

Biochemie II

Jarní semestr 2012

Trávení a resorpce lipidů

Přeměny lipoproteinů

© 2012 Biochemický ústav LF MU (E.T.)

Trávení lipidů

Triacylglyceroly (TG)-90%

Fosfolipidy (PL)

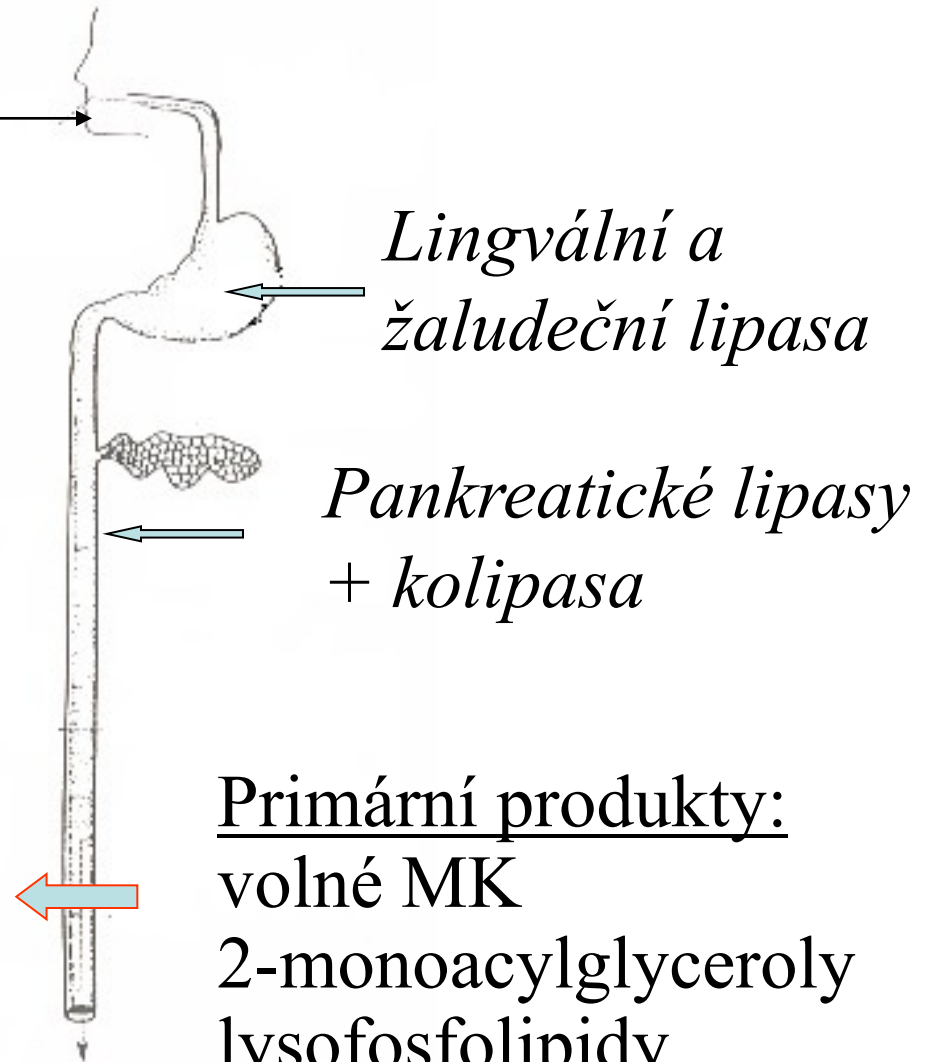
Cholesterolestery (CHE)

Glykolipidy (GL)

Lipofilní vitaminy (LV)

Žlučové kyseliny →

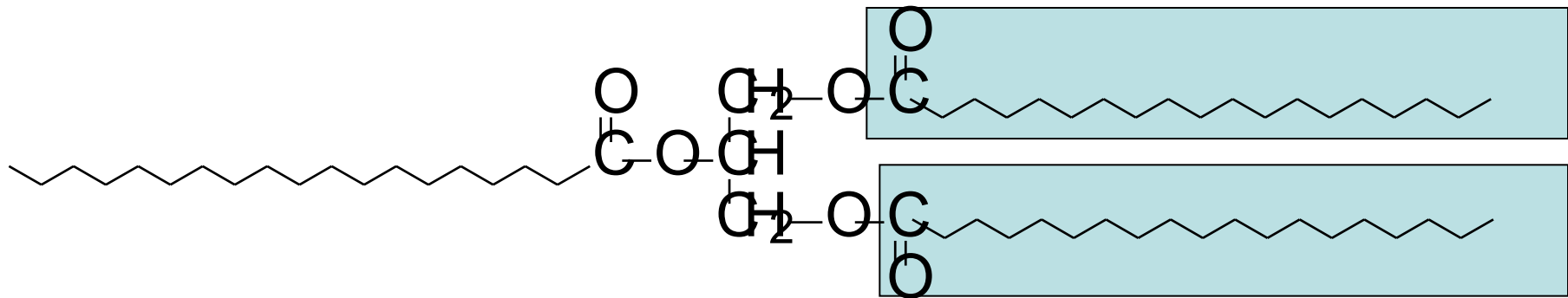
Resorpce do enterocytů
ve formě směsných micel
(částice < 20 nm)



Štěpení lipidů ve střevě pankreatickými enzymy

- **Pankreatická lipasa**

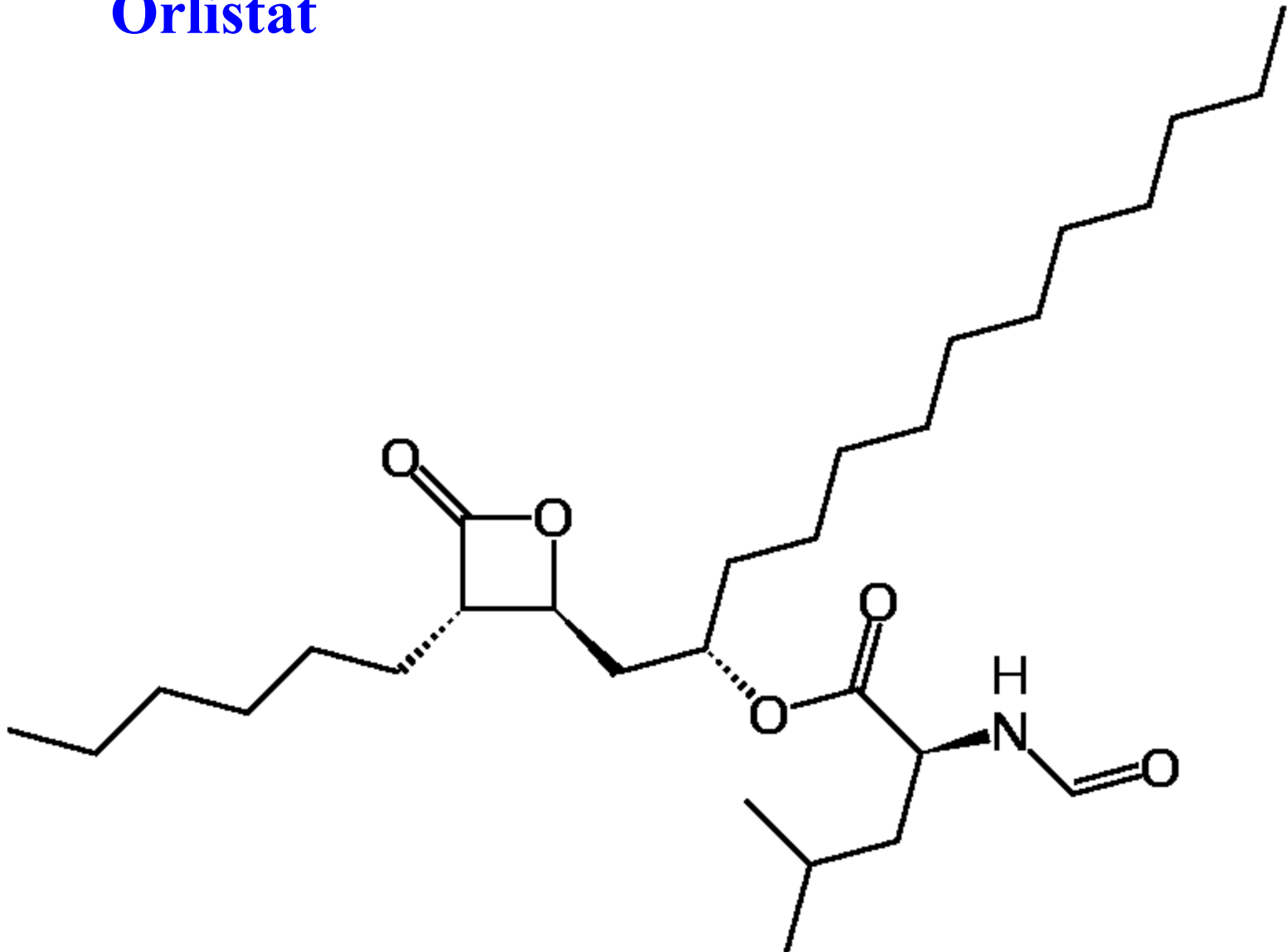
Triacylglycerol \rightarrow 2-monoacylglycerol + 2 MK



