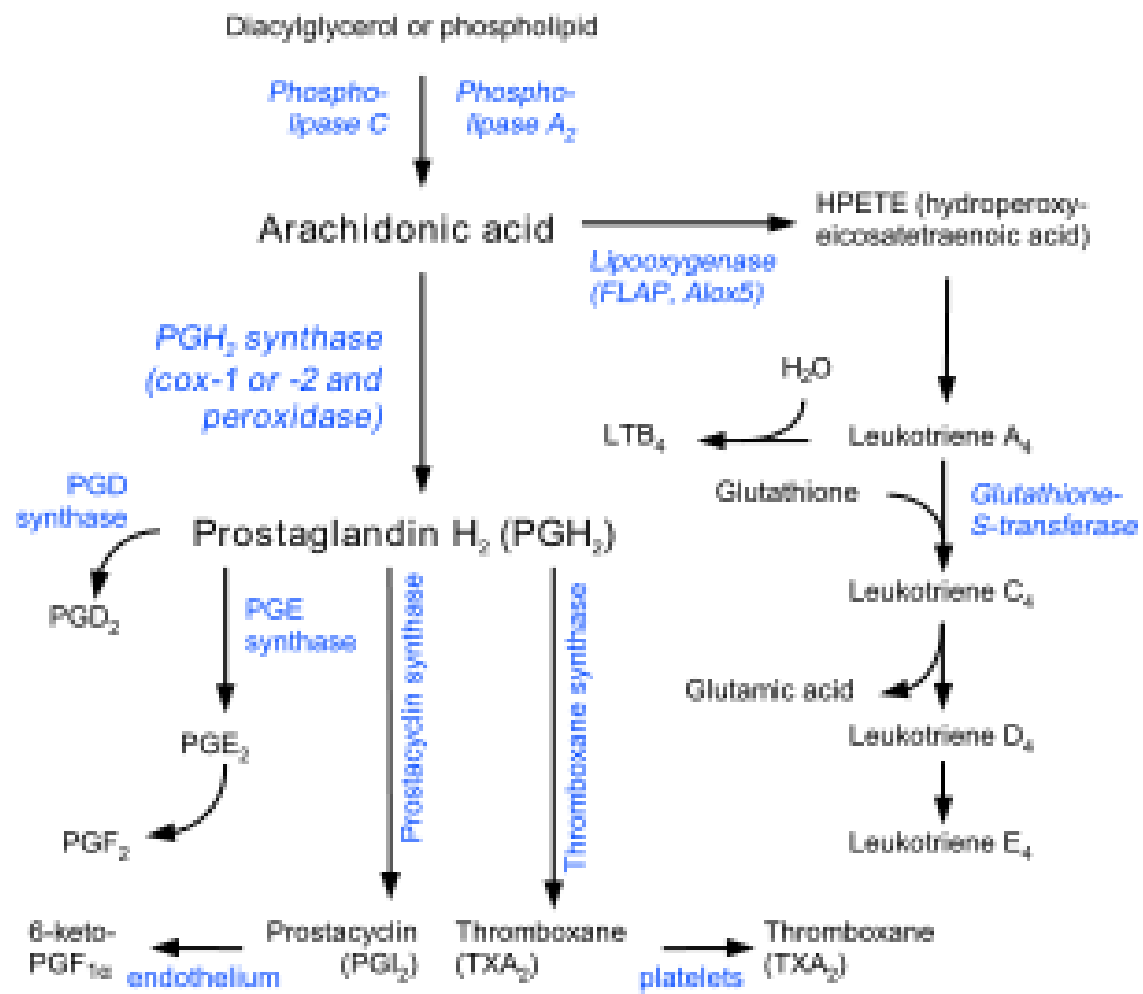


Proanoic Acid



Prostaglandin G₂

Schéma syntézy eikosanoidů.



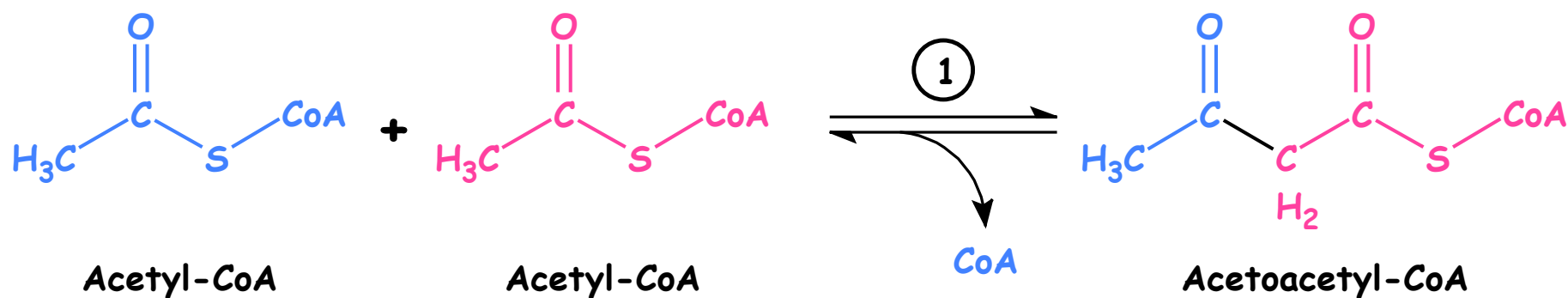
Tvorba a funkce ketolátek

- Vstup acetyl CoA do citrátového cyklu závisí na dostupnosti oxaloacetátu. Při nedostatku sacharidů se hladina oxaloacetátu snižuje a tím zpomaluje citrátový cyklus. Oxaloacetát se získává karboxylací pyruvátu.
- Známá biochemický bonmot: TUKY HOŘÍ V OHNI SACHARIDŮ.
- Při hladovění nebo diabetu je oxaloacetát spotřebováván na tvorbu glukosy.
- Za situace nadbytku mastných kyselin a acetyl CoA se dva acetyl CoA kondenzují za tvorby acetoacetyl CoA. Ten reaguje s dalším acetyl CoA za tvorby 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA (HMG - CoA) a CoA. HMG-CoA se posléze štěpí na acetyl CoA a **acetoacetát**. **Dalšími ketolátkami jsou redukční produkt D-3-hydroxybutyrát a odpadní látka aceton.**
- Hlavním místem tvorby ketolátek jsou jaterní mitochondrie.

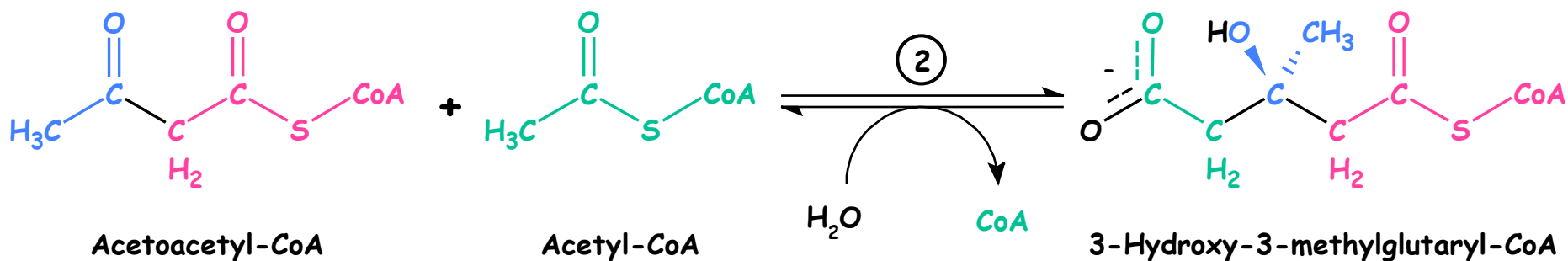
Role acetoacetátu

- Srdeční sval a kůra ledvin preferují za hladovění acetoacetát před glukosou.
- Taktéž mozek se za hladovění adaptuje na acetoacetát. Při dlouhodobém hladovění je až 75 % energie mozku z acetoacetátu !!!
- Acetoacetát má regulační roli. Vysoká hladina acetoacetátu v krvi je signálem přítomnosti vysokého množství acetyl CoA což vede k poklesu lipolýzy v adiposních tkáních.
- Ketolátky jsou ve vodě rozpustnou transportní formou acetylů.

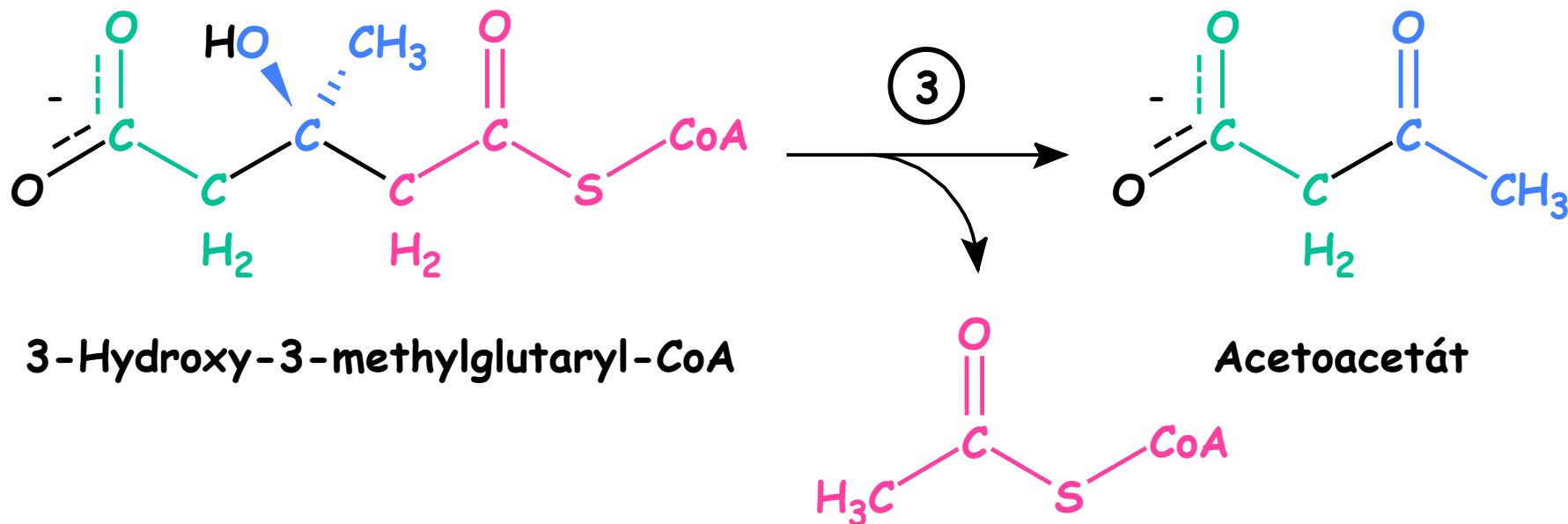
3-Ketothiolasa - tvorba acetoacetyl CoA:



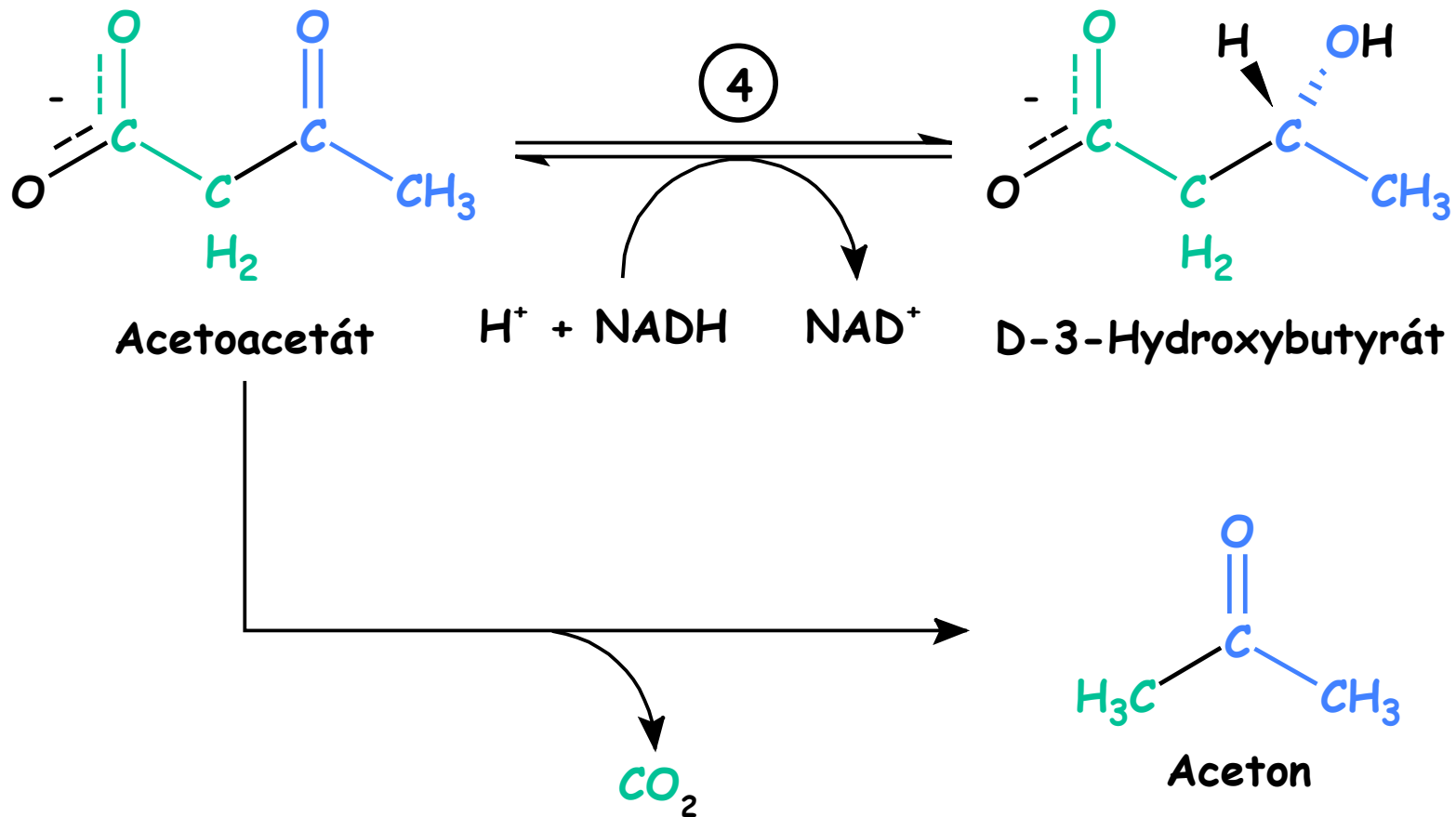
Hydroxymethylglutaryl CoA synthasa:



Hydroxymethylglutaryl-CoA štěpící enzym:

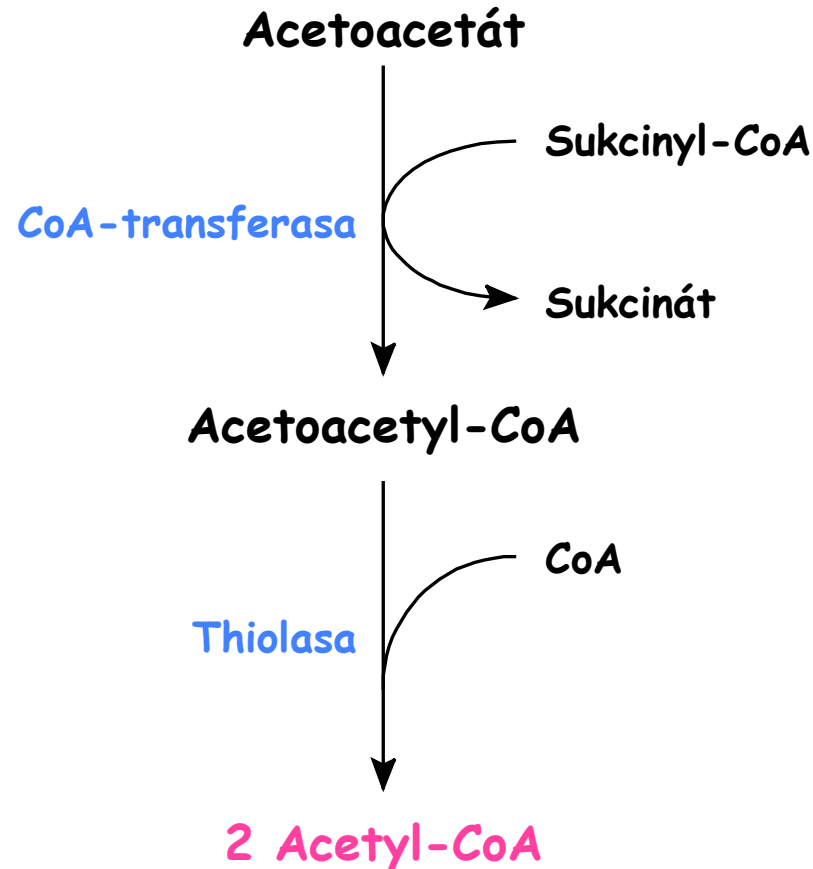


**D-3-Hydroxybutyrátdehydrogenasa.
Acetoacetát spontánně dekarboxyluje na aceton.**



Acetoacetát je aktivován **přenosem CoA ze sukcinyl CoA (transferasa)** a posléze štěpen specifickou thiolasou na dva acetyl CoA.

V játrech transferasa není !



Živočichové nedokáží převést mastné kyseliny na glukosu !!!

- Proč ?
- Acetyl-CoA nemůže být převeden na pyruvát nebo oxaloacetát, neboť vstupuje do citrátového cyklu a oba uhlíky se v jeho průběhu odštěpí jako CO_2 .
- Rostliny a některé mikroorganismy mají další dva enzymy v tzv. **glyoxylátovém cyklu** a jsou schopné převést acetyl CoA na oxaloacetát.

Rozdíly mezi odbouráváním a syntézou mastných kyselin.

- 1. **Syntéza mastných kyselin probíhá v cytoplasmě**, odbourávání v matrix mitochondrií. Acetyl CoA vstupuje do cytoplasmy ve formě citrátu.
- 2. Meziprodukty syntézy mastných kyselin jsou kovalentně vázány na sulfhydrylové skupiny ACP (acyl carrier protein), kdežto meziprodukty degradace jsou vázány na SH skupinu CoA.
- 3. Enzymy syntézy mastných kyselin vyšších organismů jsou spojeny do polypeptidového řetězce zvaného **synthasa mastných kyselin**. Enzymy degradace jsou v matrix volně.
- 4. Řetězec mastných kyselin se prodlužuje o dva uhlíky z acetyl CoA. **Aktivovaným donorem dvou uhlíků je malonyl CoA a prodlužování řetězce je poháněno odštěpováním CO₂.**
- 5. Redukčním činidlem při syntéze je NADPH, oxidačními činidly při degradaci jsou FAD a NAD⁺.
- 6. Prodlužování řetězce na synthase mastných kyselin končí tvorbou palmitátu (C₁₆). Další prodlužování řetězce a tvorba nenasycených kyselin probíhá na jiných enzymech.

Srovnání syntézy a odbourávání mastných kyselin.