$< 1/4$ TG

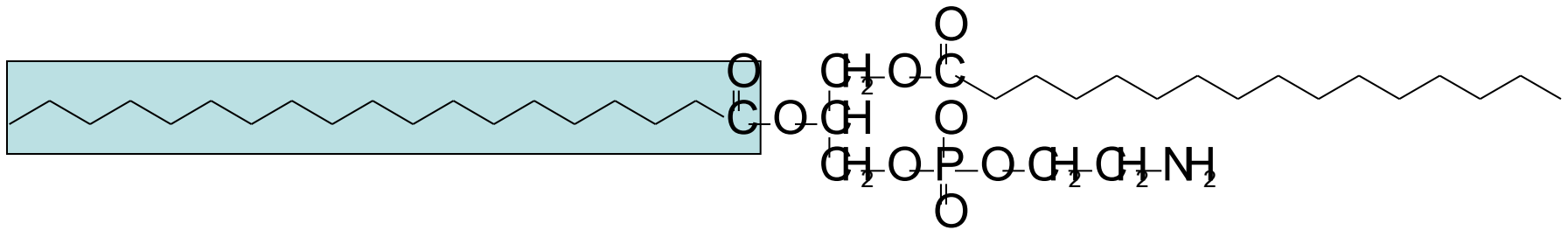
triacylglycerol \rightarrow glycerol + MK

Orlistat



- **Fosfolipasa A₂**

Fosfolipid → lysofosfolipid + MK



- **Cholesterolesterasa:**

Cholesterolestery → cholesterol + MK

Emulgace lipidů

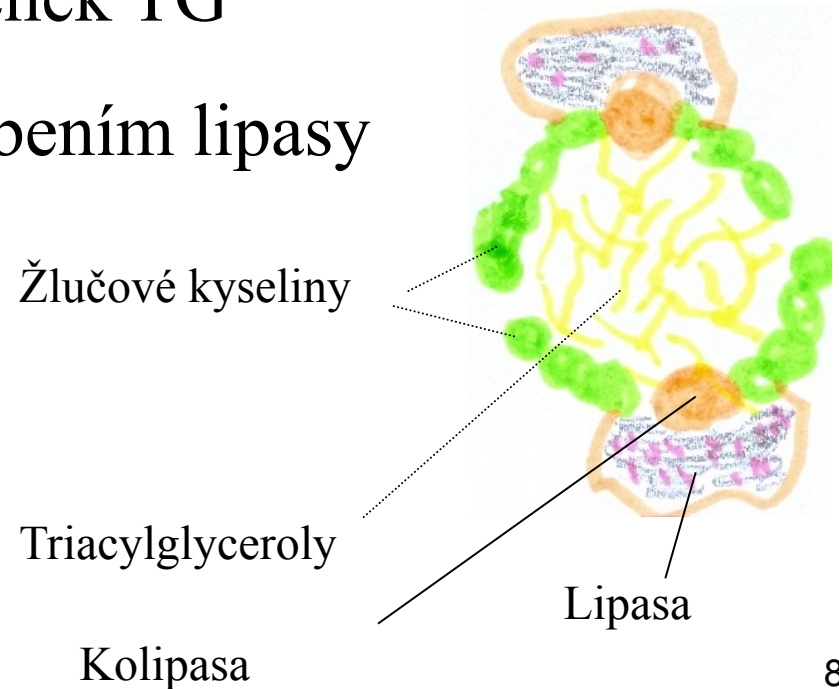
- je podmínkou účinného trávení hydrofobních lipidů
- zvýšení účinného povrchu olej-voda, umožnění přístupu enzymů