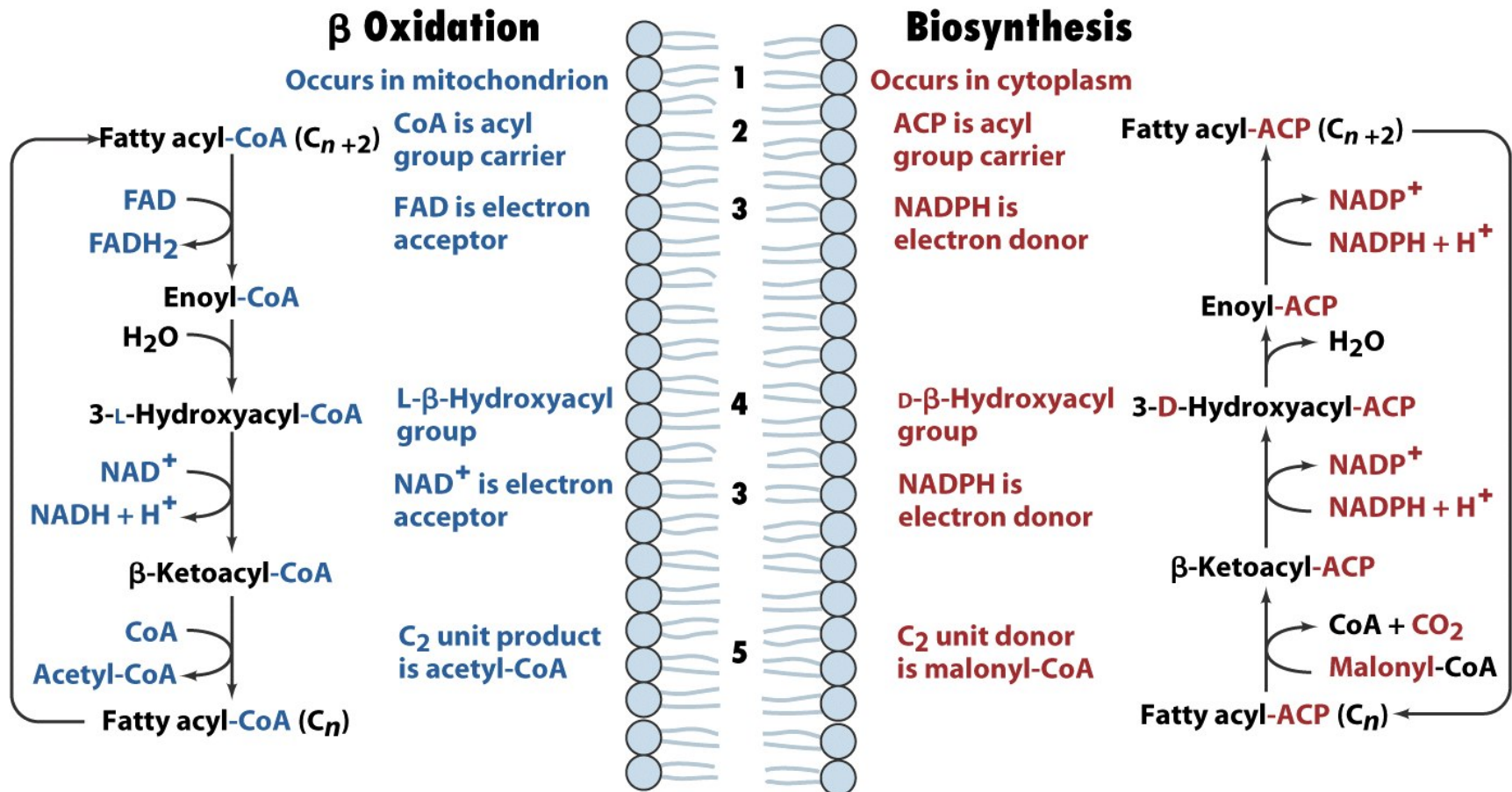


Figure 19-23 Fundamentals of Biochemistry, 2/e
© 2006 John Wiley & Sons

Trikarboxylátový transportní systém. Vstup acetyl-CoA do cytoplasmy.

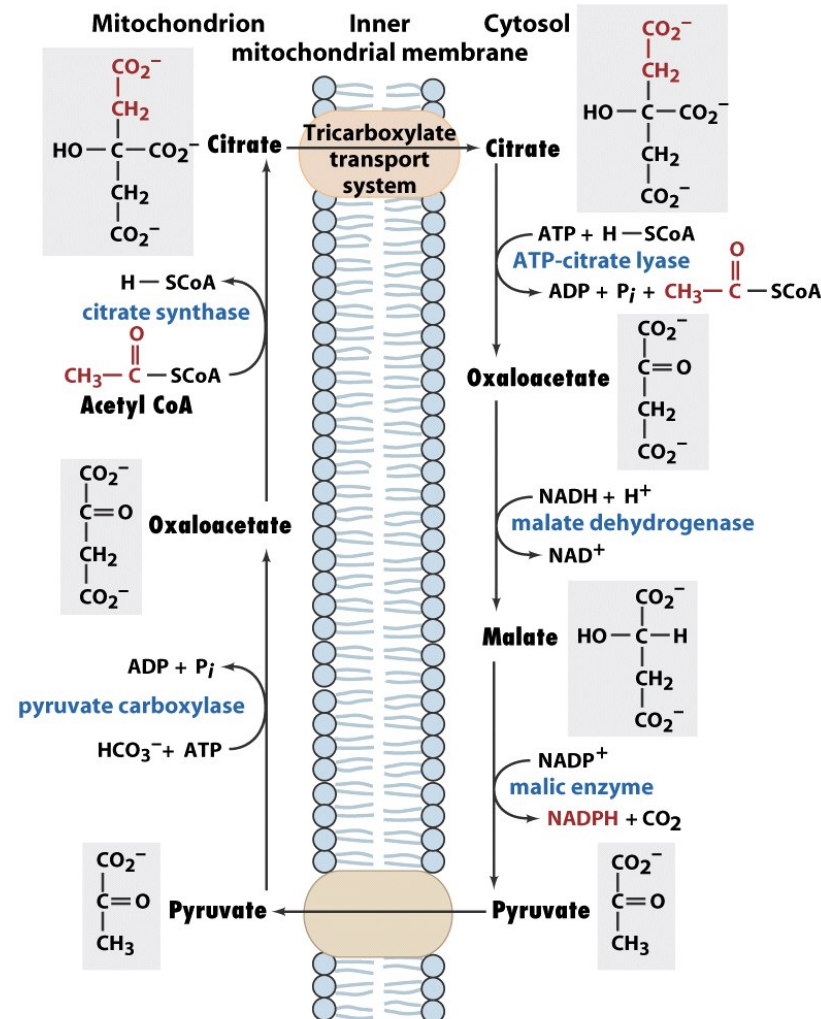
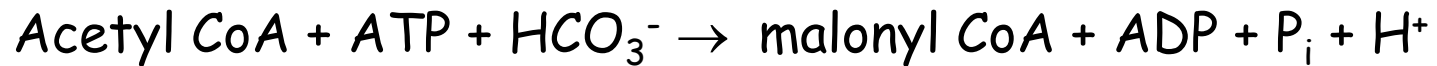
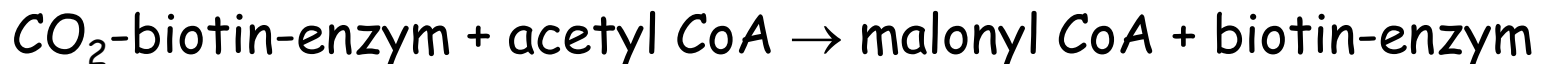
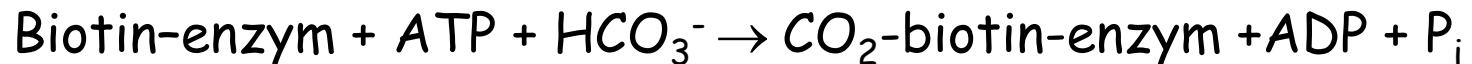


Figure 19-24 Fundamentals of Biochemistry, 2/e
© 2006 John Wiley & Sons

Klíčovým krokem syntézy mastných kyselin je tvorba malonyl CoA.

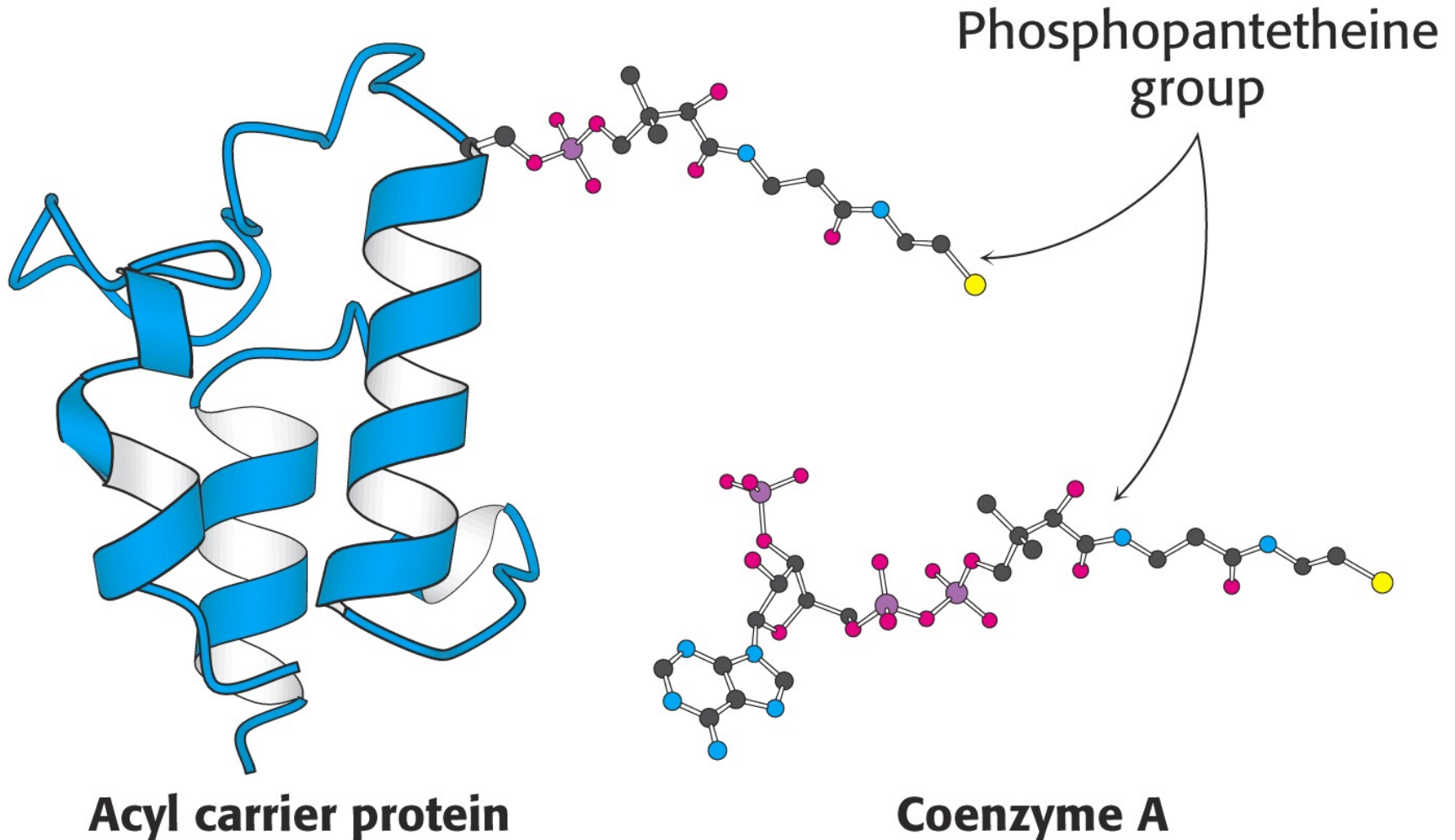


- Katalyzuje acetyl CoA karboxylasa (obsahuje biotin).
- Reakce probíhá ve dvou stupních:



- Acetyl CoA karboxylasa je regulačním enzymem metabolismu mastných kyselin.

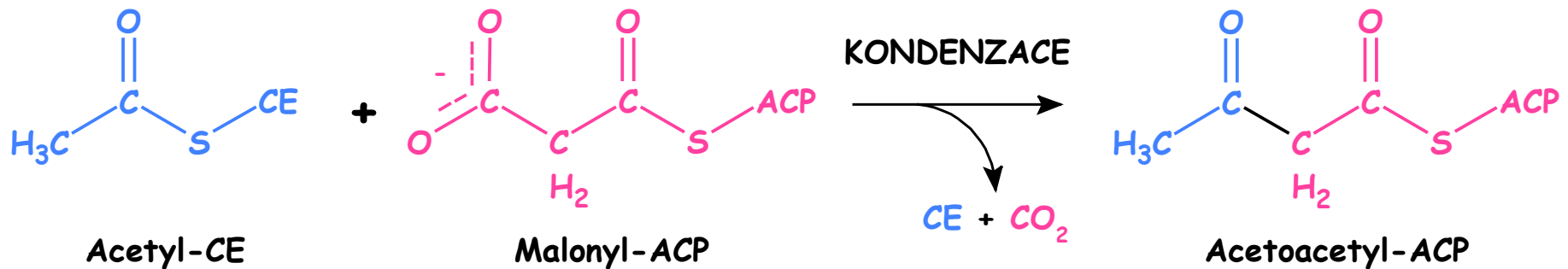
ACP - fosfopanteteinové raménko, na kterém jsou vázány meziprodukty syntézy mastných kyselin.



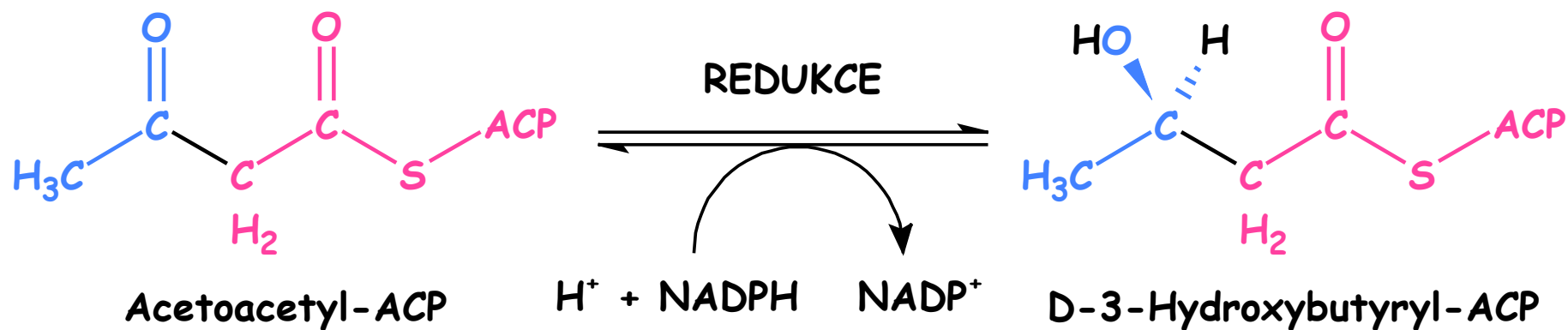
Jednotlivé kroky syntézy mastných kyselin.

- 1. Syntéza malonyl CoA: acetyl CoA karboxylasa
- 2. Navázání acetyl CoA na ACP-CE: acetyltransacylasa
- 3. Navázání malonyl CoA na ACP: malonyltransacylasa
- 4. Kondenzační reakce: acylmalonyl ACP kondenzační enzym
$$\text{Acetyl ACP} + \text{malonyl ACP} \rightarrow \text{acetoacetyl ACP} + (\text{ACP-CE}) + \text{CO}_2$$
- 5. První redukce: β -ketoacyl ACP reduktasa
$$\text{Acetoacetyl ACP} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{D-3-hydroxybutyryl ACP} + \text{NADP}^+$$
- 6. Dehydratace: 3-hydroxyacyldehydratasa
$$\text{D-3-Hydroxybutyryl ACP} \rightarrow \text{krotonyl ACP} + \text{H}_2\text{O}$$
- 7. Druhá redukce: enoyl ACP reduktasa
$$\text{Krotonyl ACP} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{butyryl ACP} + \text{NADP}^+$$

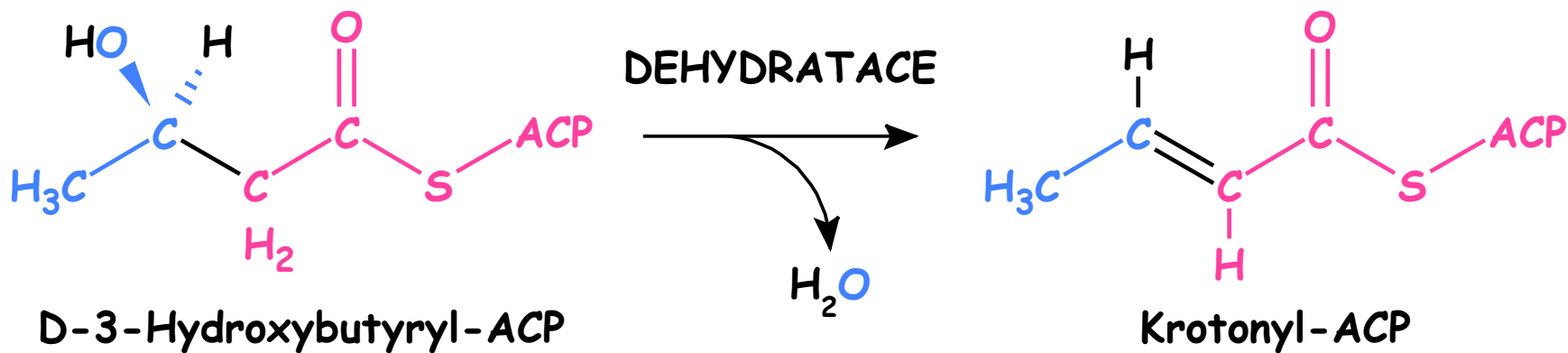
Elongace řetězce je zahájena spojením acetylu na kondenzačním enzymu(CE), který je součástí synthasy mastných kyselin, s malonylem na ACP.