Emulgátory v tenkém střevě

- soli žlučových kyselin
- fosfolipidy
- soli mastných kyselin

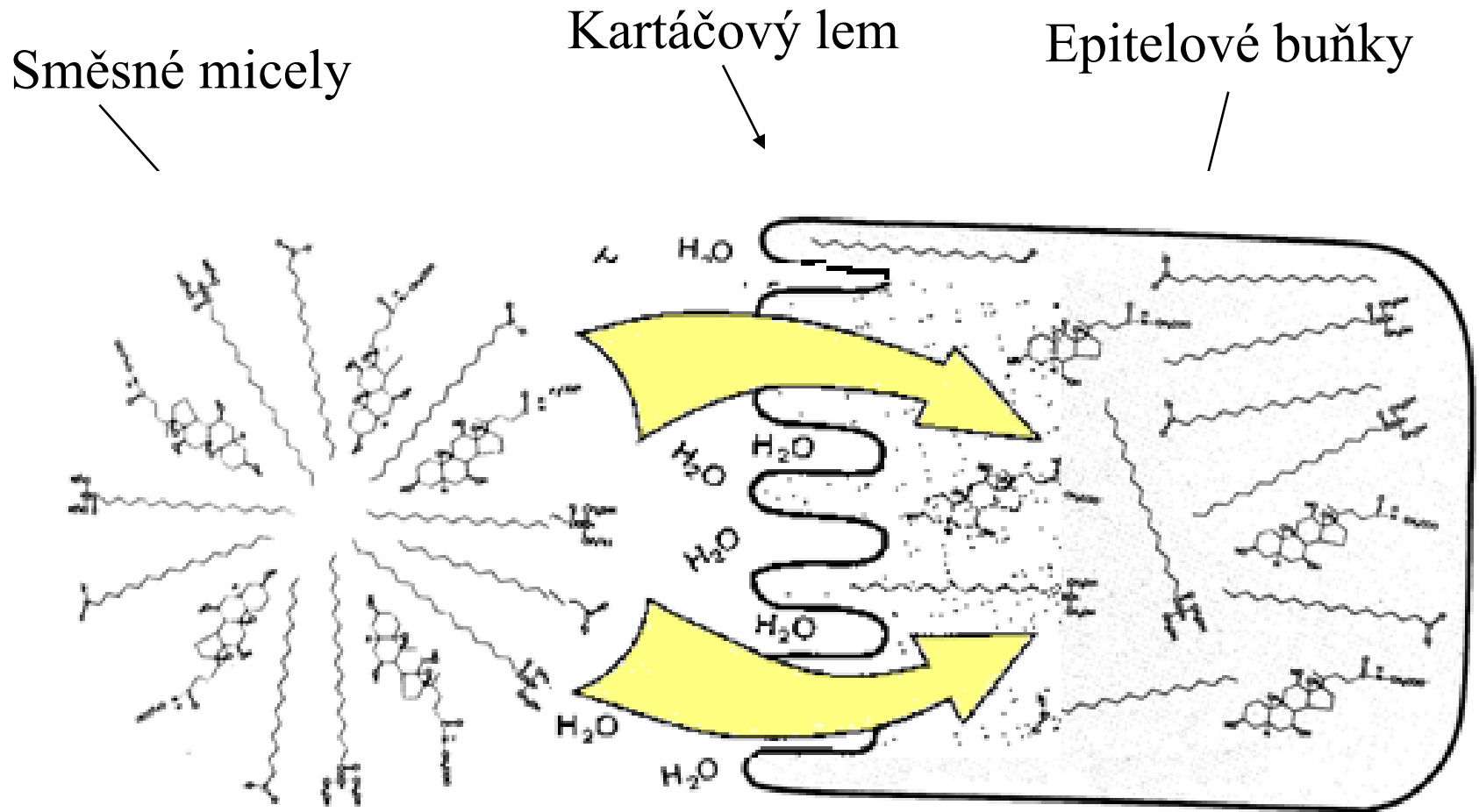
Kolipasa

- protein secernovaný z pankreatu
- váže se s lipasou 1:1
- váže lipasu ke žlučovým kyselinám na povrchu emulgovaných kapének TG
- umožňuje štěpení TG působením lipasy



Resorpce lipidů buňkami střevní sliznice

(hlavně v jejunu, žlučové kyseliny až v ileu)



Průměr < 20 nm

Pasivní difuze monoacylglycerolů a MK

Resorpce lipidů buňkami střevní sliznice – pokr.

- monoacylglyceroly a dlouhé mastné kyseliny přestupují difuzí ze směsných micel
- krátké mastné kyseliny (do 10 C) nevstupují do micel, jsou absorbovány přímo
- žlučové kyseliny postupují do ilea, zde je většina aktivním transportem zpětně resorbována
- transport cholesterolu je zprostředkován NPC1L1 (Nieman-Pick C1 like 1) (viz přednáška 1.ročník)

Hormonální kontrola trávení lipidů

Sekretin

- Je secernován do krve “S-buňkami“ duodena po stimulaci H^+ v lumen
- indukuje sekreci HCO_3^- z pankreatu

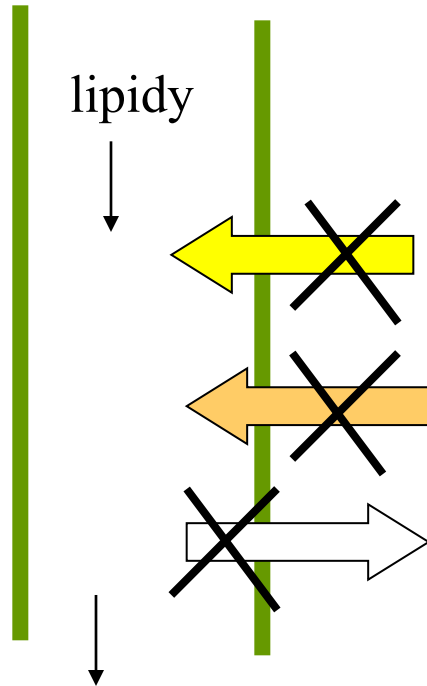
Cholecystokinin

- je secernován “I-buňkami“ duodena po stimulaci malými peptidy, AK, mastnými kyselinami v lumen
- sekrece amylasy, lipasy a proteas z pankreatu
- potencuje účinek sekretinu na vylučování HCO_3^-
- sekrece žlučových kyselin ze žlučníku

Steatorrhoea (lipidová malabsorpce)

ztráta lipidů stolicí

(normálně resorbováno ~ 98% lipidů z potravy)



Možné příčiny

Nedostatečný přívod žluče (porucha jater,
obstrukce žlučovýchodů)

Porucha ve funkci pankreatu

Porucha ve funkci střevní sliznice
(trávení probíhá, porušená resorpce)

Nadbytek lipidů ve
stolici

Nedostatečný příjem lipofilních vitaminů

Význam krátkých mastných kyselin ve výživě při malabsorpci

Mohou být resorbovány do enterocytů bez účinku žlučových kyselin

Resyntéza lipidů v epiteliálních buňkách střevní sliznice

1. Aktivace MK



2. Resyntéza triacylglycerolů



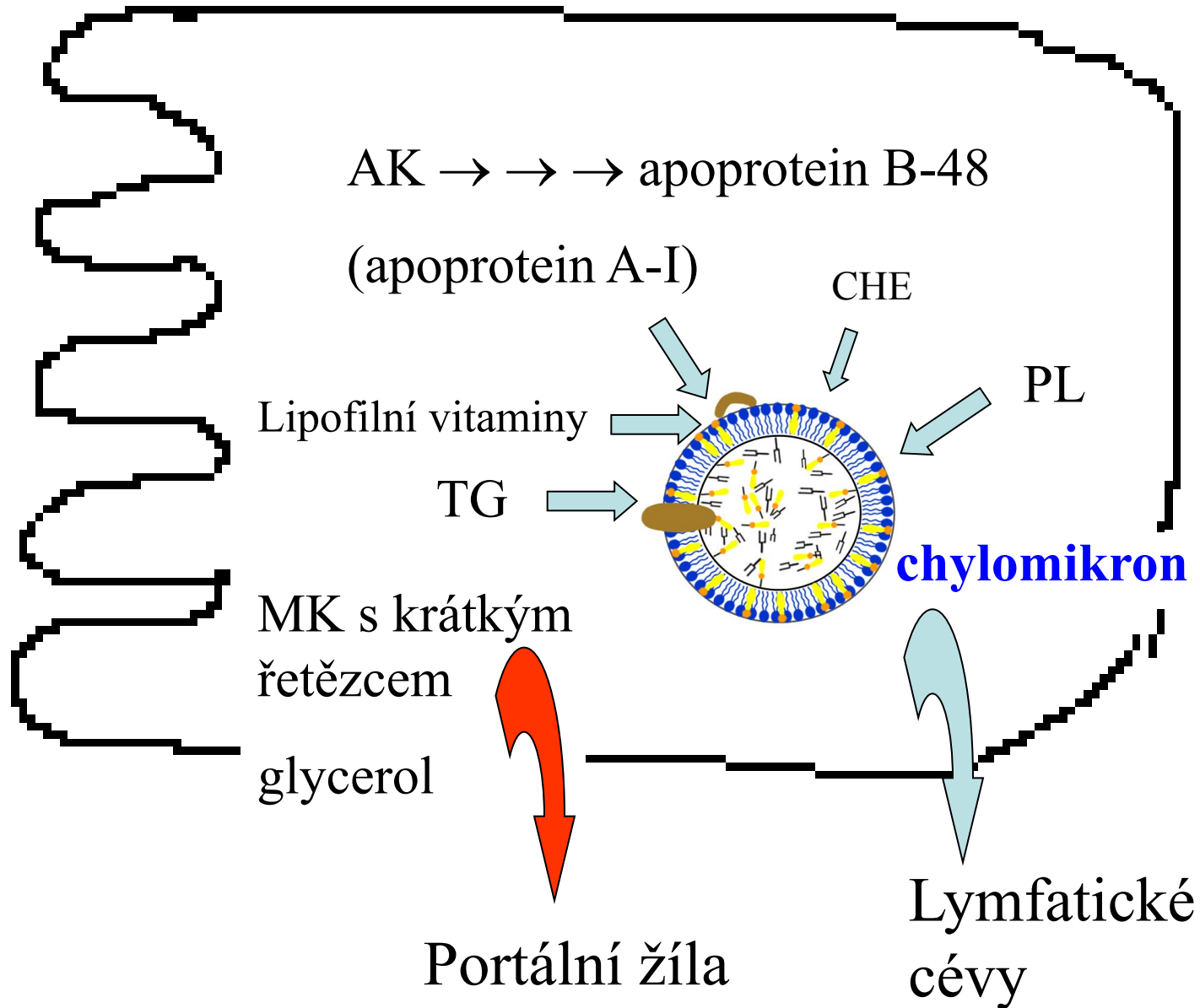
3. Resyntéza fosfolipidů z lysofosfolipidů

4. Resyntéza cholesterolesterů

Syntézy probíhají v ER

MK s krátkým řetězcem, volný glycerol → přímý transport do portálního oběhu – nezapojují se do syntézy

Transport lipidů z buněk střevní sliznice

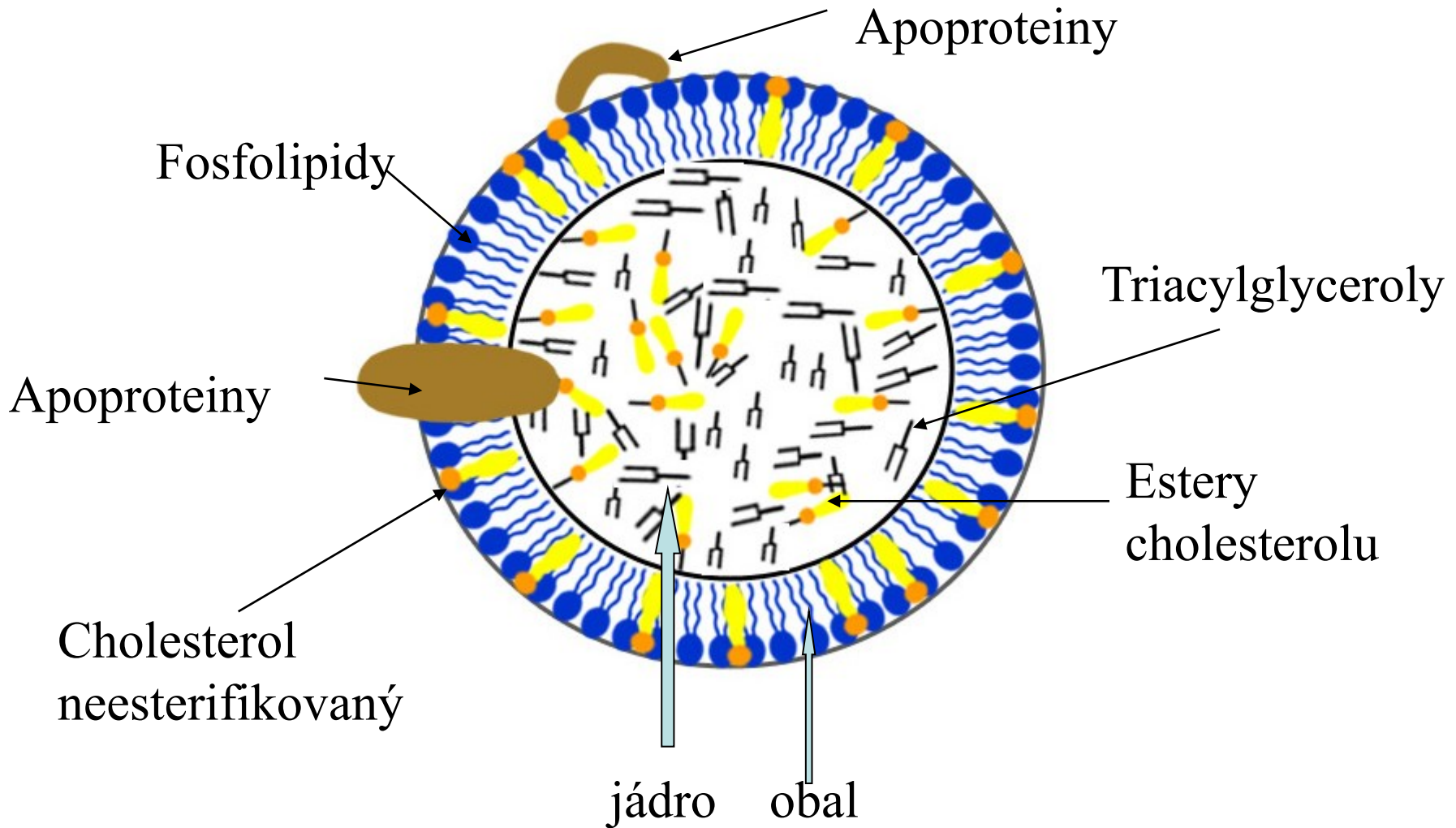


Lipidy v krevní plazmě

Transport ve formě lipoproteinů

Lipid	Koncentrace v plazmě (mmol/l)
Triacylglycerol	0,9 - 2
Celkový cholesterol	3,0 - 5,0
Neesterifikovaný cholesterol	~1,3 - 1,9
Celkový fosfolipid	1,8 - 5,8
Volné mastné kyseliny	0,4 - 0,8

Obecná struktura lipoproteinů



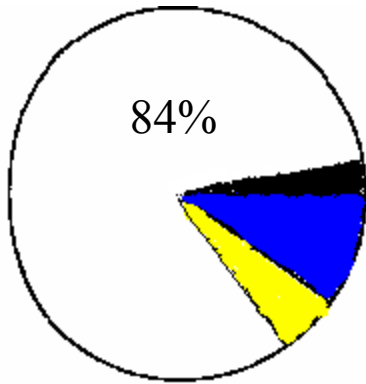
Typy lipoproteinů

TG

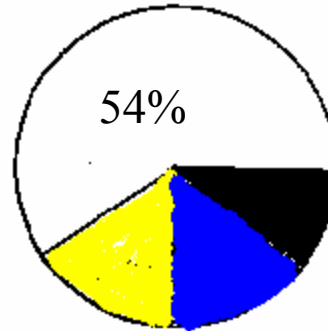
PL

CH

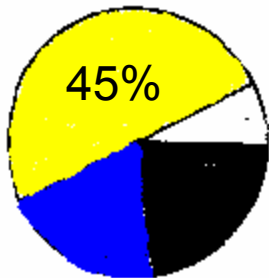
Prot



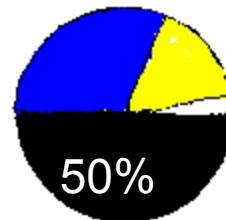
Chylomikron CM



VLDL



LDL



HDL

Charakteristika lipoproteinů

Třída	Průměr (nm)	Poločas přeměny	Hlavní lipid
CM	100-1000	~5-15 min	TG
VLDL	30-90	~2h	TG
IDL	25-35	~2h	TG/CHE
LDL	20-75	~2-4 dny	CHE
HDL	5-12	~10 h	PL/CHE

Separace lipoproteinů

- ultracentrifugace v roztoku soli
- elektroforéza
- (viz semináře a praktická cvičení)