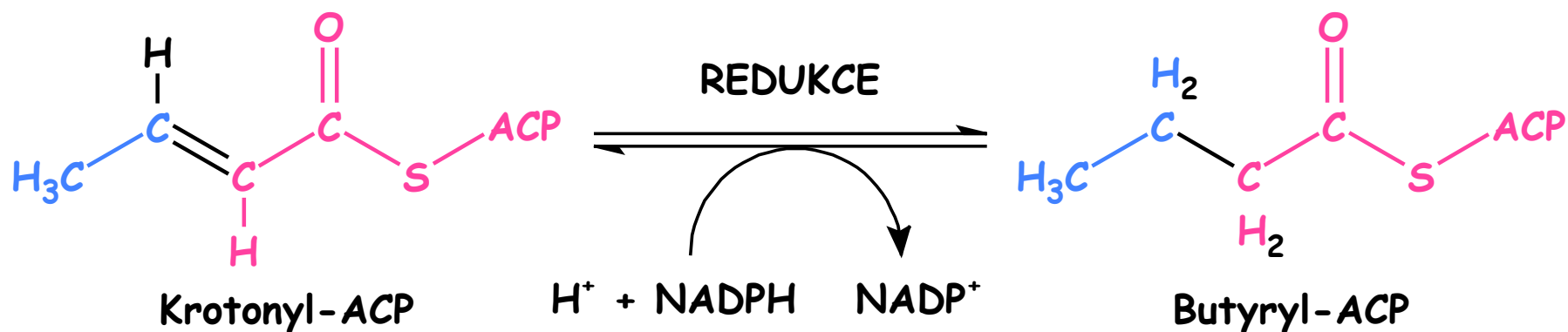
První redukce



Dehydratace



Druhá redukce



Pokračování syntézy

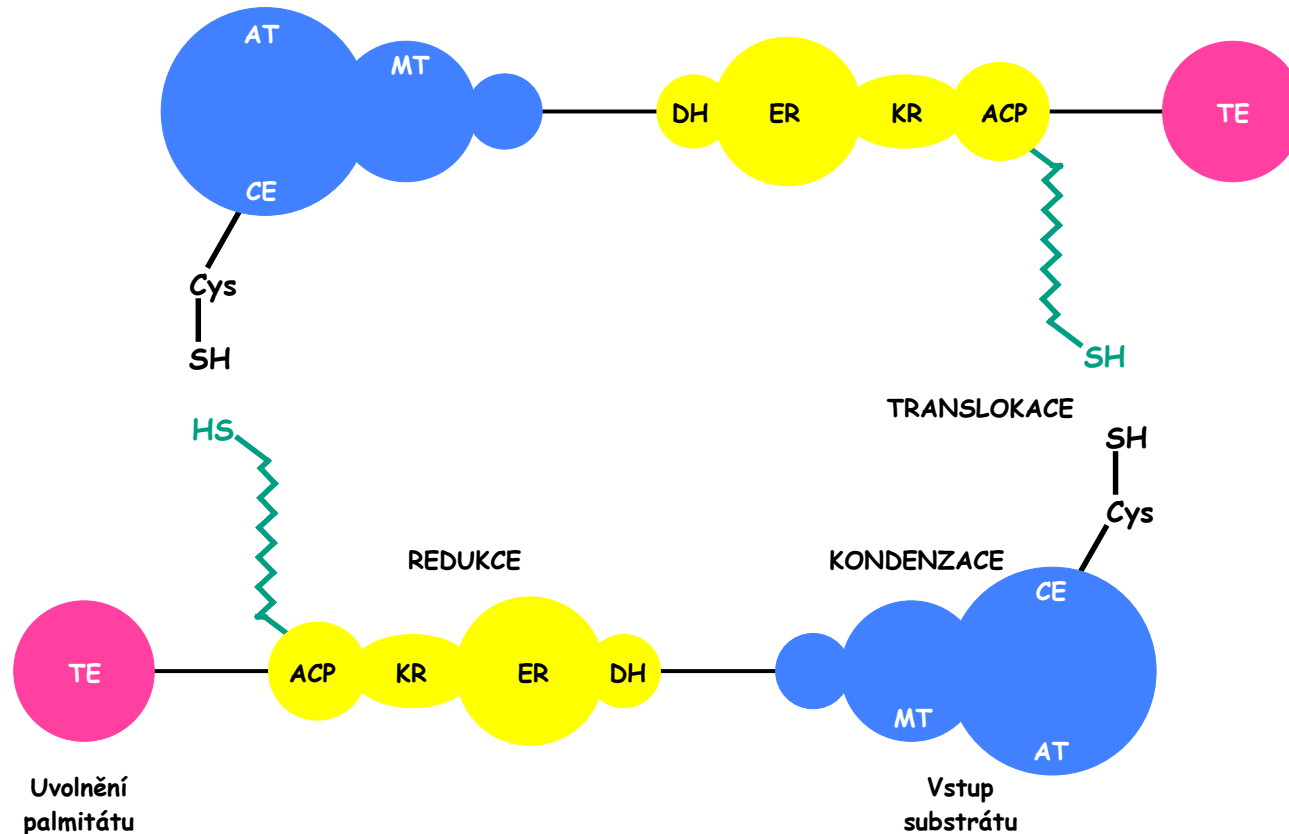
- V dalším kole syntézy se kondenzuje malonyl - ACP s butyryl ACP za tvorby C_6 - β -ketoacyl ACP. Poté následuje první redukce, dehydratace a druhá redukce za tvorby C_6 -acyl ACP.
- Prodlužování řetězce se opakuje až do délky C_{16} - palmitát.
- Thioesterasa je enzym, který odštěpuje palmitát z ACP a tím je syntéza ukončena.

Savčí synthasa mastných kyselin.

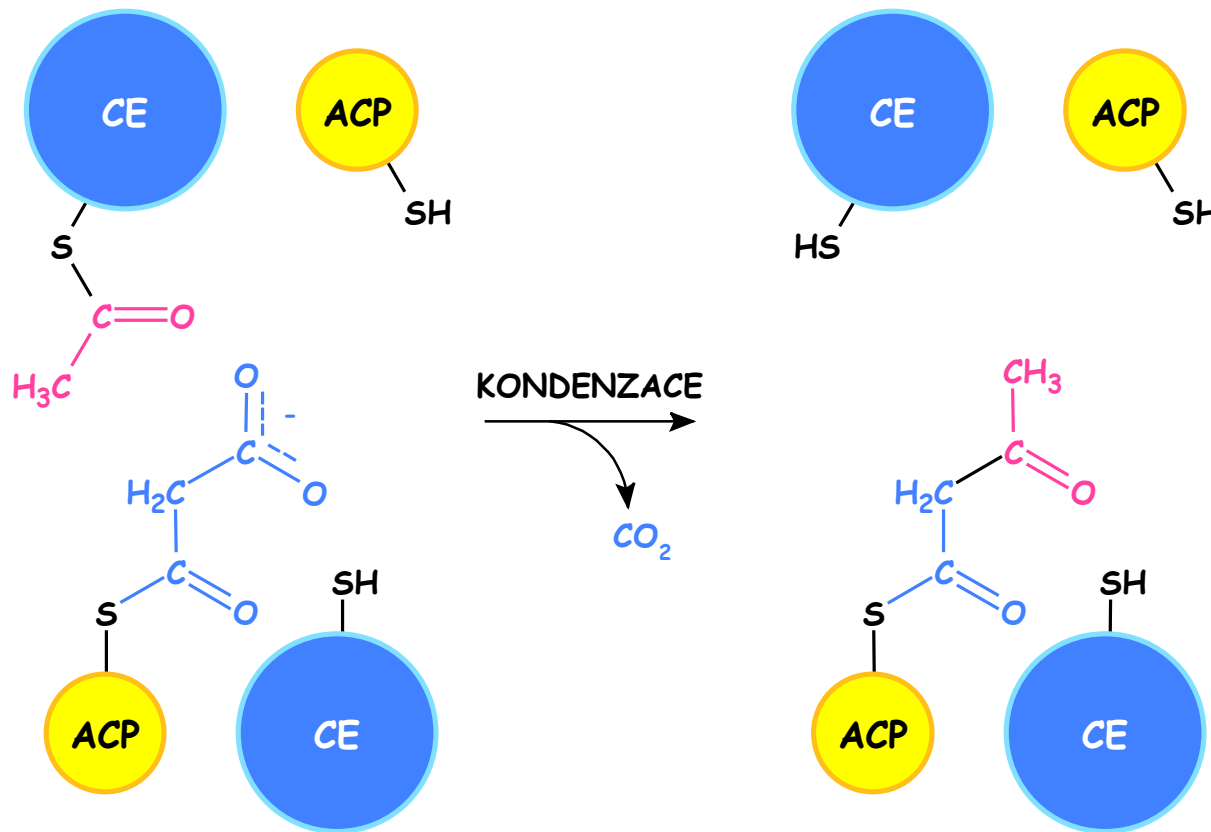
- Savčí synthasa mastných kyselin se liší od synthasy z *E. coli*.
Savčí je homodimer 260 kDa podjednotek.
- Každá z podjednotek má tři domény spojené pohyblivými regiony.
- Doména 1 - vstup substrátu a kondenzační jednotka obsahuje obě transferasy a β -ketoacylsynthasu (kondenzační enzym).
- Doména 2 - redukční jednotka - obsahuje ACP, β -ketoacylreduktasu, dehydratasu a enoylreduktasu.
- Doména 3 - obsahuje thioesterasu odštěpující palmitát.

Savčí synthasa mastných kyselin:

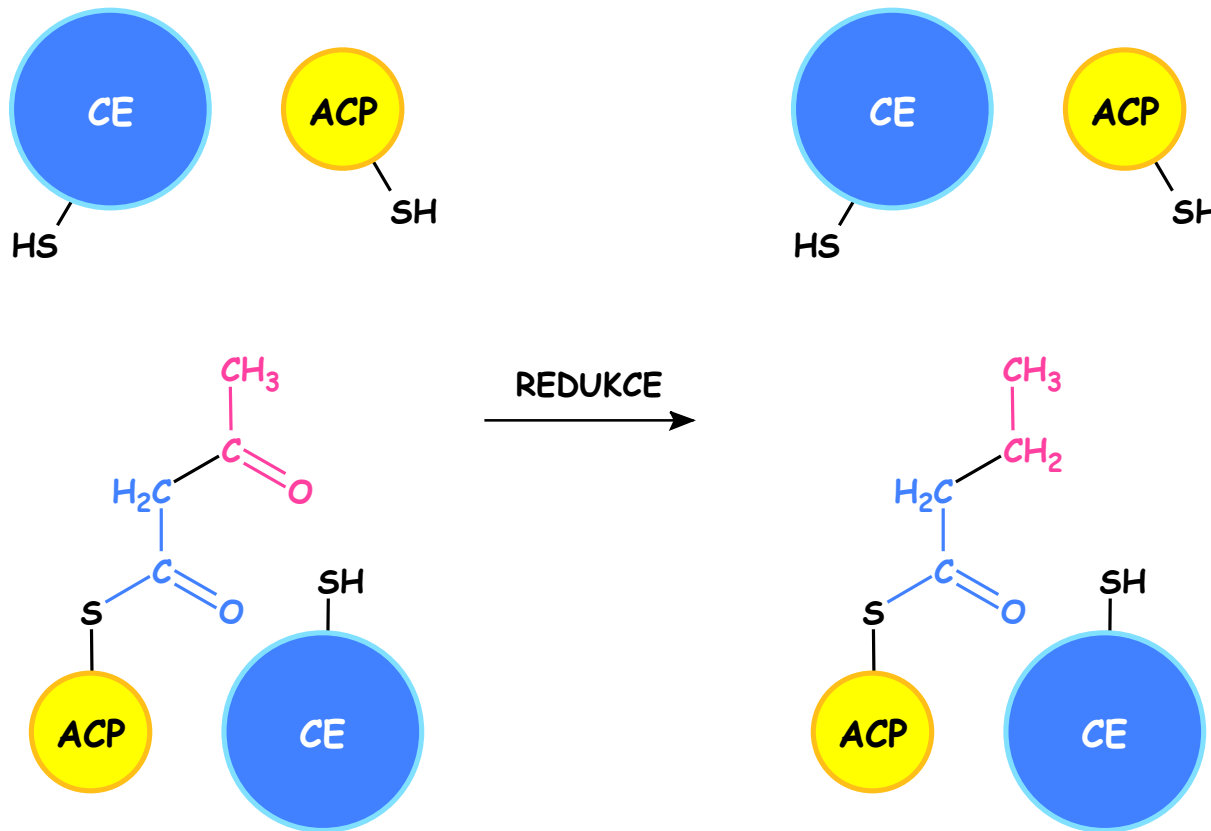
Doména 1 (modrá) AT-acetyltransferasa, MT-malonyltransferasa, CE-kondenzační enzym. **Doména 2** (žlutá) ACP, β -ketoacylreduktasa (KR), dehydratasa (DH), enoylreduktasa (ER). **Doména 3** (červená) thioesterasa (TE). Flexibilní raménka (zelená).



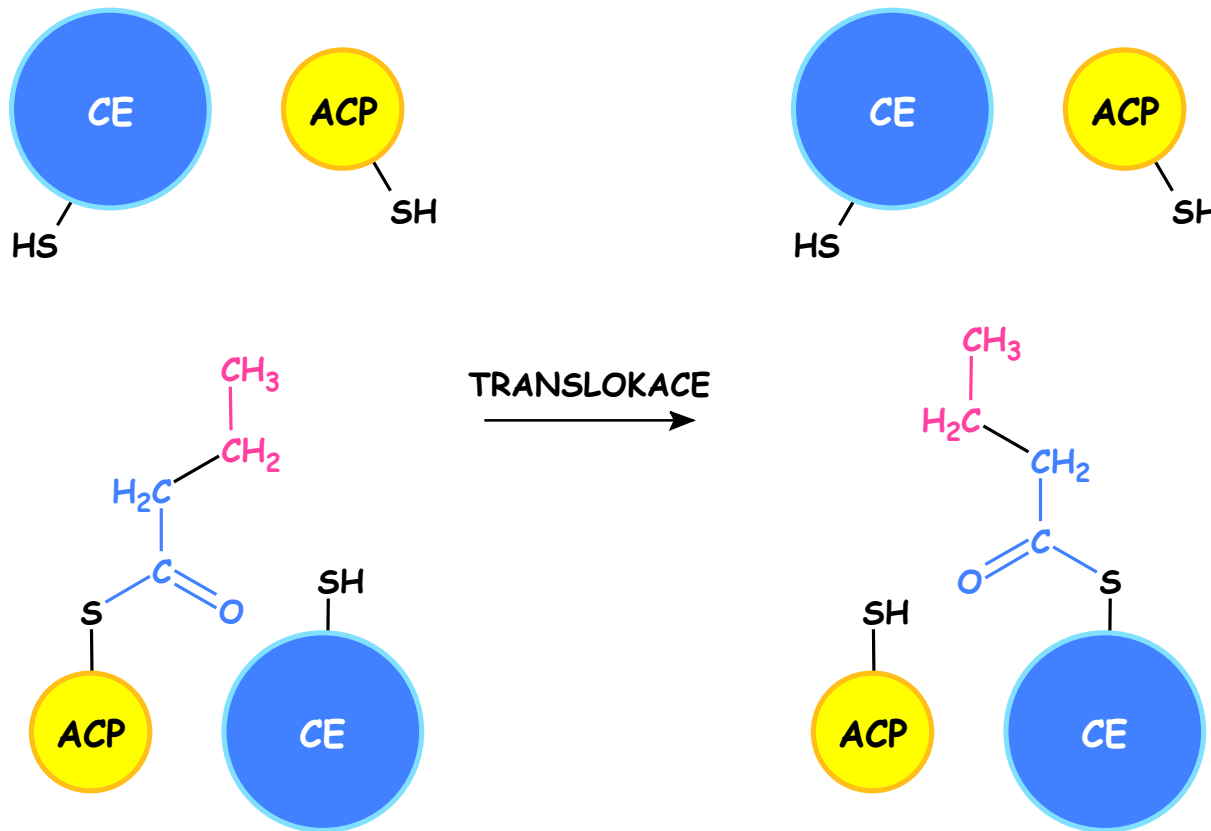
Synthasa mastných kyselin funguje jako dimer. Ke kondenzaci dochází mezi malonylem zavěšeným na jedné podjednotce ACP a acetylem na SH kondenzačního enzymu druhé podjednotky.



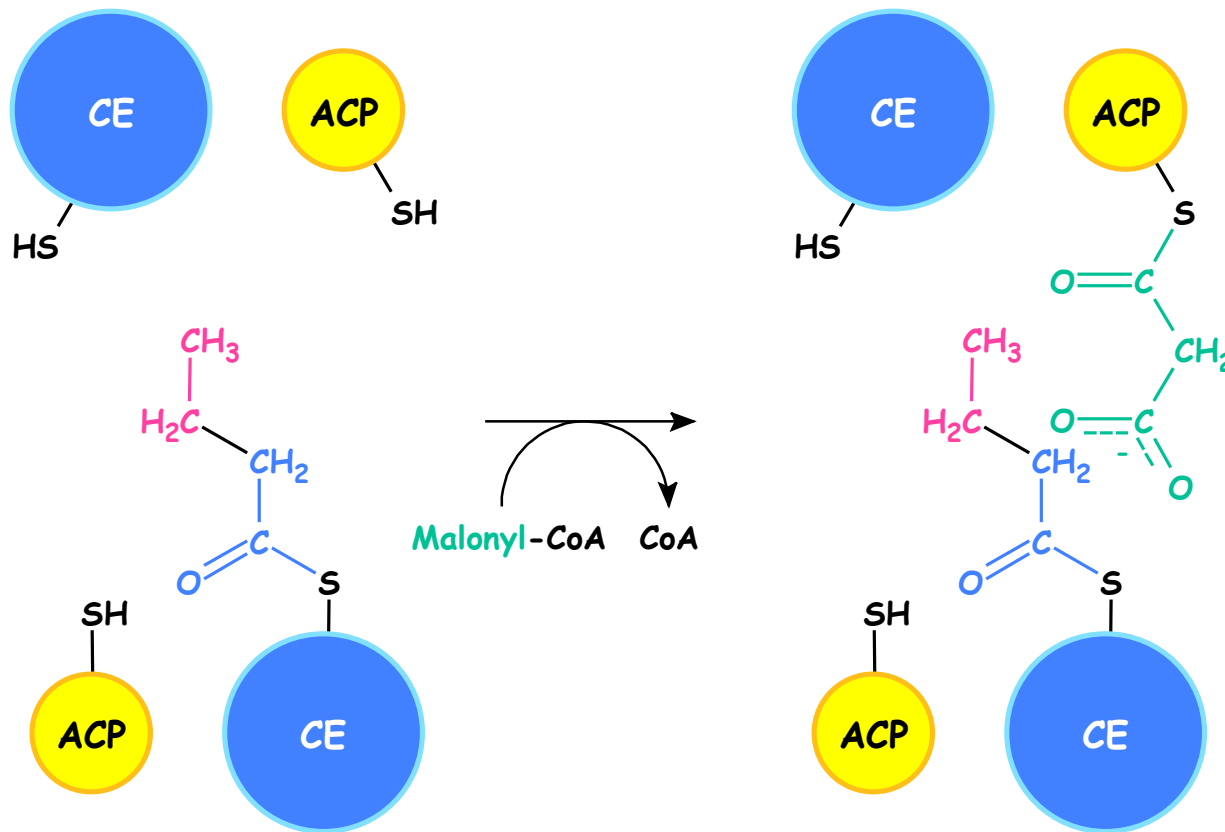
Obě redukce a dehydratace na fosfopantheteinovém raménku ACP.



Translokací se přenesou řetězce z ACP na SH skupinu kondenzačního enzymu stejné podjednotky.

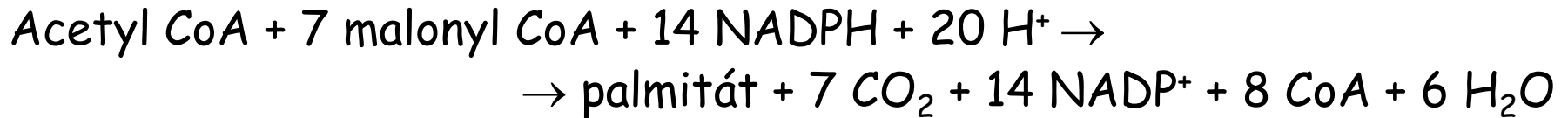


Další malonyl se naváže na raménko ACP druhé podjednotky.
Probíhá druhá kondenzace na protilehlou podjednotku dimeru.