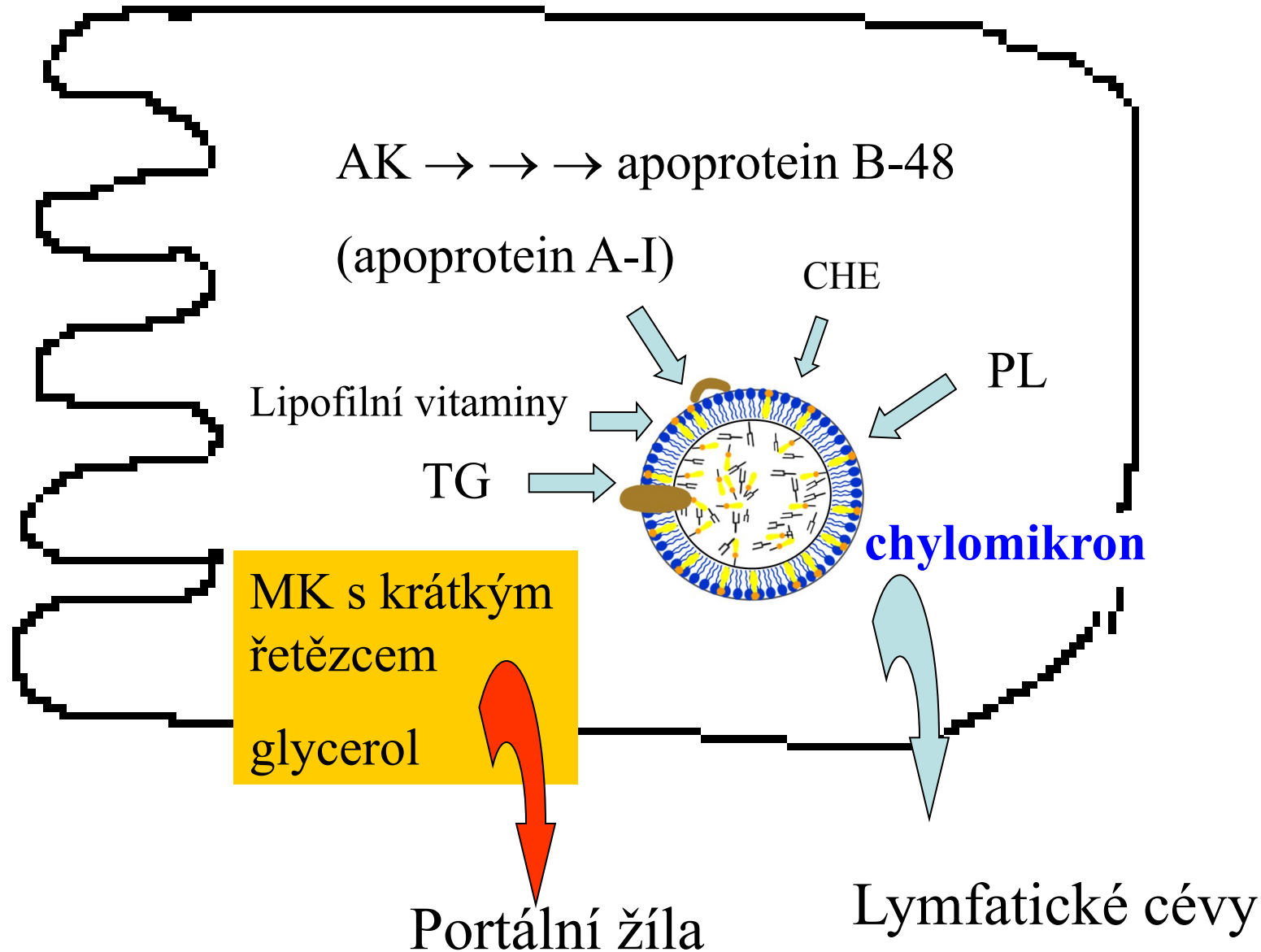
Apoproteiny

- proteinová složka lipoproteinů
- funkce AP: aktivátory a inhibitory enzymů
 interakce s receptory
 strukturální role
 (transportní)
- některé jsou vestavěny do LP (apo B), jiné jsou periferní a mezi částicemi se vyměňují
- syntéza v hrubém ER, připojení k lipidové micelle

Chylomikrony (CM) – vznik a metabolismus

- vznikají v absorpčních buňkách střevní sliznice
- **nesou TG, CH a lipofilní vitaminy přijaté potravou**
- obsahují apo-B 48, stopy apoA (jiné neumí střevní buňka syntetizovat), syntéza apoB-48 limituje tvorbu CM
- jsou reverzní pinocytosou uvolněny do extracelulárního prostoru a pronikají do lymfy
- prostřednictvím lymfatických cév jsou transportovány do krve (hrudní dučej) – plazma po jídle je zakalená

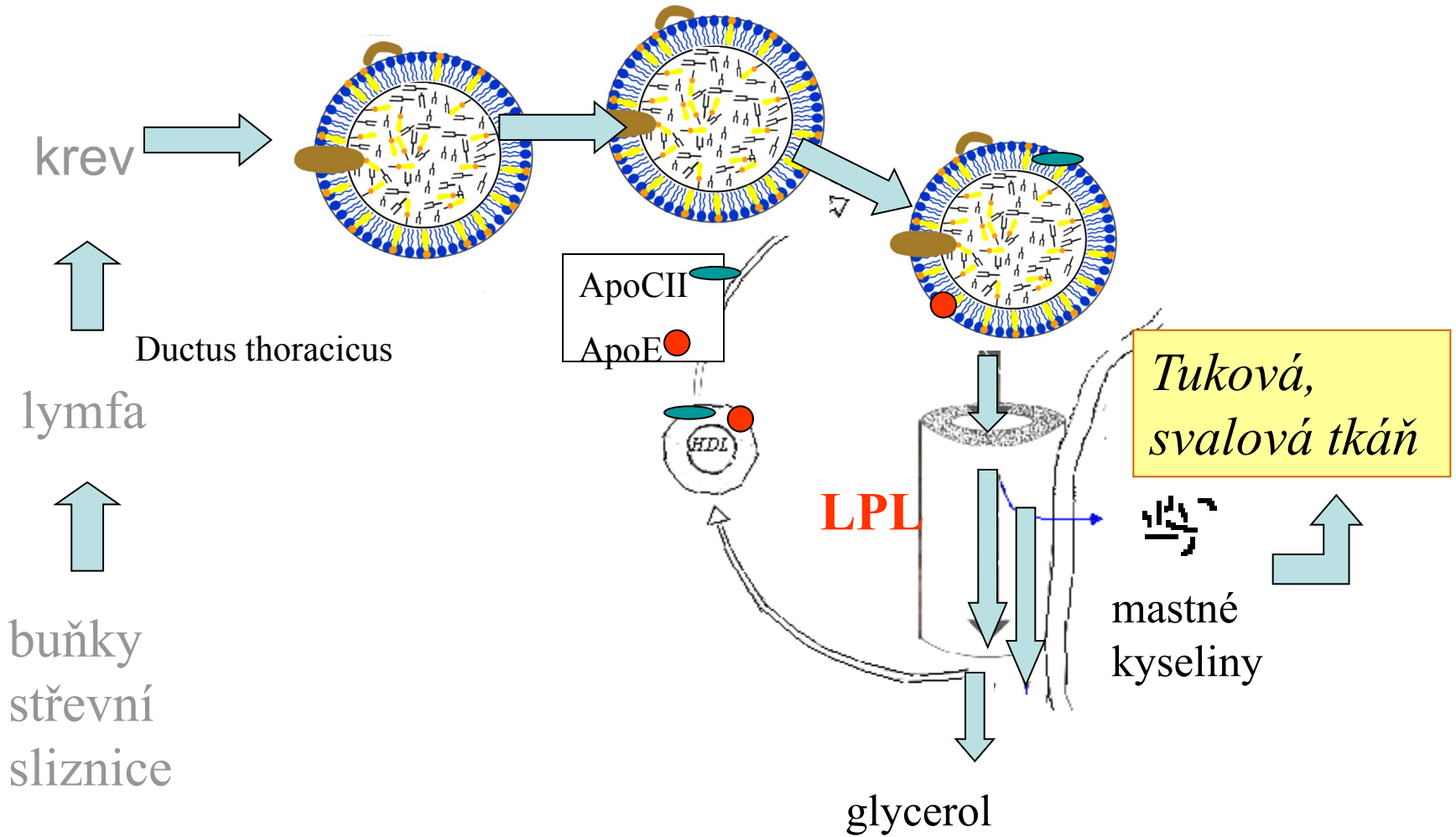
Vznik chylomikronů



Jaký je osud chylomikronů v krvi ?