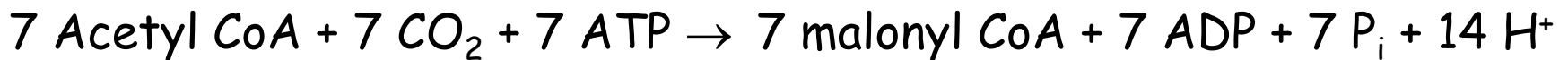


Stechiometrie syntézy mastných kyselin

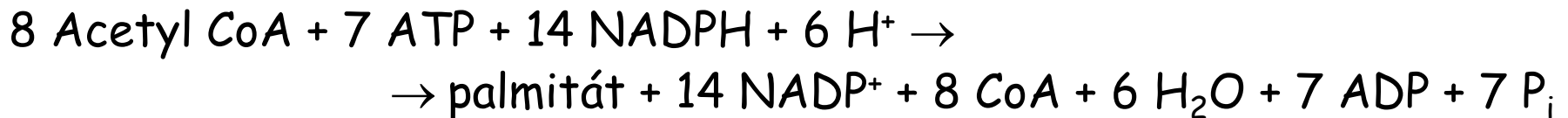
- **Stechiometrie syntézy palmitátu:**



- **Stechiometrie syntézy malonyl CoA:**



- **Celkově:**



Citrát jako nositel acetylů z matrix mitochondrie do cytosolu

- K syntéze palmitátu je třeba:

8 acetyl CoA, 14 NADPH a 7 ATP

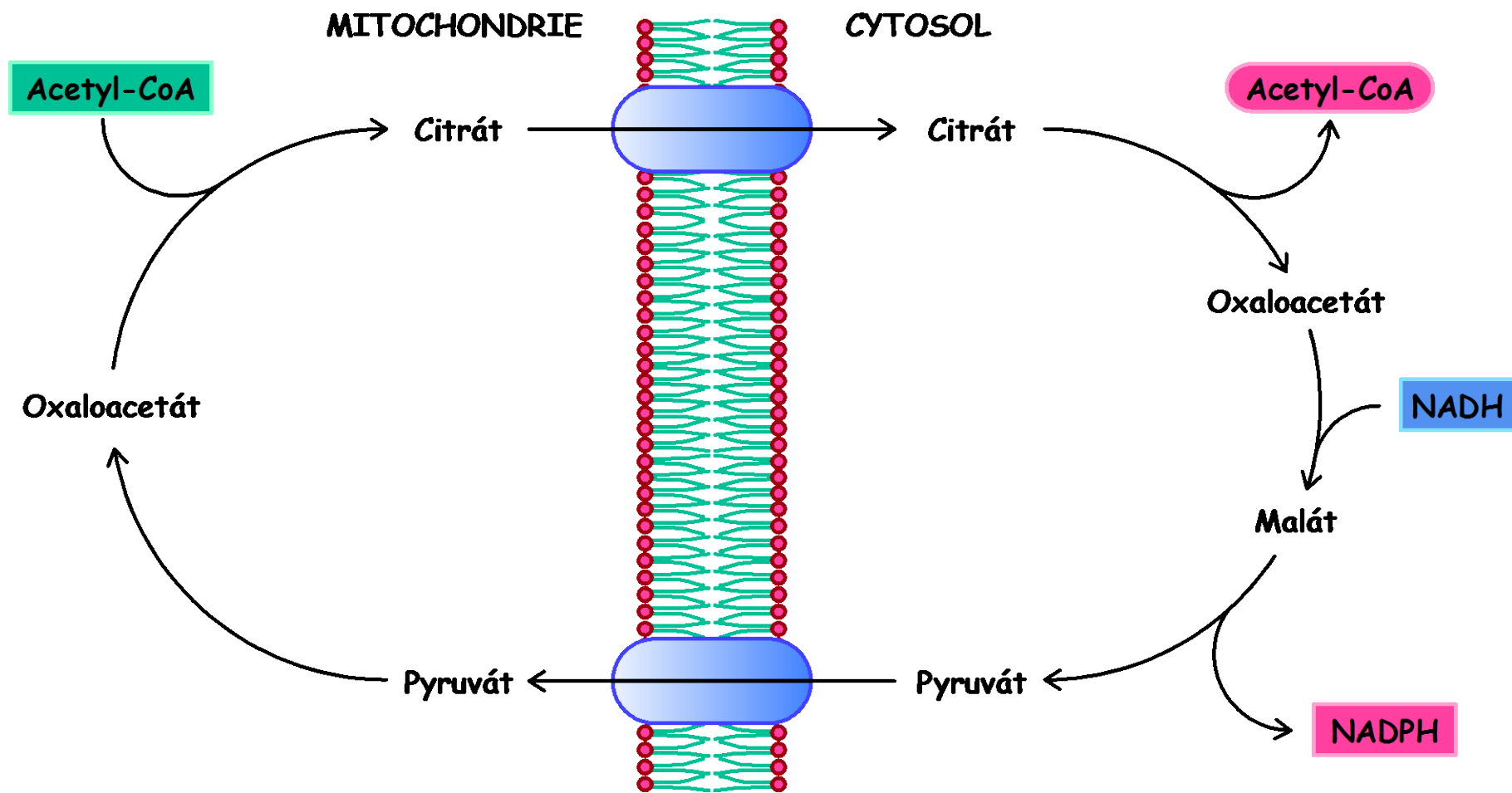
(8 NADPH se získá transportem citrátu do cytoplasmy a zbylých 6 v pentosafosfátové dráze).

- Acetyl CoA je v matrix a vnitřní mitochondriální membrána acetyl CoA nepropouští !!
- Při vysokých hladinách citrátu je transportován do cytosolu, kde je štěpen ATP citrátlyasou.



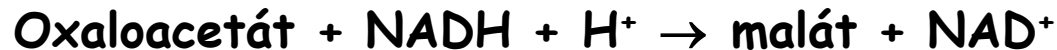
- Do cytosolu tak vstupuje spolu s acetyl CoA oxaloacetát.

Transfer acetyl CoA do cytosolu:



Zdroj NADPH pro syntézu mastných kyselin

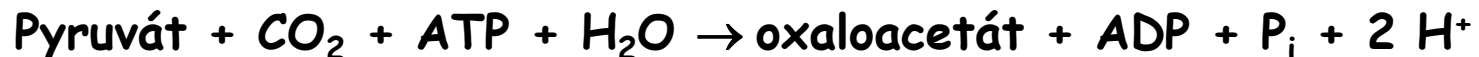
- Oxaloacetát vytvořený při transportu citrátu do cytosolu by se měl vrátit do matrix. Vnitřní mitochondriální membrána je pro oxaloacetát nepropustná.
- Oxaloacetát je redukován za účasti NADH na malát cytosolovou malátdehydrogenasou:



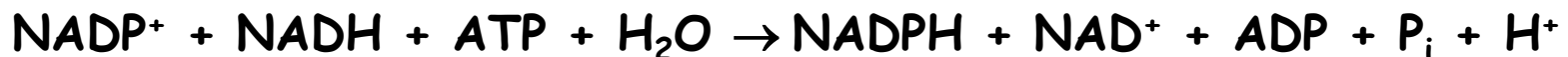
- Malát je oxidačně dekarboxylován NADP⁺-malátovým enzymem (také jablečný enzym):



- Konečně pyruvát vstupuje do mitochondrie, kde je karboxylován pyruvátkarboxylasou:



- **Sumární rovnice:**



Regulace metabolismu mastných kyselin

- Syntéza mastných kyselin probíhá za situace, kdy je dostatek sacharidů a energie a nedostatek mastných kyselin.
- Ústřední klíčovou roli hraje **acetyl CoA karboxylasa**.
- Karboxylasa je pod kontrolou adrenalinu, glukagonu a insulinu.
- **Insulin stimuluje syntézu** mastných kyselin **aktivací karboxylasy**, glukagon a adrenalin mají opačný účinek.
- **Citrát**, znak dostatku stavebních jednotek a energie, **aktivuje karboxylasu**.
- **Palmitoyl CoA a AMP**, naopak, **inhibují karboxylasu**.

Místa regulace metabolismu mastných kyselin.

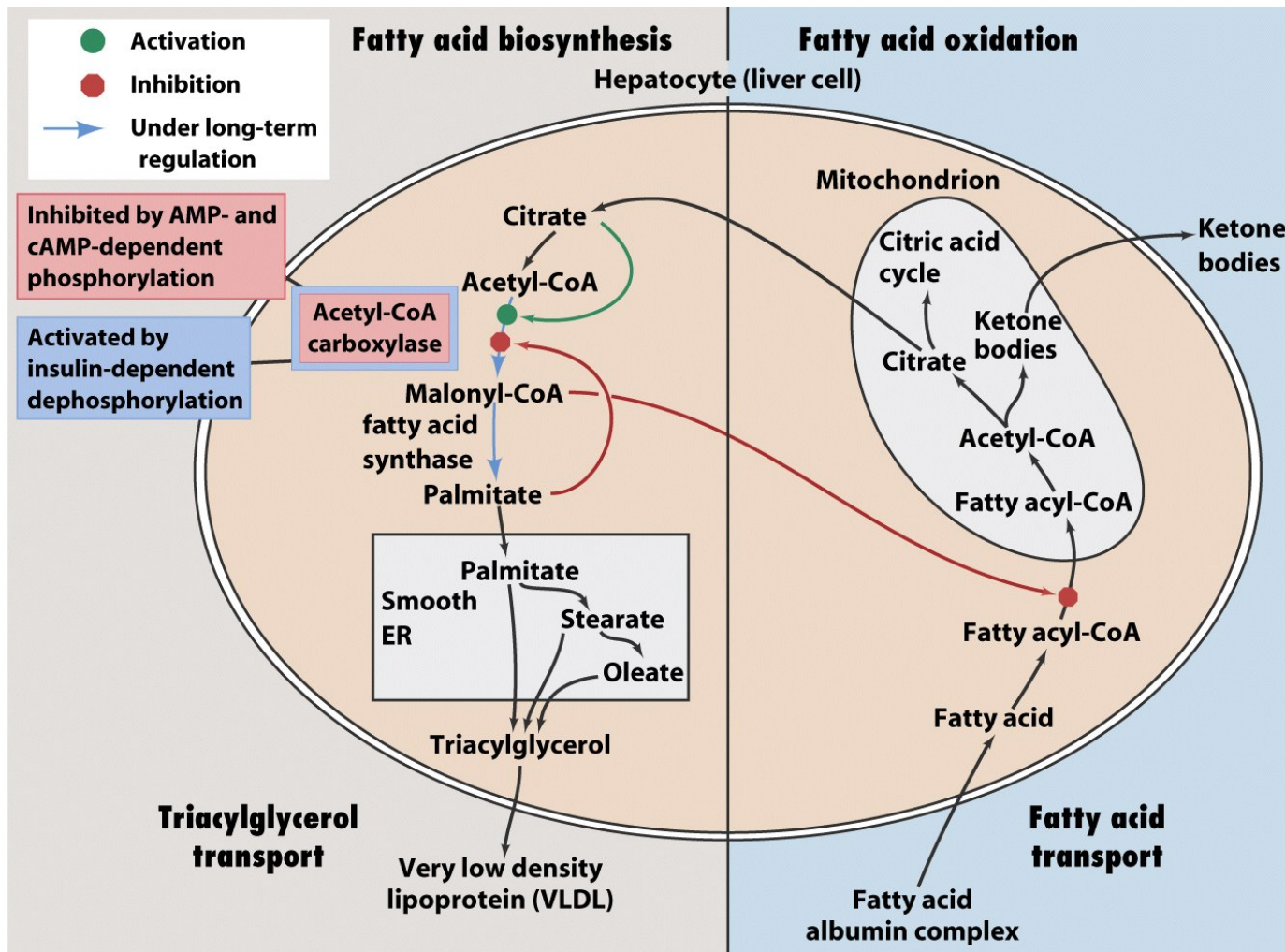


Figure 19-32 part 1 Fundamentals of Biochemistry, 2/e
© 2006 John Wiley & Sons

Souhrn metabolismu lipidů.

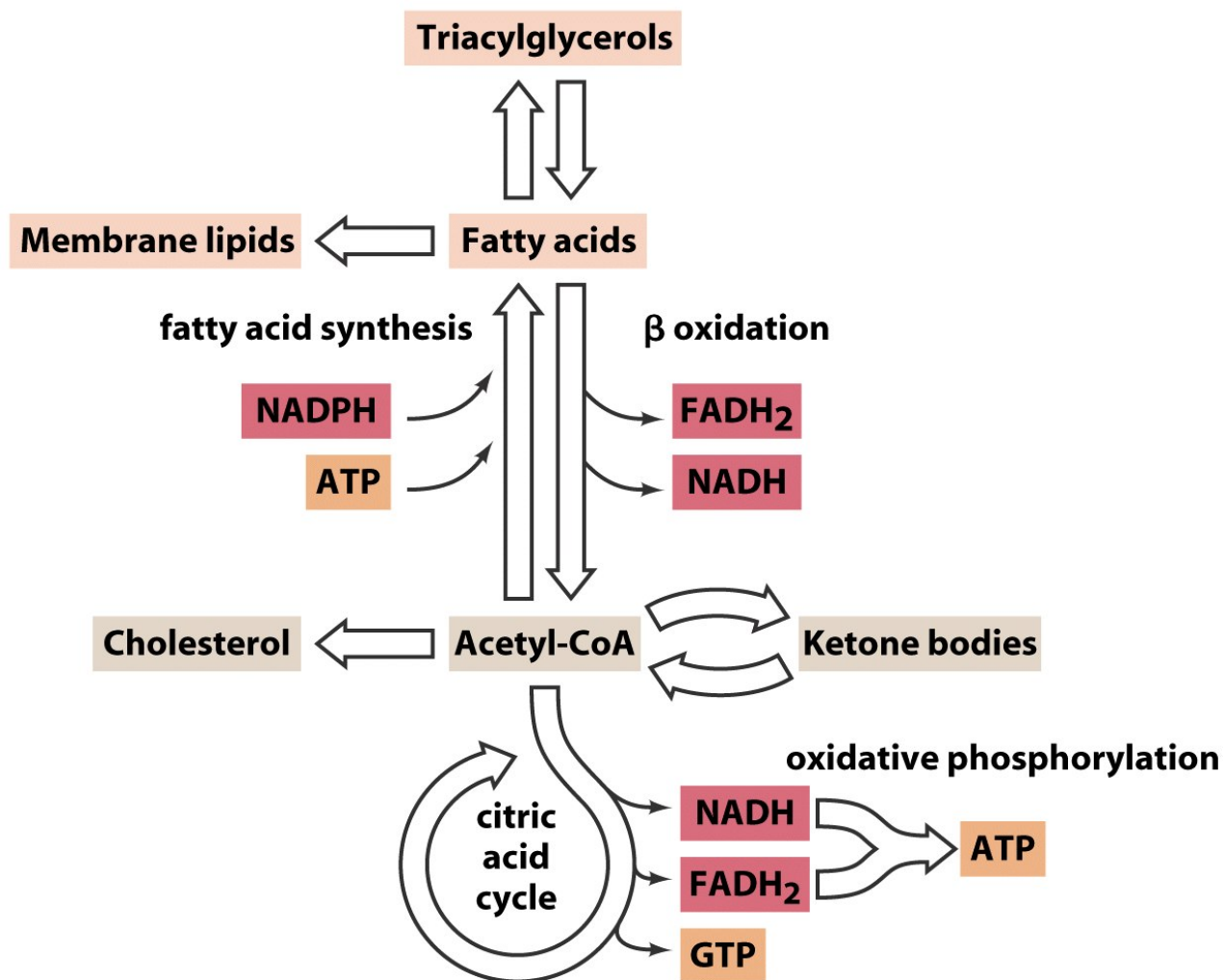


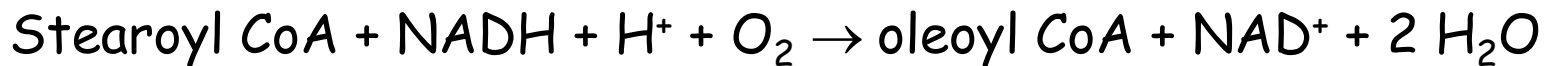
Figure 19-31 Fundamentals of Biochemistry, 2/e
© 2006 John Wiley & Sons

Glyceroneogeneze

- Dihydroxyacetonfosfát pro tvorbu glycerol-3-fosfátu pro syntézu triacylglycerolů má původ v glykolýze nebo z **oxaloacetátu - glyceroneogeneze.**
- Při hladovění je asi 30% mastných kyselin vstupujících do jater reesterifikováno na triacylglycerol a ten poté transportován VLDL.
- Adipocyty v situaci hladovění vykazují také glyceroneogenezi.
- Nemají glukoneogenezi, ale mají enzym glukoneogeneze - fosfoenolpyruvátkarboxykinasu (PEPCK), který je aktivován při nízkých hladinách glukosy. Přvádí oxaloacetát na fosfoenolpyruvát (GTP).
- Podílí se tak na glyceroneogenezi.

Prodlužování řetězce a tvorba nenasycených mastných kyselin probíhá na cytosolární straně membrány endoplasmatického retikula.

- Tvorba oleoyl CoA (cis Δ^9 -dvojná vazba) ze stearoyl CoA:

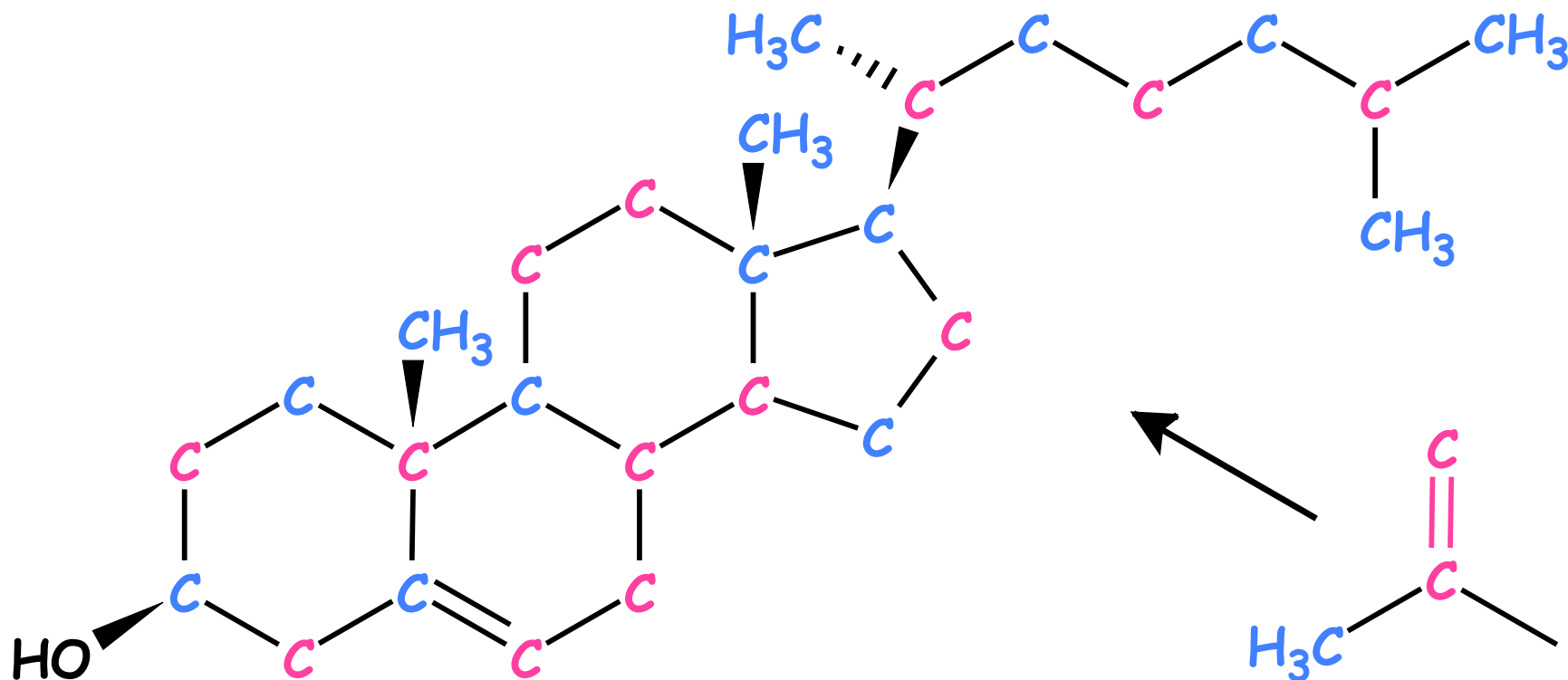


- Katalyzují tři membránové enzymy.
- Savci nemají enzymy katalyzující vstup dvojně vazby za uhlík C-9 řetězce mastných kyselin.
- Savci nemohou syntetizovat linoleát (18 : 2 cis Δ^9, Δ^{12}) a linolenát (18 : 3 cis $\Delta^9, \Delta^{12}, \Delta^{15}$).
- Obě mastné kyseliny jsou pro savce esenciální - musí být dodány s potravou.

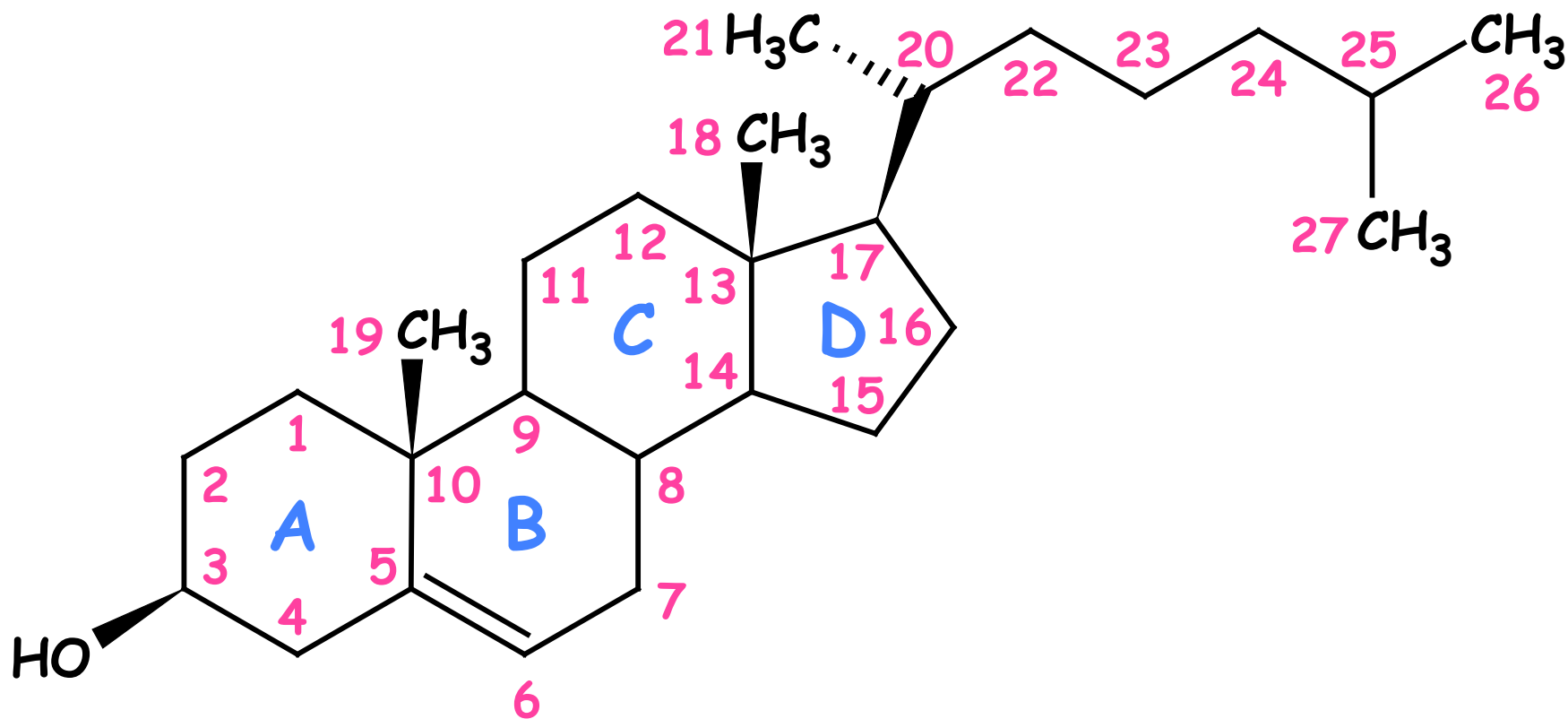
Biosyntéza cholesterolu

- Cholesterol má 27 uhlíkových atomů a všechny mají původ v acetyl CoA.
- Syntéza cholesterolu se uskutečňuje ve třech stupních:
 - A) Syntéza isopentenyldifosfátu, jako aktivní isoprenové jednotky.
 - B) Kondenzace šesti molekul isopentenyldifosfátu za tvorby skvalenu.
 - C) Cyklizace skvalenu řadou reakcí na tetracyklický produkt, který je bezprostředně převeden na cholesterol.
- Cholesterol:
 - Modulátor fluidity živočišných membrán
 - Prekurzor steroidních hormonů
 - Prekurzor žlučových kyselin
 - Prekurzor vitamínu D

Značení uhlíkových atomů cholesterolu v návaznosti na značení acetylu.

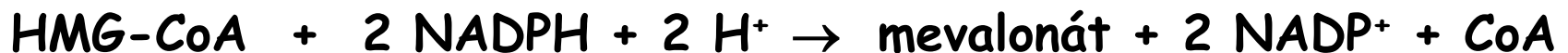


Číslování cholesterolu a steroidů:

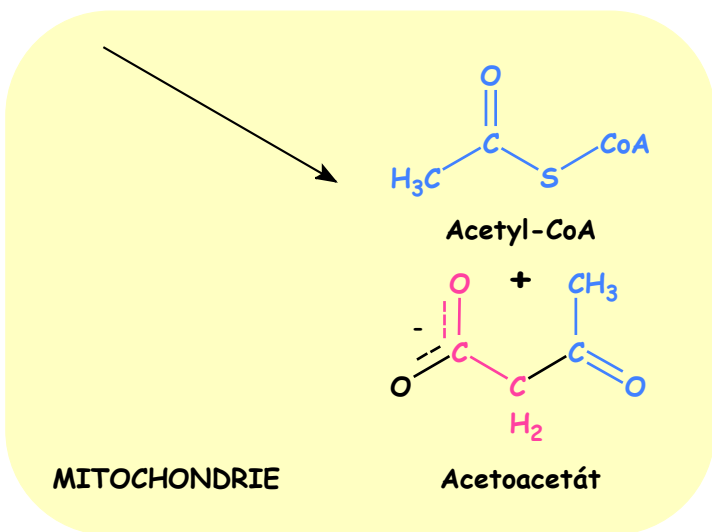
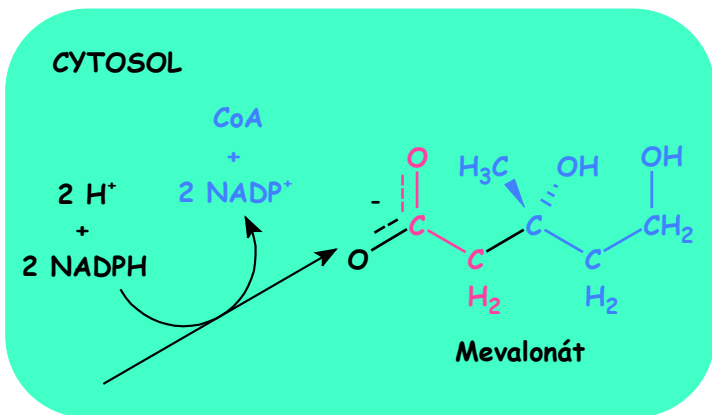
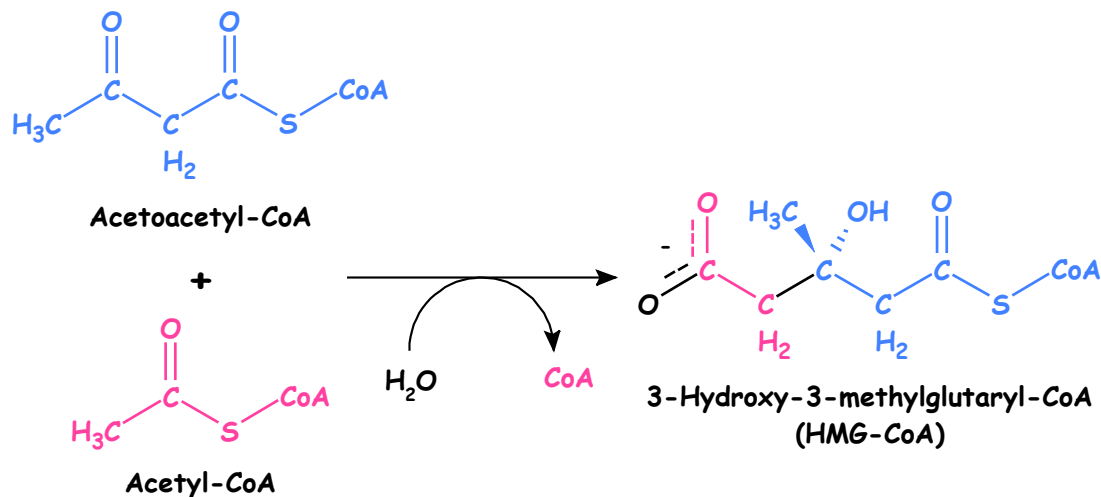


Syntéza isopentenyldifosfátu v cytoplasmě

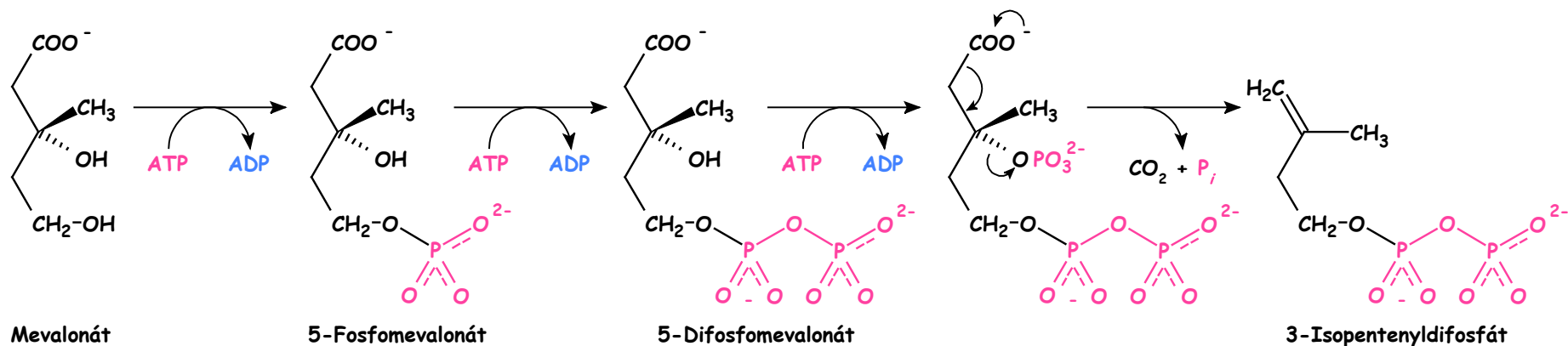
- Meziprodukty jsou 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA (HMG-CoA) a mevalonát.
- HMG-CoA se v mitochondriích převádí na acetyl CoA a acetoacetát (ketolátky) !!!!
- V cytosolu na mevalonát !!
- Syntéza mevalonátu je klíčovým stupněm syntézy cholesterolu. Redukce HMG-CoA enzymem HMG-CoA reduktasou je ireversibilním stupněm, kontrolním bodem syntézy. Reduktasa je integrální součástí membránových proteinů v endoplasmatickém retikulu.



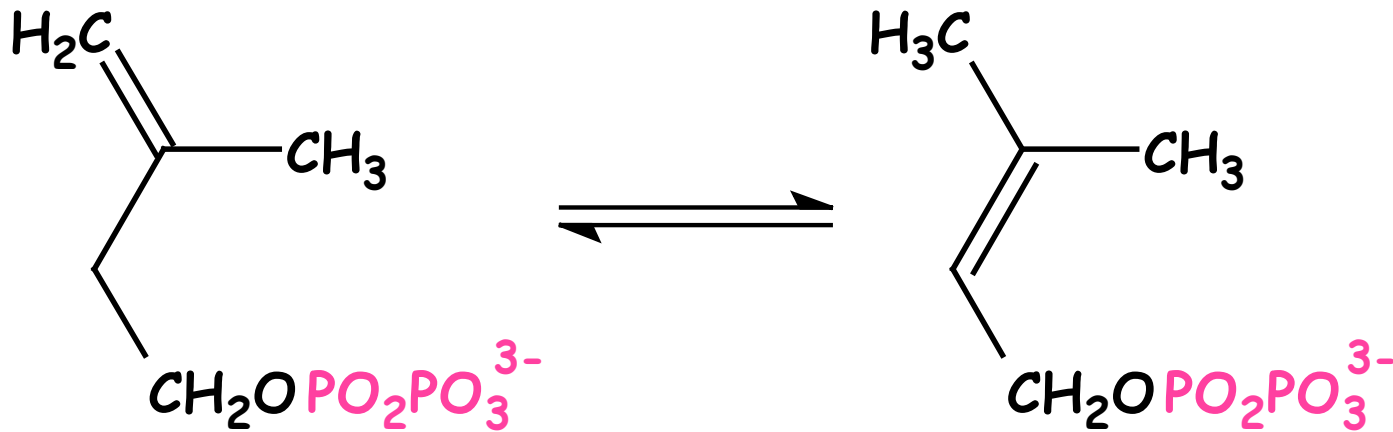
Přeměny 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA v cytosolu a mitochondrii:



Syntéza isopentenyldifosfátu:



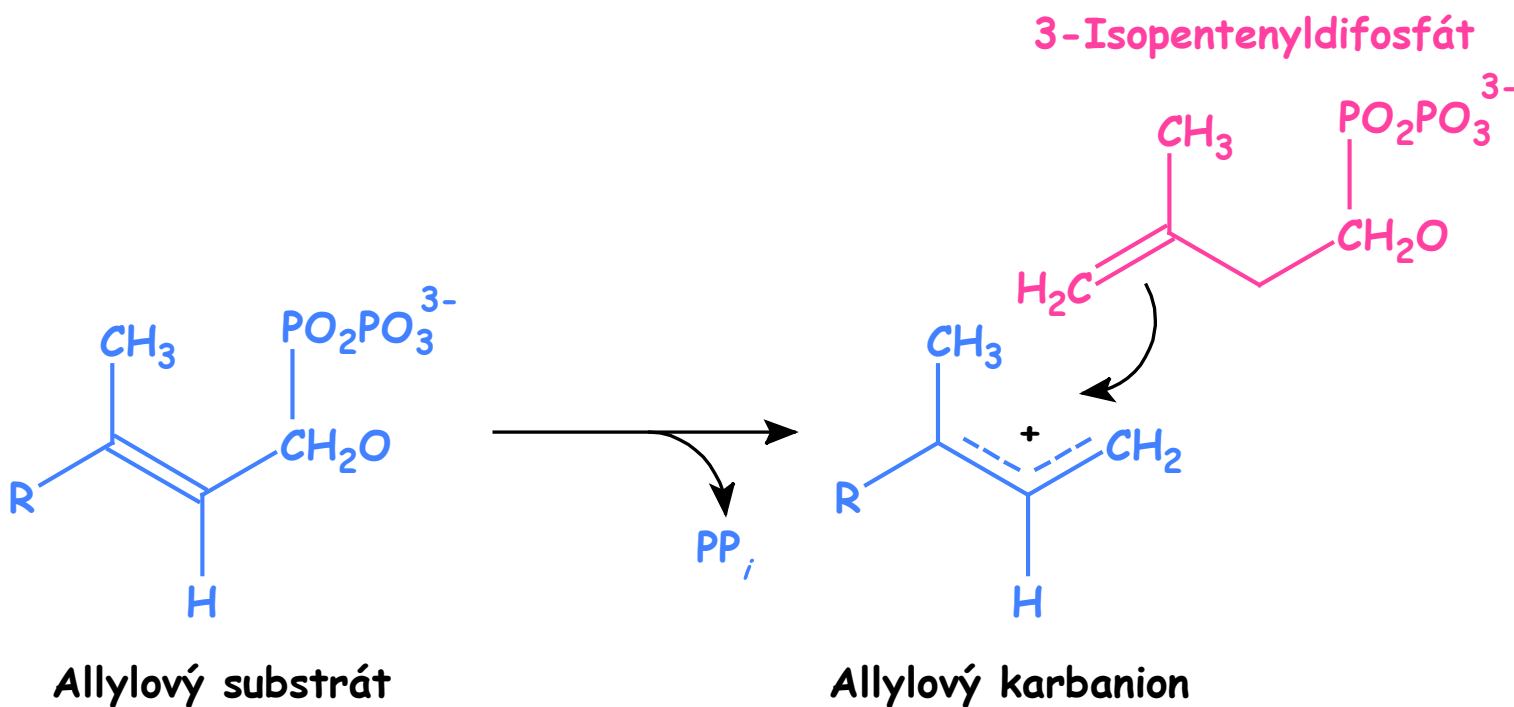
Izomerizace isopentenyldifosfát - dimethylallyldifosfát:



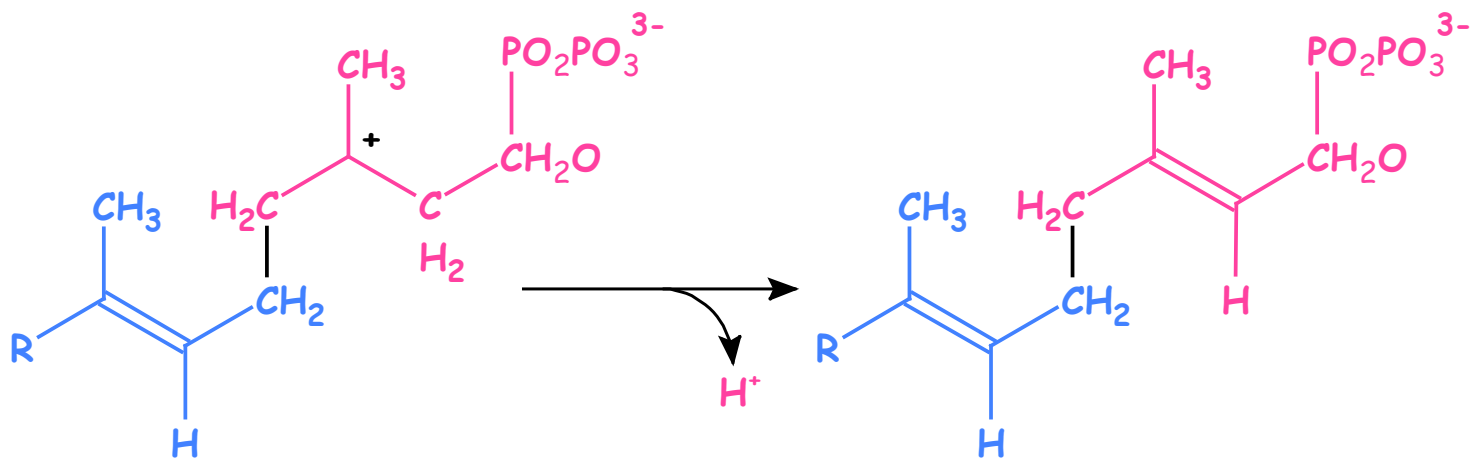
3-Isopentenyldifosfát

Dimethylallyldifosfát

Mechanismus kondenzace allylového substrátu (dimethylallyldifosfát) s 3-isopentenyldifosfátem. Kondenzace hlava - ocas.

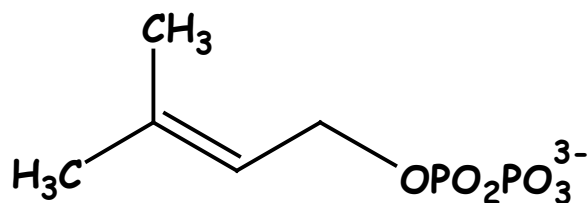


Geranyl = dimethylallyldifosfát + isopentenyldifosfát;
Farnesyl = geranyl + isopentenyldifosfát.