- do krve vstupují přes ductus thoracicus 1-2 hod po zahájení jídla
- z HDL jsou na CM přenášeny apo E a apo C-II
- v krevních kapilárách na CM působí lipoproteinová lipasa (LPL)

Chylomikron v krvi (1.část)

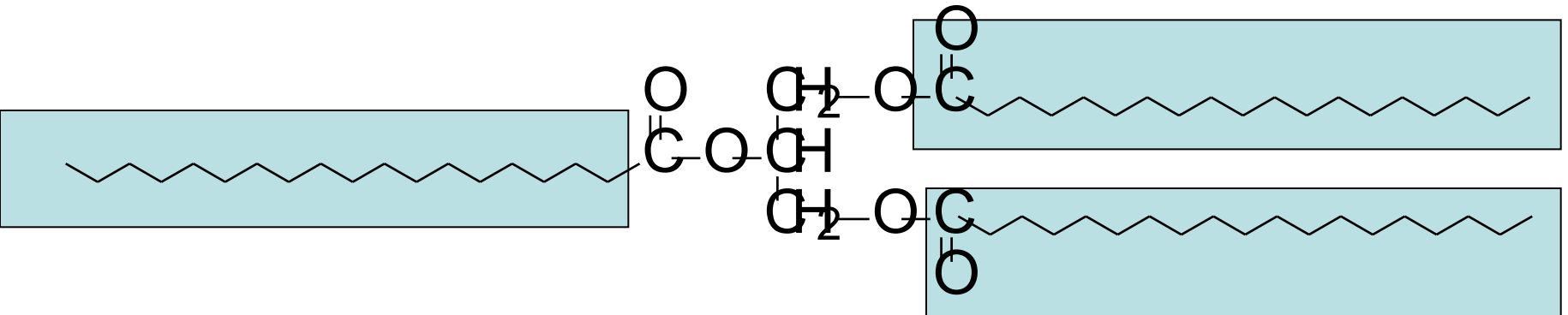


Lipoproteinová lipasa (LPL)

- negativně nabitý enzym na povrchu endotelových buněk kapilár tkání (vázáno pomocí heparansulfátu)
- přednostně se nachází na povrchu kapilár **tukové tkáně, srdečního a kosterního svalu**
- je aktivován apo-CII
- lze jej uvolnit heparinem (vyčerpání plazmy po injekci heparinu)
- syntéza isoenzymu v tukové tkáni je stimulována insulinem, v srdečním a kosterním svalu ne
- deficit LPL způsobuje triacylglycerolemii (1/1 000 000)

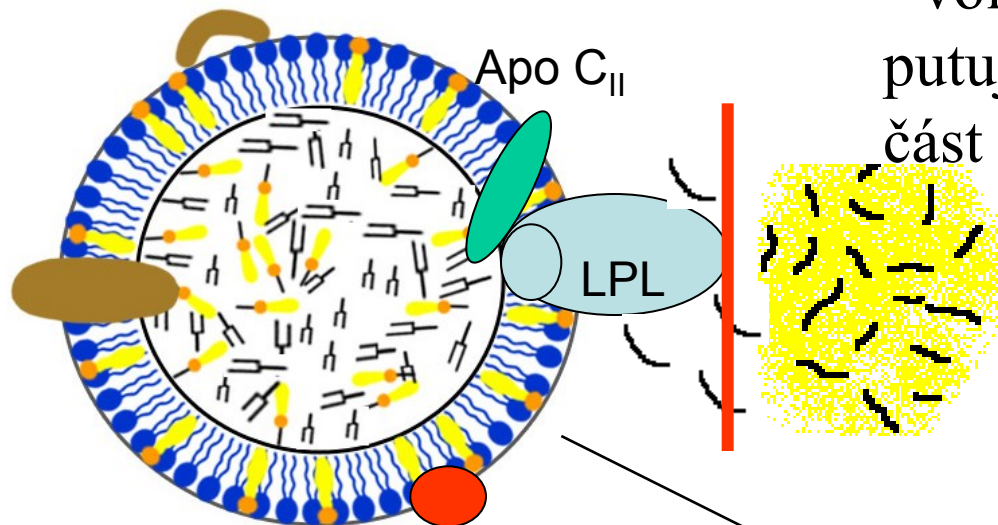
Účinek LPL

- lipoprotein se připojí na enzym vázaný na endotelu
- LPL katalyzuje hydrolýzu TG obsažených v cirkulujících lipoproteinech:



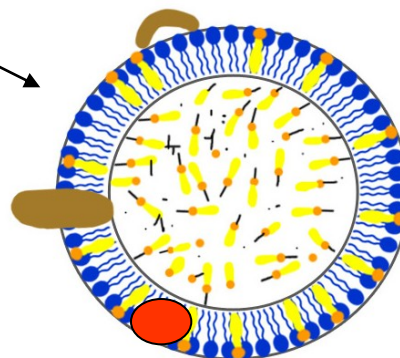
Účinek LPL na CM

CM



- volné mastné kyseliny putují přímo do tkání, část se vrací do plasmy

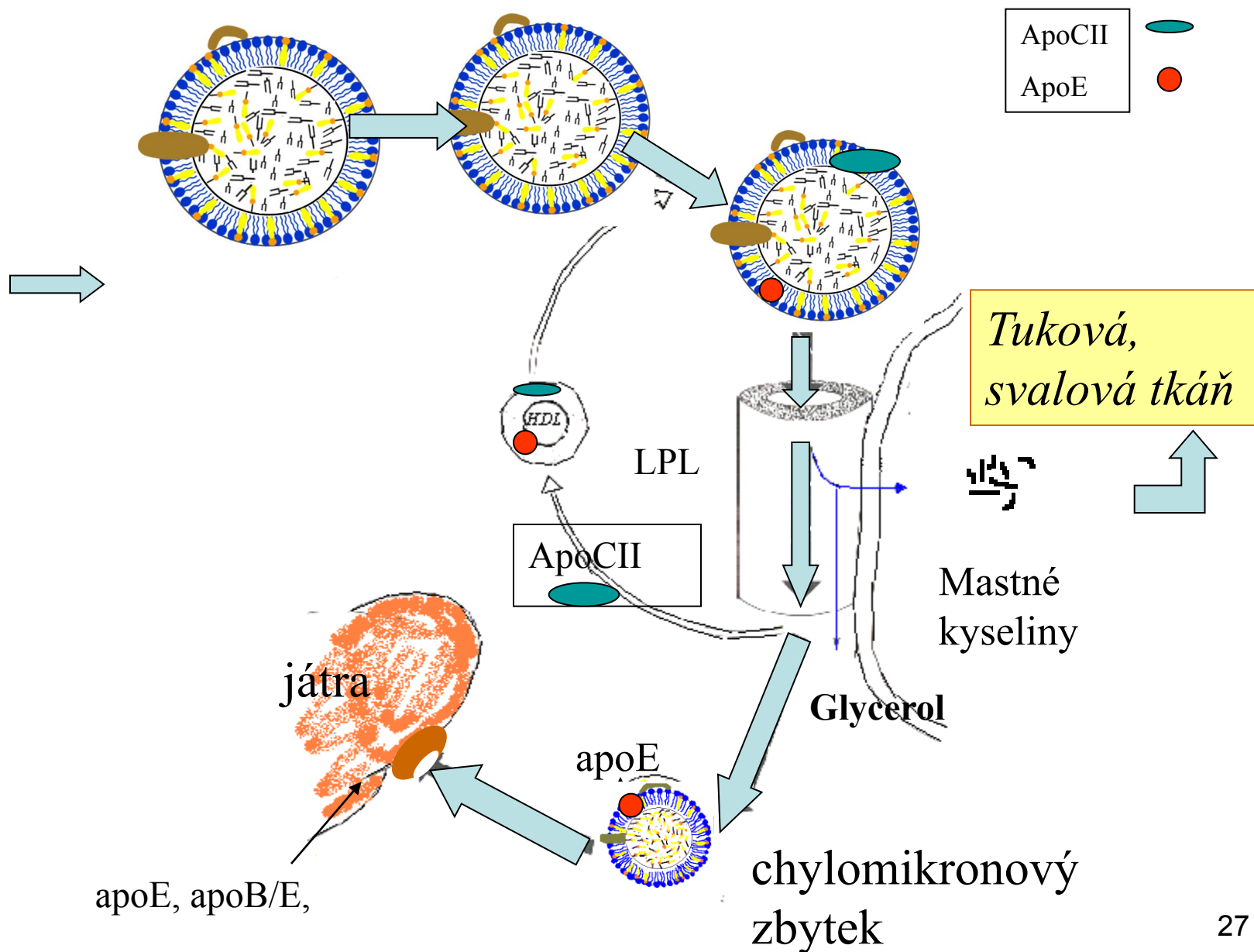
- lipoproteinová lipasa štěpí TG na mastné kyseliny a glycerol
- částice se zmenšuje, přechází na chylomikronový zbytek (může přejímat CHE z HDL)