Geranyl(10C)-(farnesyl-15C)-difosfát

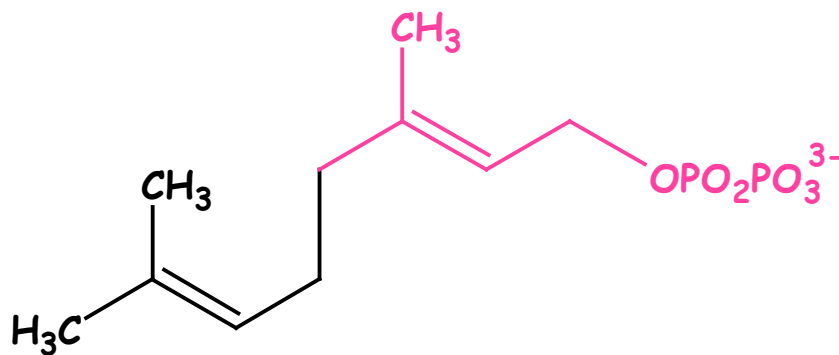
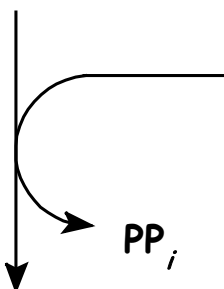
Geranyldifosfát



Dimethylallyldifosfát

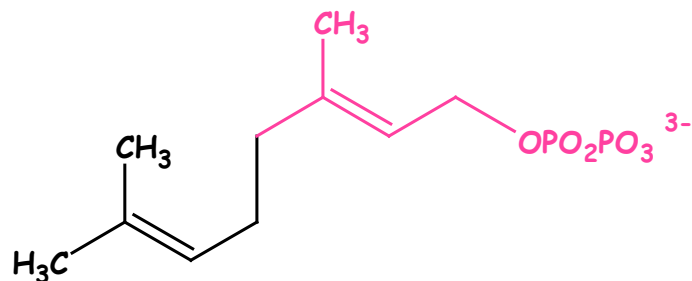


3-Isopentenyldifosfát

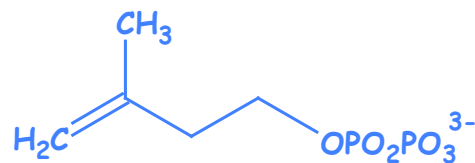


Geranyldifosfát

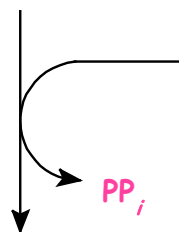
Farnesyldifosfát



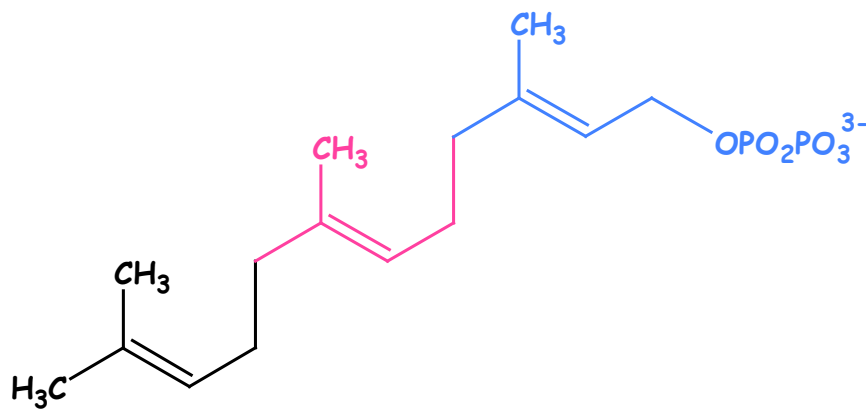
Dimethylallyldifosfát



3-Isopentenyldifosfát

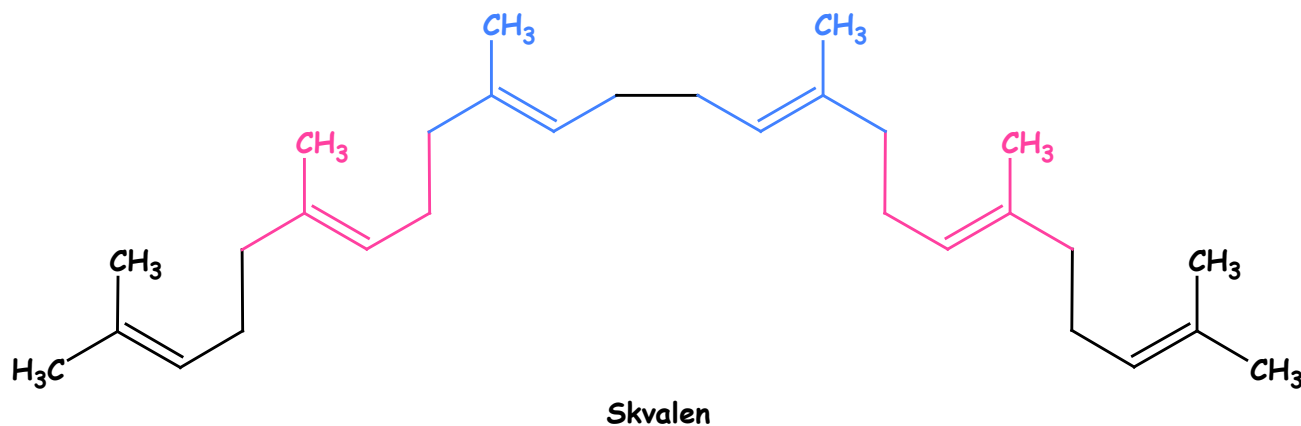
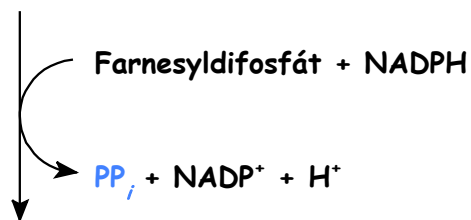
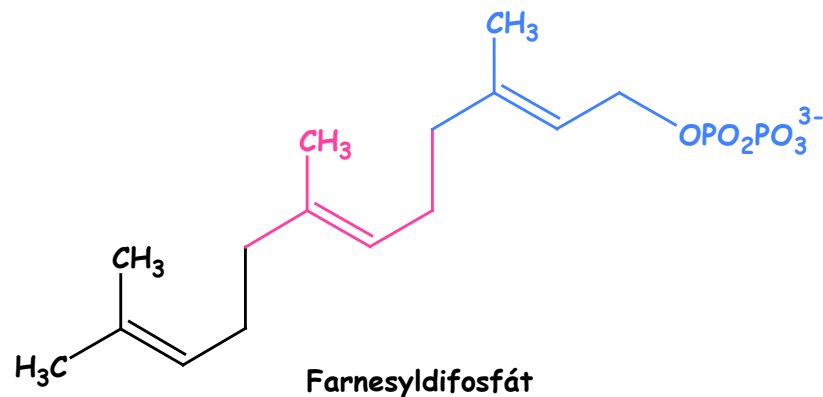


PP_i

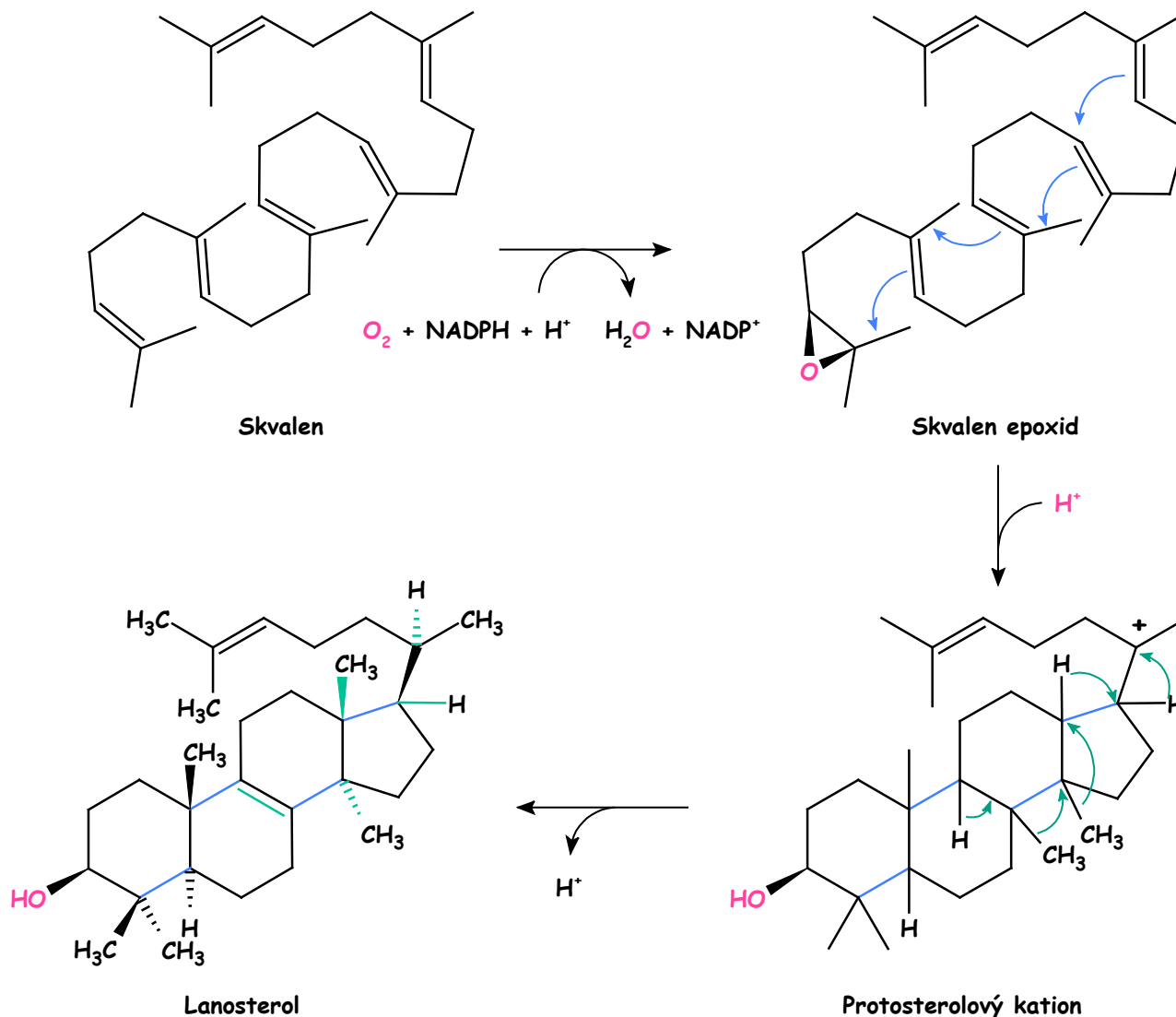


Farnesyldifosfát

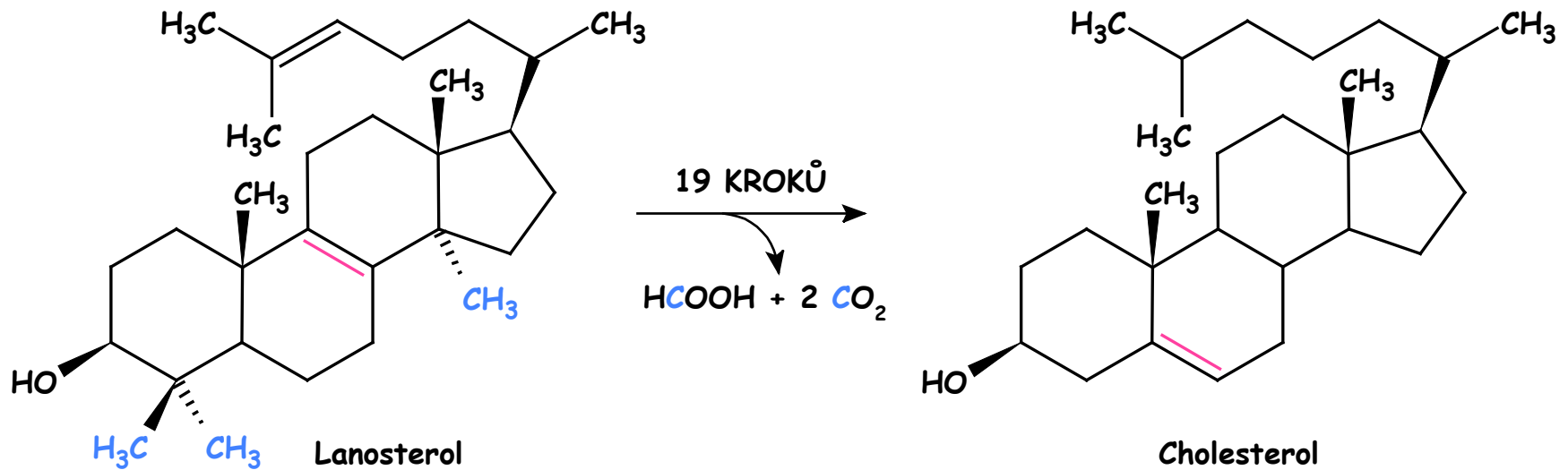
Skvalen = 2 x farnesyldifosfát + NADPH
Kondenzace hlava - ocas.



Cyklizace skvalenu na lanosterol přes skvalen epoxid a protosterolový kationt.



Lanosterol přechází řadou reakcí na cholesterol.
 Odstranění tří methylů ($3 \times \text{CO}_2$), redukce jedné dvojně vazby
 NADPH a přesun druhé dvojně vazby.

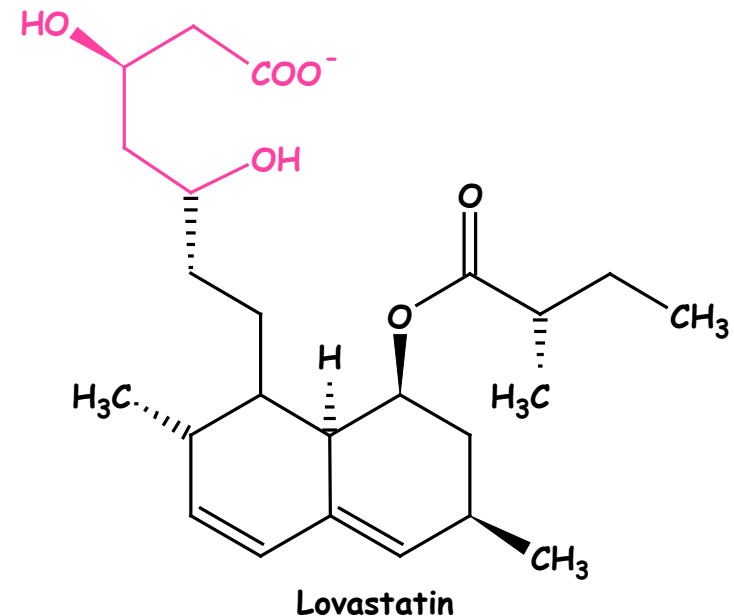


Regulace syntézy cholesterolu.

- Dospělý člověk syntetizuje denně 800 mg cholesterolu (játra, střevo).
- Syntéza cholesterolu je regulována jeho buněčnou hladinou zpětnovazebně přes **aktivitu a množství HMG-CoA reductasy !!**
- 1. Rychlost syntézy reduktasové mRNA je kontrolována zvláštním proteinem (regulatory element binding protein SREBP) - transkripční faktor. **Nízká hladina cholesterolu aktivuje SREBP, vysoká inhibuje.**
- 2. Rychlost translace reduktasové mRNA je inhibována nesteroidními metabolity odvozenými od mevalonátu a cholesterolem z potravy.
- 3. Odbourávání reduktasy - proteolýza je spuštěna při vysokých koncentracích cholesterolu.
- 4. Fosforylace snižuje aktivitu reduktasy. AMP aktivovaná proteinkinasa vypíná syntézu cholesterolu. Syntéza se zastavuje při nízkých hladinách ATP.

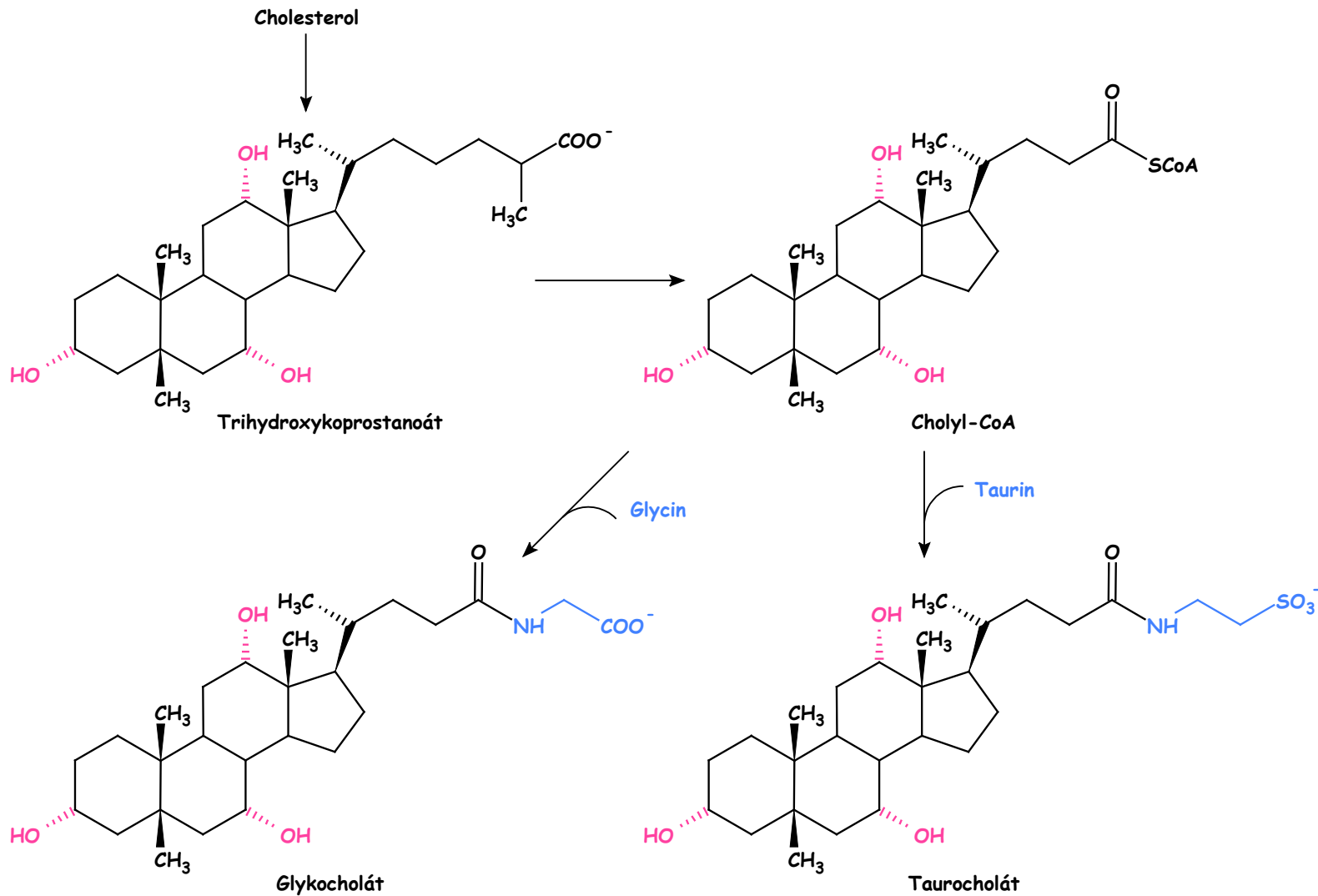
Inhibitory syntézy cholesterolu.

- Syntéza cholesterolu může být efektivně blokována třídou sloučenin zvaných statiny (např. lovastatin také s názvem mevacor). Jedná se o silné inhibitory ($K_i = 1 \text{ nM}$) HMG-CoA reductasy.
- Obvykle se podávají s inhibitory reabsorpce žlučových kyselin.
- Atherosklerosa !!



Syntéza žlučových kyselin.