CM-zbytek

vychytání
játry (Apo-E)

Chylomikron v krvi (2.část)



- LPL odbourává cca 90% TG v chylomikronech
- chylomikrony v krvi vymizí účinkem LPL do cca 30 min

Osud MK uvolněných působením LPL

- β - oxidace ve tkáních (svalová, myokard) - získání energie
- ukládání do TG v tukové tkáni - zásoba

Další osud chylomikronového zbytku

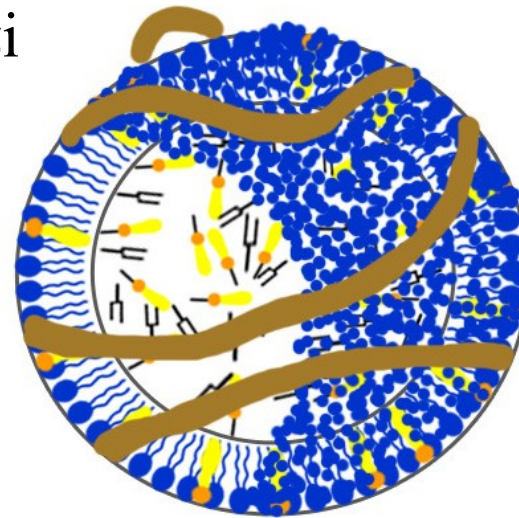
- vychytán játry (receptorově zprostředkovaná endocytóza)
- dva typy receptorů v játrech:
 - apo B,E (LDL receptor)
 - LRP (LDL receptor related protein –též apoE receptor)
- **tím se do jater dostává cholesterol přijatý potravou**

VLDL – vznik a metabolismus

- vznikají v hepatocytech
- **nesou CH převážně přijatý potravou**
- **nesou TG syntetizované v játrech**
- obsahují apo-B 100, malá množství Apo-A a Apo-C
- jaterním parenchymem vylučovány do Dissova prostoru, odtud do jaterních sinusoidů

Apo-B 100

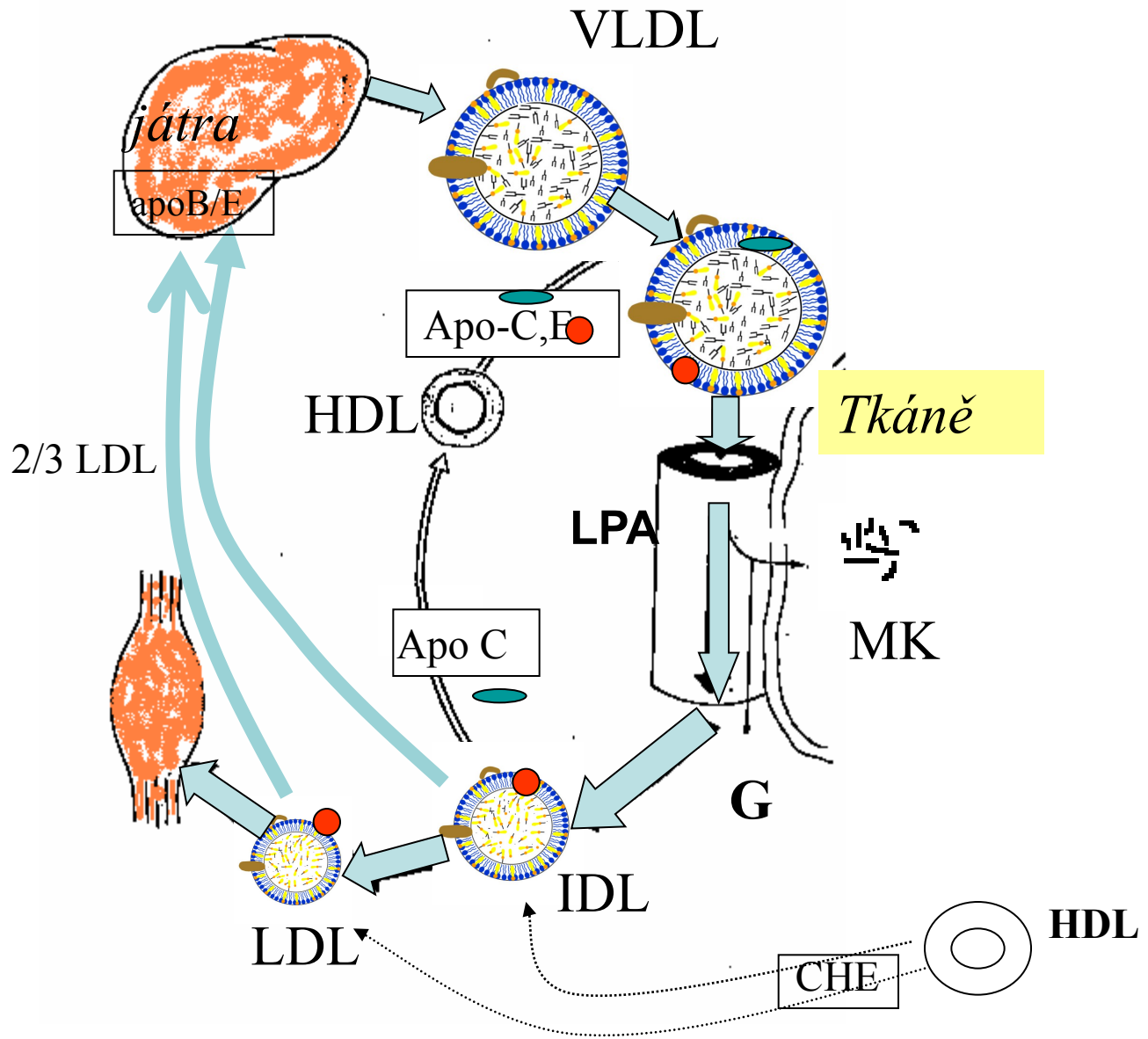
- apoprotein v LDL a VLDL
- Je integrálním proteinem
- velmi dlouhý řetězec (4 536 AK)
- stejný genetický základ apo-B 48 a apo-B 100 (stejná mRNA), apo-B 48 má jen 48% délky apo-B 100)
- syntéza apo-B 100 je inhibována insulinem, VLDL se mohou tvořit až v postresorpční fázi