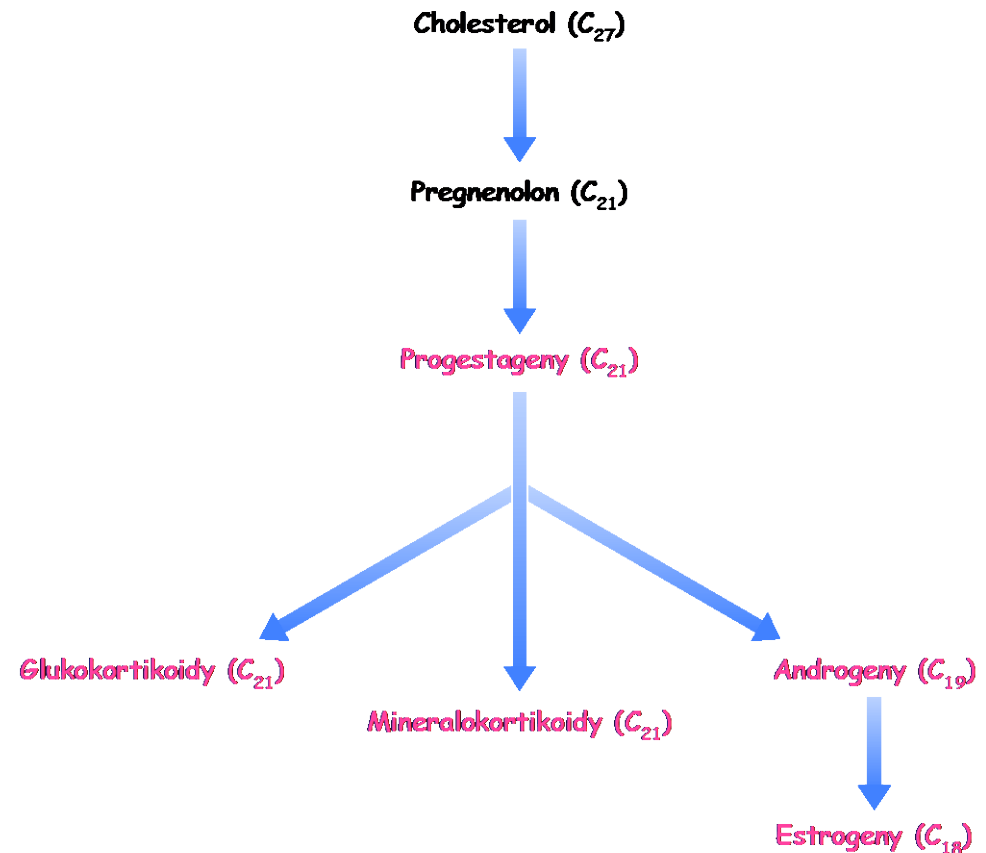
Polární deriváty cholesterolu - vysoce efektivní detergenty.



Steroidní hormony.

- Cholesterol je prekurzorem pěti hlavních tříd steroidních hormonů:
- Progestageny, glukokortikoidy, mineralokortikoidy, androgeny a estrogeny.
- Regulace genové exprese.

- Biosyntetická cesta tříd steroidních hormonů.

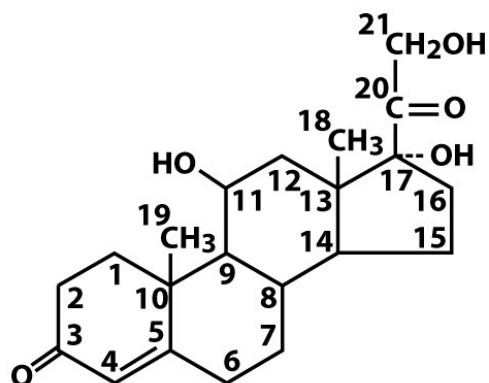


Funkce a místo syntézy steroidních hormonů.

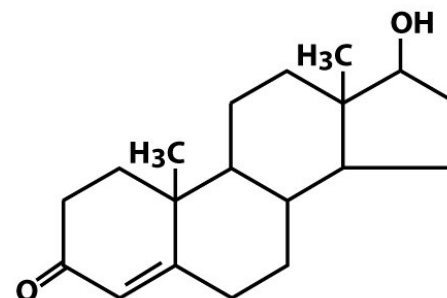
- Progestagen **progesteron** - připravuje dělohu pro přijetí vajíčka.
- Androgeny (jako **testosteron**) - vývoj sekundárních pohlavních znaků mužů.
- Estrogeny (jako **estron**) - vývoj sekundárních pohlavních znaků žen, ovariální cyklus.
- Glukokortikoidy (jako **kortisol**) - ovlivňují metabolismus sacharidů, proteinů a lipidů, inhibice zánětů.
- Mineralokortikoidy (**aldosteron**) - regulace vylučování vody a solí ledvinami (zvýšení reabsorbce Na^+ a vylučování K^+ a H^+ což vede ke zvýšení objemu a tlaku krve).

- Hlavními místy syntézy steroidních hormonů jsou:
- Žluté tělísko (*Corpus luteum*) pro progestageny. Vaječníky pro estrogeny. Varlata pro androgeny. Kůra nadledvinek pro glukokortikoidy a mineralokortikoidy.

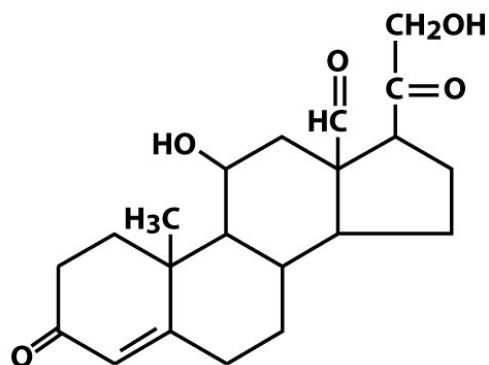
Základní steroidní hormony.



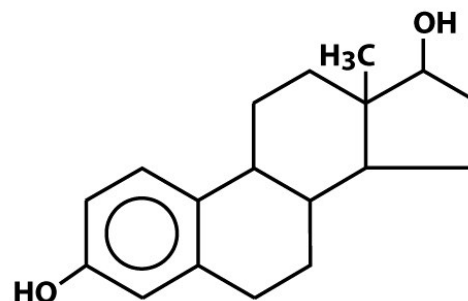
Cortisol (hydrocortisone)
(a glucocorticoid)



Testosterone
(an androgen)

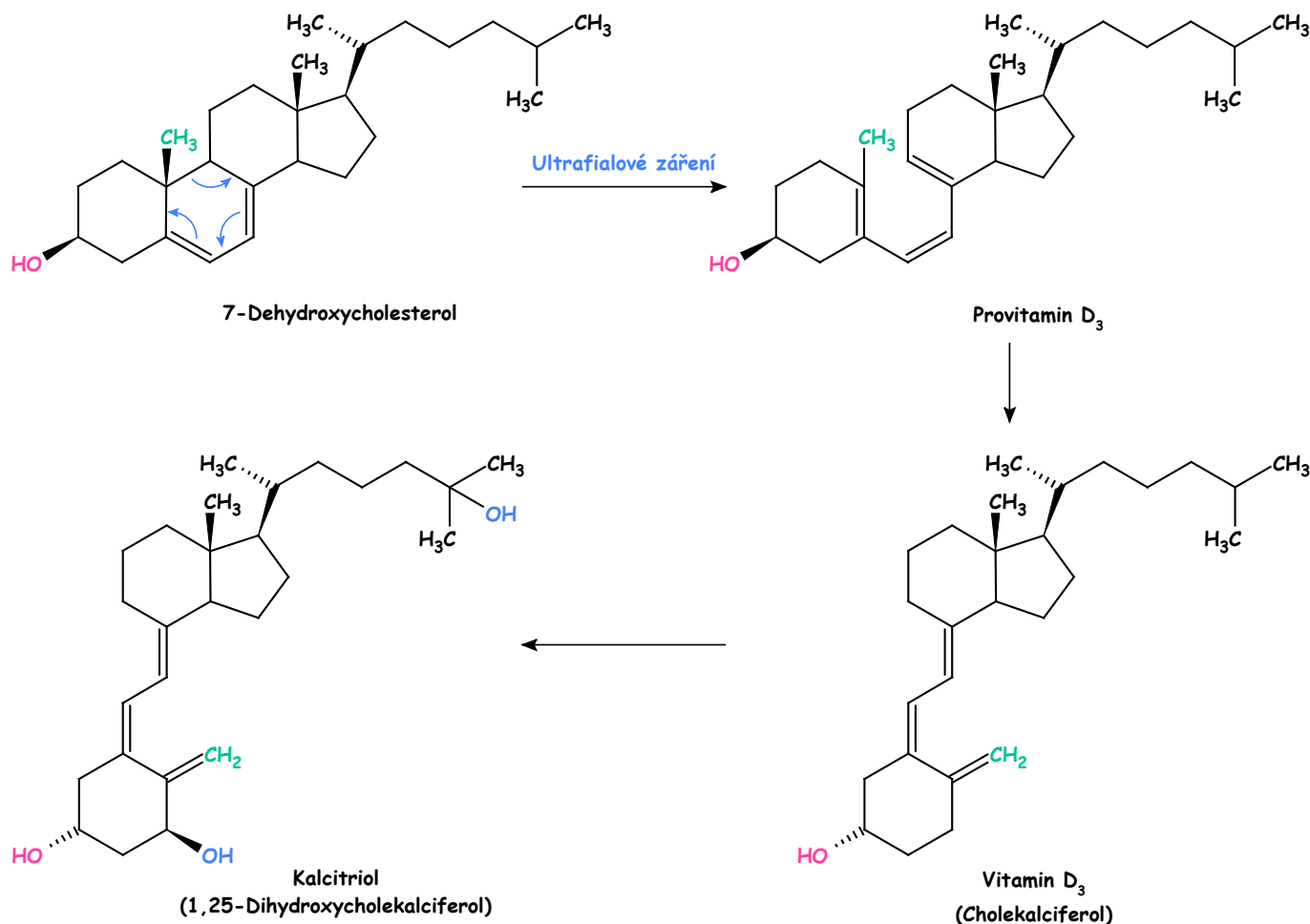


Aldosterone
(a mineralocorticoid)



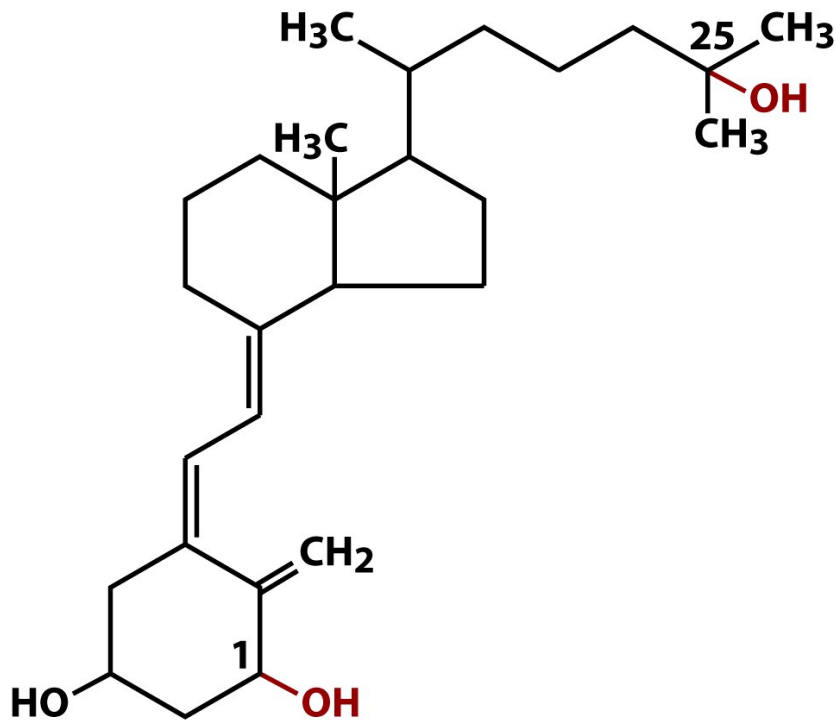
β-Estradiol
(an estrogen)

Vitamin D - kontrola hladiny Ca^{2+} a fosfátů.
Aktivním hormonem je **kalcitriol**. Nejedná se o pravý steroid.



Funkce vitamínu D

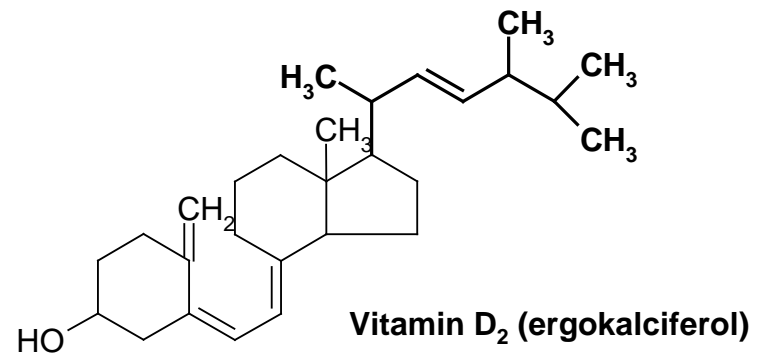
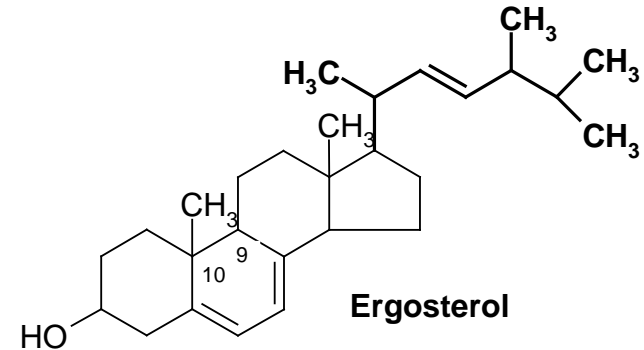
- Vitamíny D₂ (ergokalciferol) a D₃ (cholecalciferol) jsou neúčinné; enzymovou hydroxylací v játrech a ledvinách na C25 poskytují **1α,25-dihydroxycholecalciferol (kalcitriol)** - aktivní vitamin D.
- Vitamin D zvyšuje koncentraci Ca²⁺ v séru a tím depozici Ca²⁺ v kostech a zubech. Zvýšení hladiny vit. D lze dosáhnout ozařováním kůže UV světlem 230-313nm.



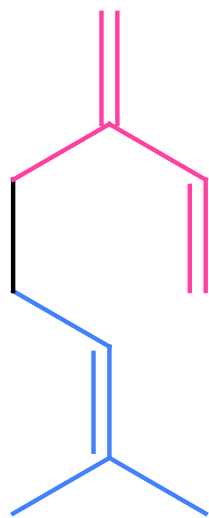
1α,25-Dihydroxycholecalciferol

Struktura vitamínu D₂

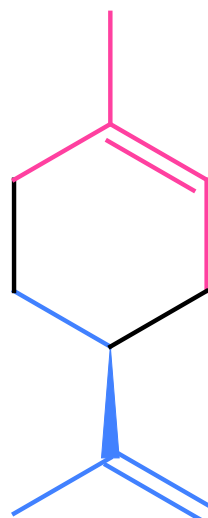
- Vitamin D₂ (ergokalciferol) má shodnou strukturu s vitaminem D₃ až na vedlejší řetězec v poloze 17 !
- Vytváří se v kůži působením UV záření z rostlinného ergosterolu (je v mléce). Vitaminy D se ukládají v tucích. Vysoké hladiny vedou k intoxikaci - kalcifikují se měkké tkáně, tvoří ledvinové kameny.
- Pigmentace chrání před intoxikací vitaminy D.



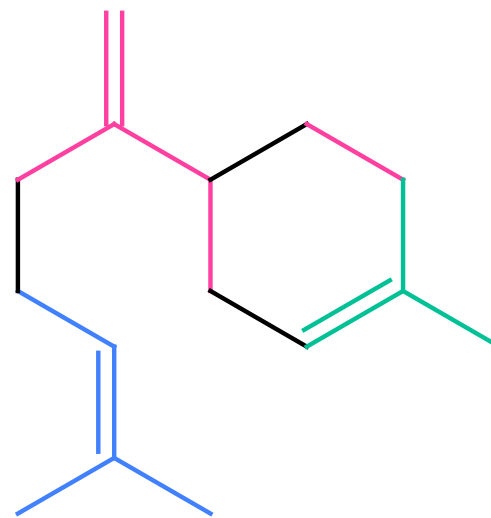
Isopentenyldifosfát je prekurzorem terpenů, řetězců ubichinonu, chlorofylu, karotenoidů a vitamínu K.



Myrcen
(bobkový list)

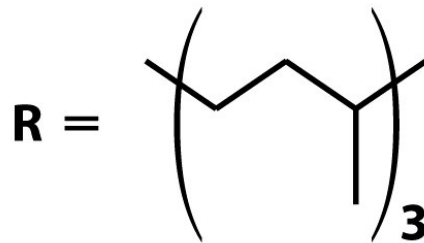
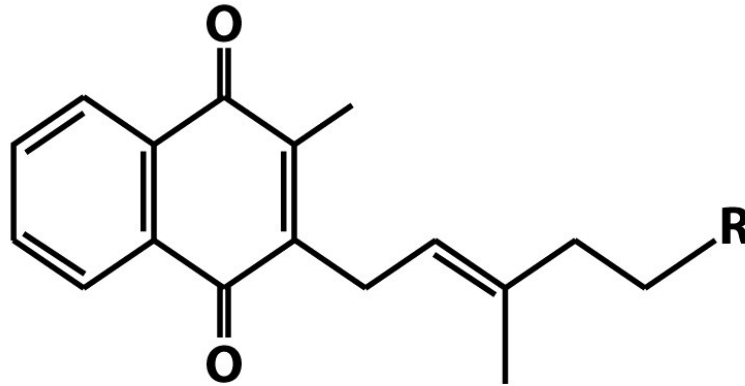


Limonen
(citronová silice)

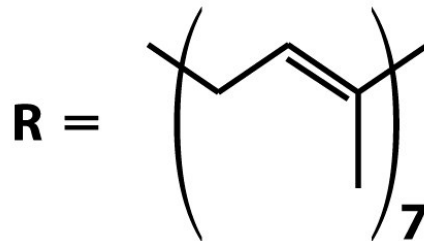


Zingiberen
(zázvor)

Vitamin K (**K**oagulation) je syntetizován rostlinami jako fylochinon a bakteriemi jako menachinon (střevní bakterie).
 Funkční při srážení krve.

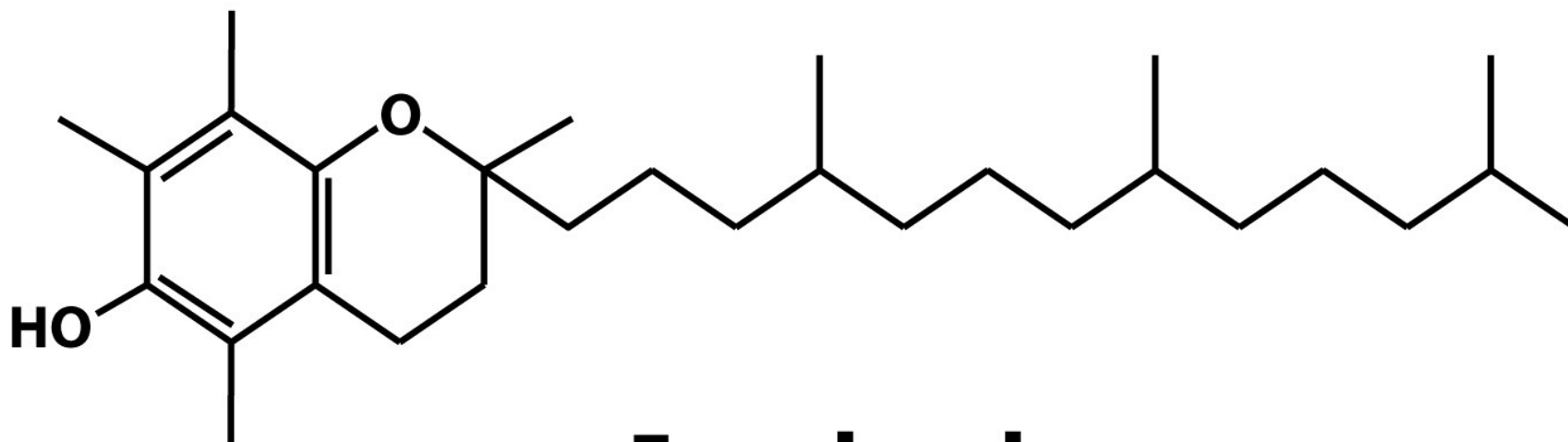


Phylloquinone
(vitamin K₁)



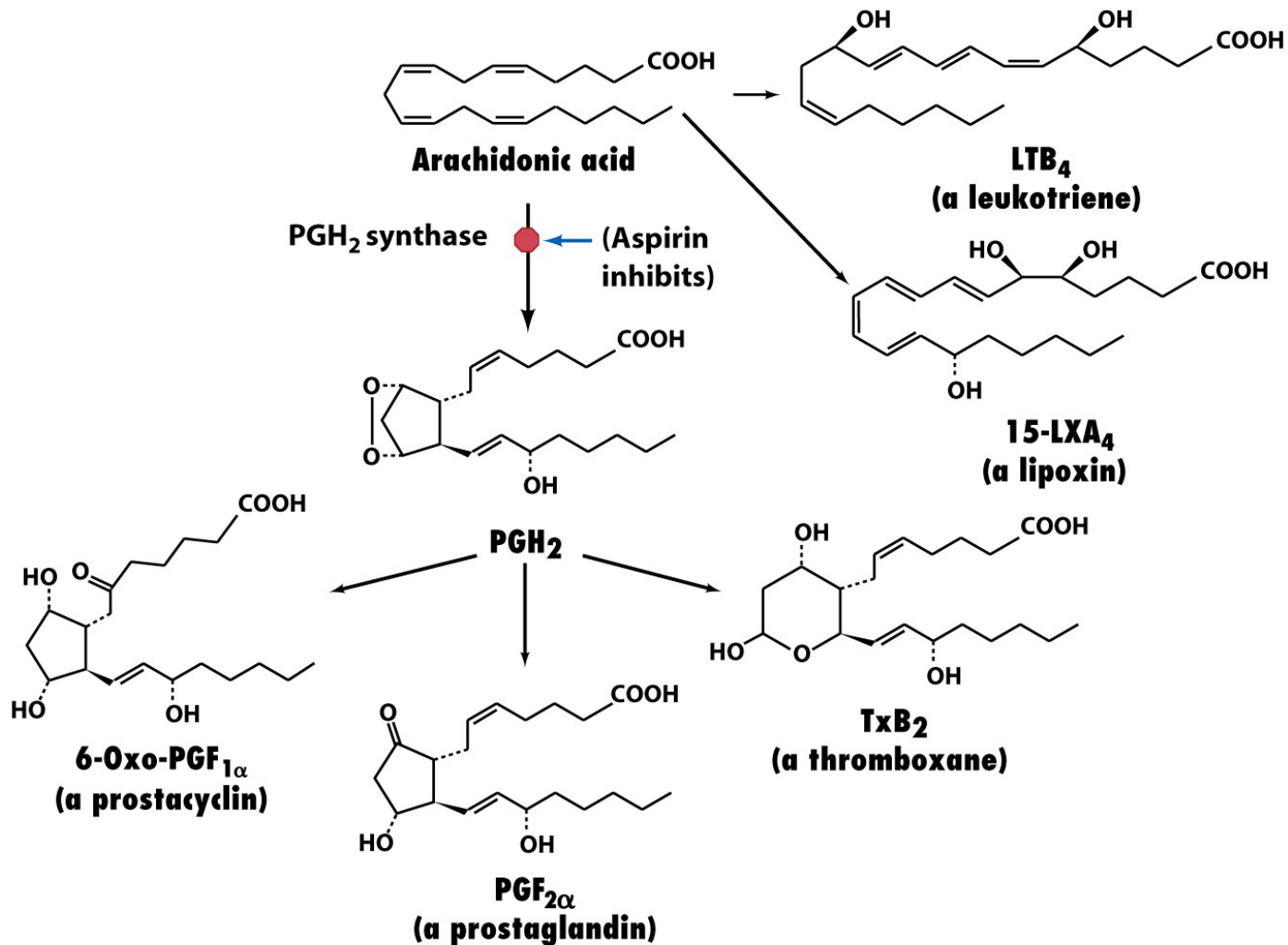
Menaquinone
(vitamin K₂)

Vitamin E - antioxidant v buněčných membránách - proti stárnutí.



**α -Tocopherol
(vitamin E)**

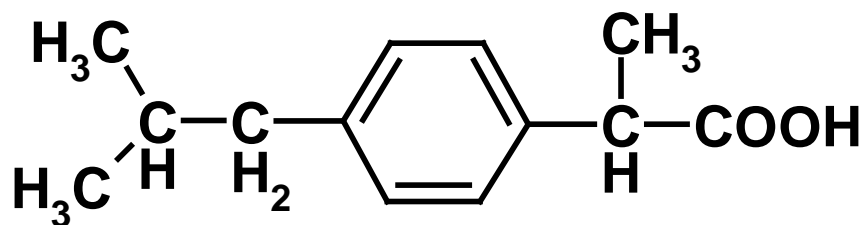
Eikosanoidy (20C) - deriváty arachidonové kyseliny. Prostaglandiny = prostacykliny, thromboxany, leukotrieny a lipoxiny



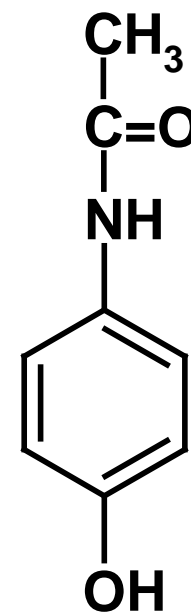
Eikosanoidy.

- Eikosanoidy působí při velmi nízkých koncentracích a způsobují bolest a horečku. Regulují tlak krve, srážení krve a reprodukci.
- Nejsou transportovány krví, ale působí lokálně v blízkosti buněk ve kterých se tvoří. Rozpadají se řádově v minutách a sekundách.
- Hlavním enzymem syntézy prostaglandinů je prostaglandin H_2 synthasa. Má dvě katalytické aktivity: cyklooxygenasa a peroxidasa. Označuje se COX !
- Aspirin inhibuje syntézu prostaglandinů acetylací specifického Ser prostaglandin H_2 synthasy.
- Další nesteroidní protizánětlivé látky jako ibuprofen a acetaminophen se nekovalentně váží na enzym a podobně blokují aktivní místo.

Nesteroidní inhibitory prostaglandin H₂ synthasy

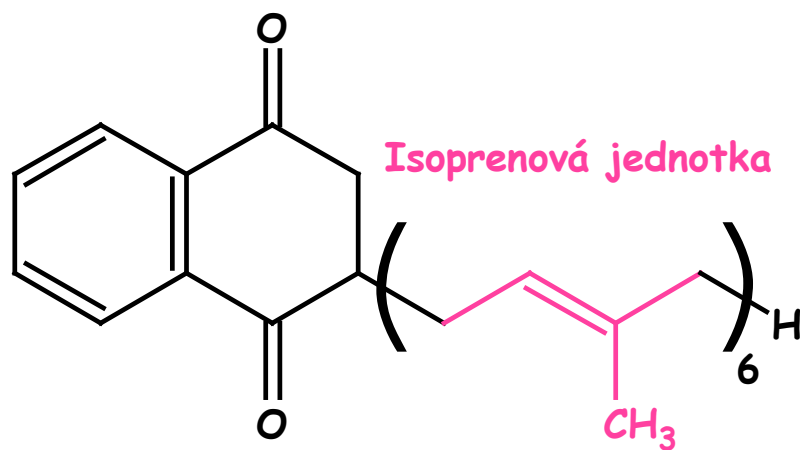


Ibuprofen

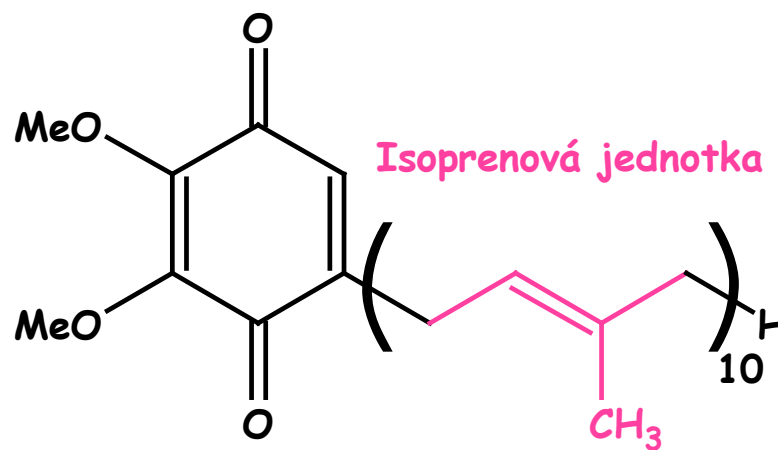


Acetaminofen

Vitamin K₂ a ubichinon

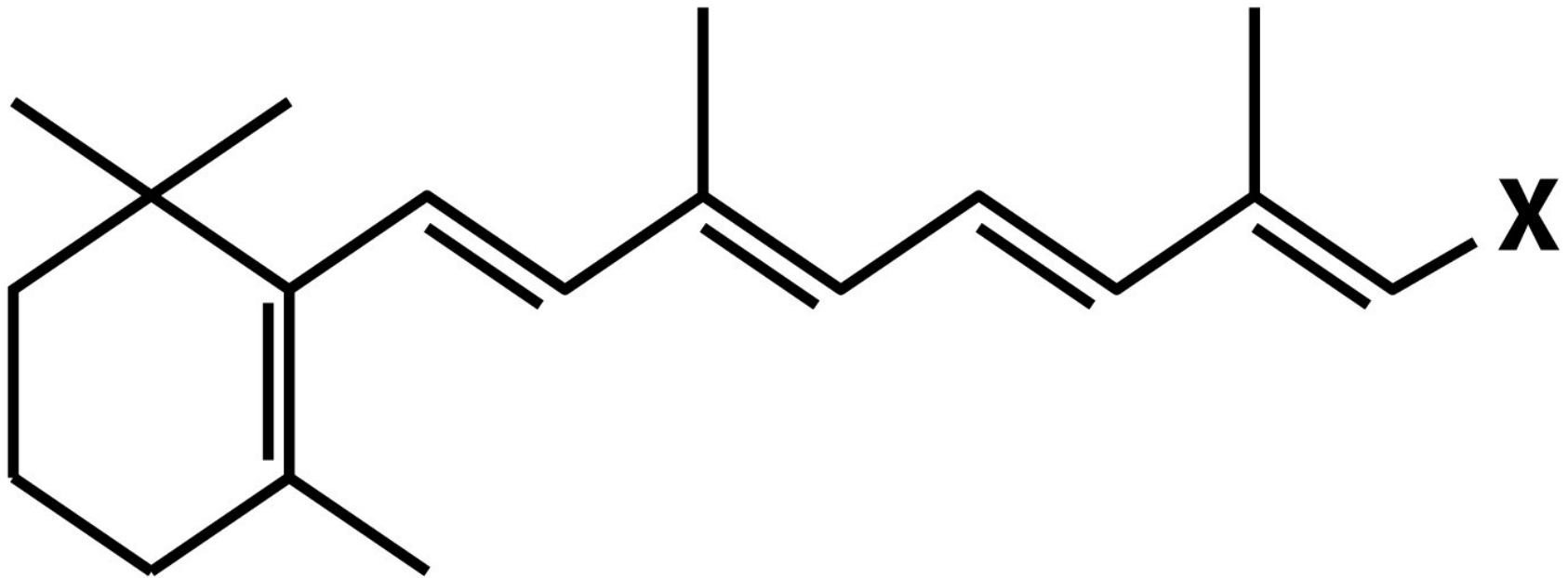


Vitamin K₂



Ubichinon
(Koenzym Q₁₀)

Vitamin A - produkt přeměny β -karotenu. Retinal je oční fotoreceptor.



X = CH₂OH

Retinol (vitamin A)

X = CHO

Retinal

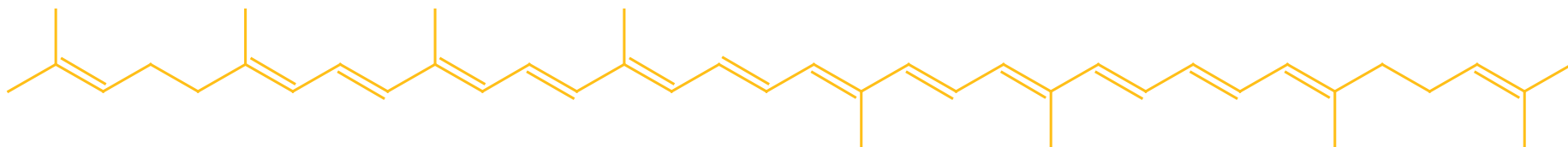
Fytol a karotenoidy

- **Fytol**-vedlejší řetězec chlorofylu je složen ze čtyř isoprenových jednotek.
- **Karotenoidy** - barviva rajčat a mrkve. Absorbují světlo, protože obsahují konjugované dvojně vazby (mezi 400 až 500 nm).
- Jejich C_{40} uhlíkatý řetězec je skládán z C_5 jednotek až po geranylgeranyldifosfát C_{20} , jehož dvě molekuly kondenzují způsobem hlava-ocas za tvorby fytoenu C_{40} .
- Fytoen přejde po dehydrogenaci na lykopen. Cyklizací obou konců lykopenu získáme β -karoten - prekurzor retinalu.

Fytol (20C) = diterpenový alkohol - prekurzor vitamínu E a K₁,
součást chlorofylu.



Karotenoidy

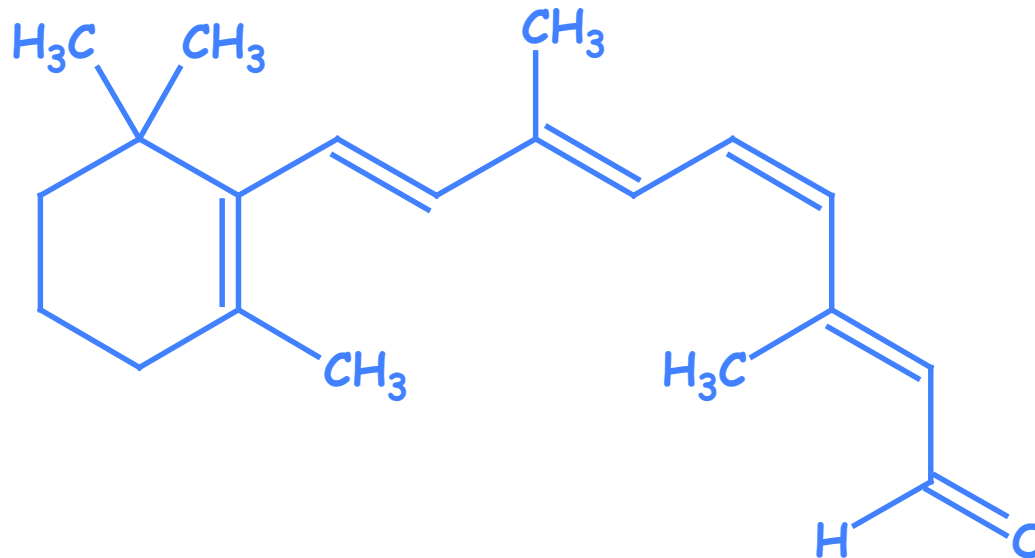


Lykopen



β -Karoten

Fotoreceptorová molekula rhodopsin sestává z proteinu opsin a **11-*cis* - retinalu** jako prosthetické skupiny. Absorpční maximum rhodopsinu je 500 nm.



11-*cis*-Retinal

Vlastnosti biologických membrán

- 1. Membrány tvoří vrstvené struktury o síle dvou molekul. Tloušťka membrán je mezi 6 nm až 10 nm.
- 2. Membrány obsahují hlavně lipidy a proteiny v poměru od 1 : 4 až 4 : 1.
- 3. Membránové lipidy jsou malé molekuly s částmi hydrofilními a hydrofobními. Vytváří lipidové dvojvrstvy.
- 4. Specifické proteiny zprostředkovávají různé funkce membrán. Proteiny slouží jako pumpy, kanály, receptory, přenašeče energie a enzymy.
- 5. Membrány jsou nekovalentní seskupení.
- 6. Membrány jsou asymetrické. Dvě strany biologické membrány se od sebe liší.
- 7. Membrány vytváří fluidní mozaiku.
- 8. Většina membrán je elektricky polarizována.

Plasmová membrána - fluidní mozaika.

Sacharidové komponenty (zelené a žluté kroužky) glykoproteiny a glykolipidy jsou jen na vnější straně membrány.

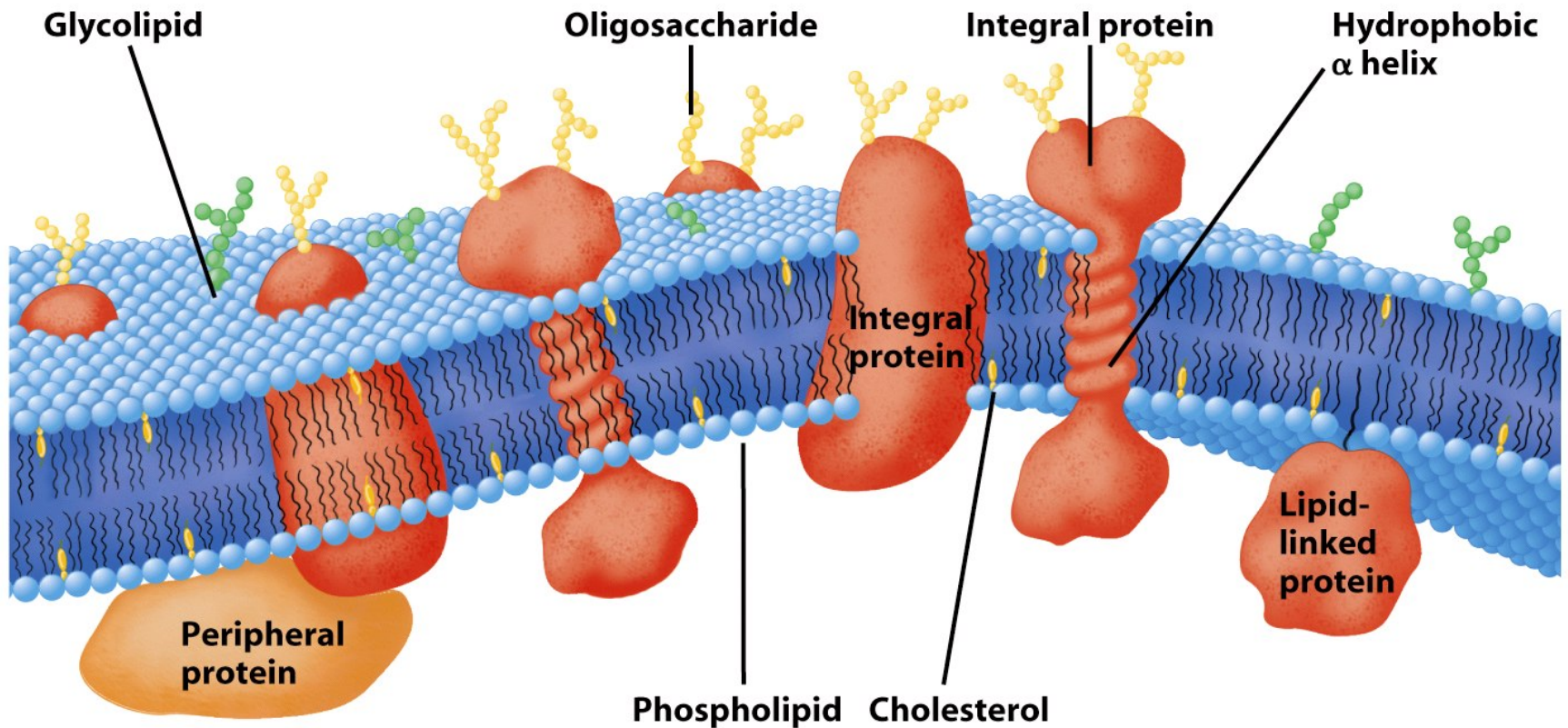


Figure 9-26 Fundamentals of Biochemistry, 2/e
© 2006 John Wiley & Sons

Řez plasmatickou membránou erythrocytu



Tři typy membránových lipidů:

- Fosfolipidy
 - Glykolipidy
 - Cholesterol
-
- Fosfolipidy sestávají ze čtyř složek: mastné kyseliny, glycerol - základ na který se váží mastné kyseliny, fosfát a na něj vázaný alkohol. Kromě glycerolu se jako základ může uplatňovat alkohol sfingosin.
 - Fosfolipidy odvozené od glycerolu se nazývají fosfoglyceridy.
 - Fosfoglyceridy obsahují glycerol na který jsou vázány dvě mastné kyseliny a fosforylovaný alkohol.