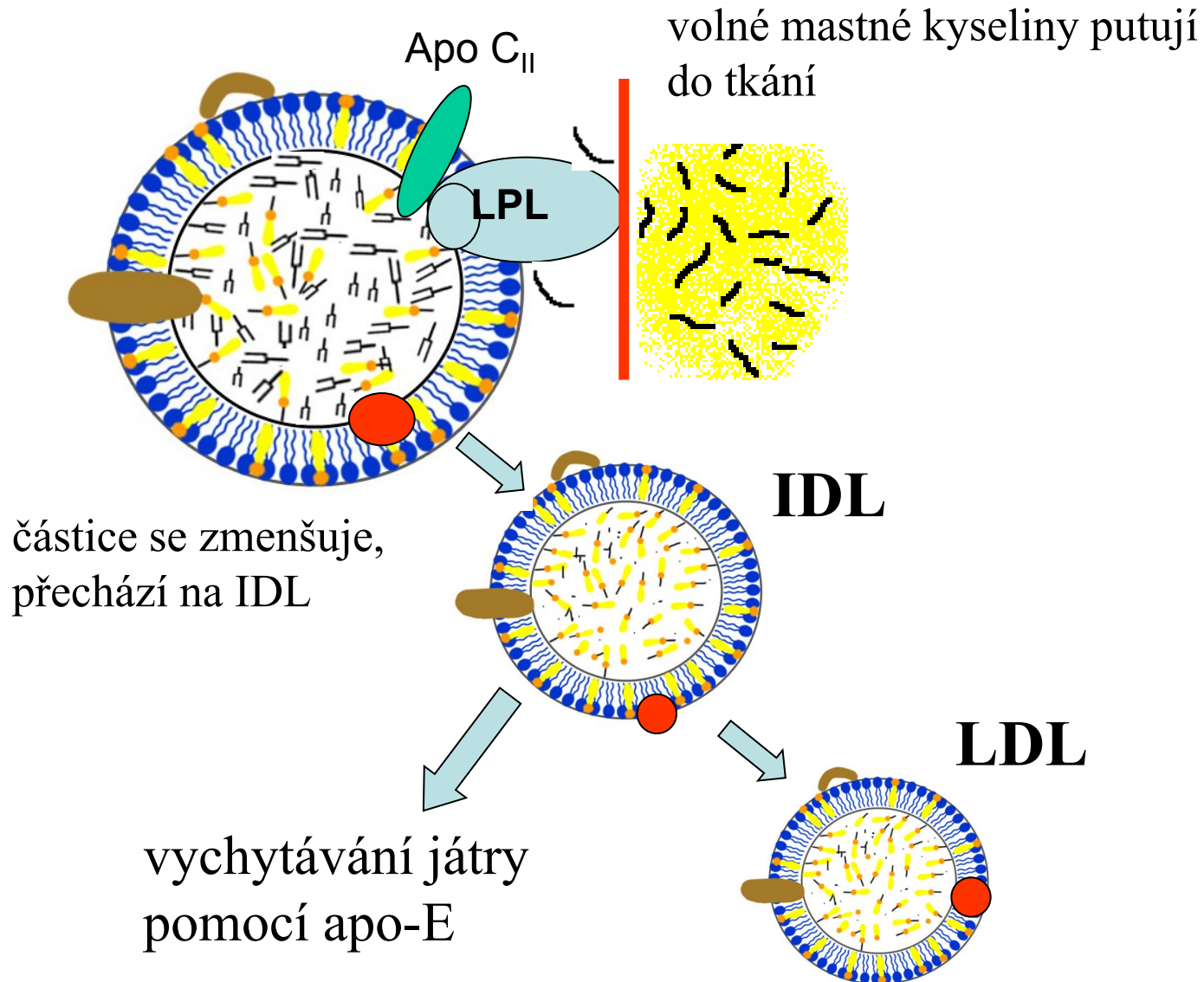
Z čeho pochází TG v játrech ?

- v játrech probíhá syntéza MK z acetyl-CoA
- acetyl CoA pochází převážně z metabolismu sacharidů (po jídle)
- volné mastné kyseliny mohou být vychytány i z krve (při hladovění)
- z MK jsou syntetizovány TG

Přeměny VLDL-přehled



Účinek LPL na VLDL



Metabolismus VLDL

- z HDL jsou na VLDL přenášeny apo E a apo CII
- v krevních kapilárách působí na VLDL lipoproteinová lipasa (srovnej metab. CM)
- triacylglyceroly jsou štěpeny na MK a glycerol
- VLDL se mění na IDL
- IDL jsou buď vychytány játry (apo B/E) nebo přeměněny na LDL

Jaterní lipasa

- enzym na luminální stěně jaterních sinusoidů
- obdobný účinek jako LPL
- působí na IDL, VLDL a HDL při průtoku krve játry a odbourává v nich TG
- je také uvolnitelná heparinem

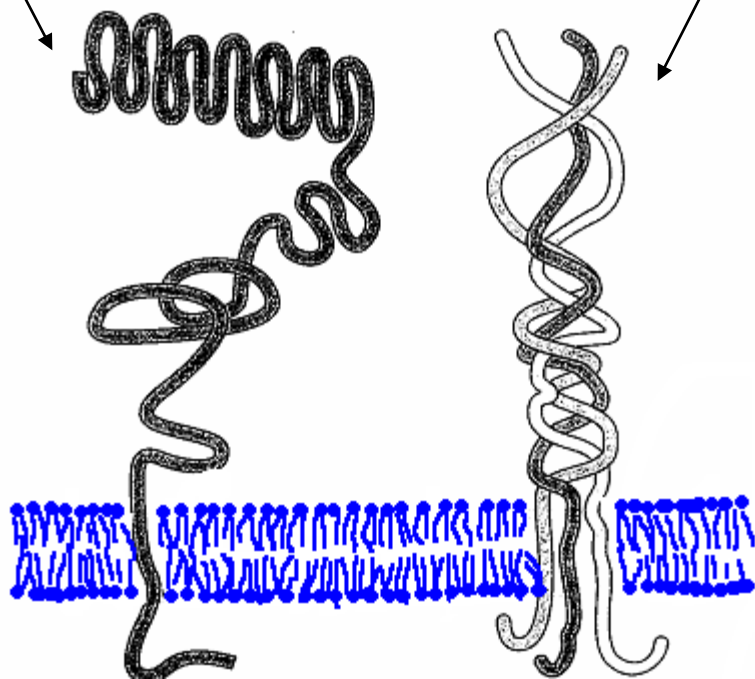
Další osudy IDL a LDL

- IDL i LDL mohou být obohacovány CHE z HDL (role cholesterol ester transfer proteinu CETP)
- IDL částice jsou vychytávány játry pomocí Apo-B/E receptoru
- LDL jsou vychytávány periferními tkáněmi (1/3) a játry (2/3) receptorově zprostředkovanou endocytózou (Apo-B/E)
- za fyziologických podmínek je během 24 hodin katabolizováno 30-40% vzniklých LDL

Receptory LDL

LDL receptor (apo B/E receptor)

je regulován intracelulárním obsahem cholesterolu



Nespecifické (scavengerové) receptory (SRA, SRB)

membránové receptory se širokou specifikou

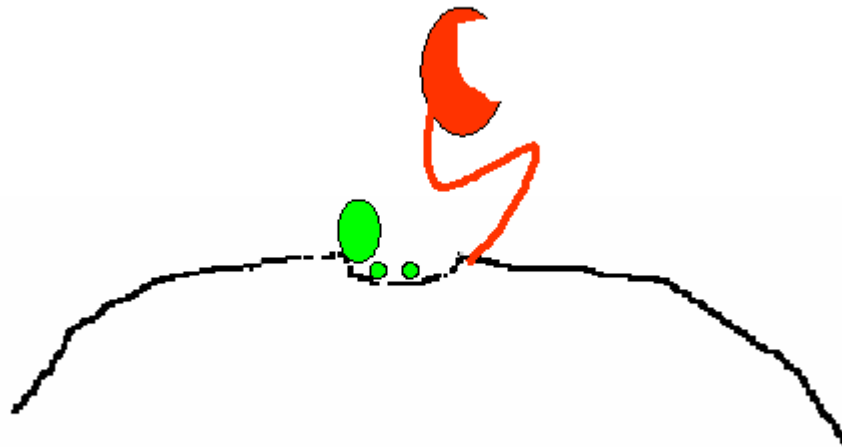
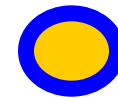
přítomny na povrchu fagocytujících buněk, cévního endotelu a Kupferových b. v játrech

nemají zpětnou regulaci

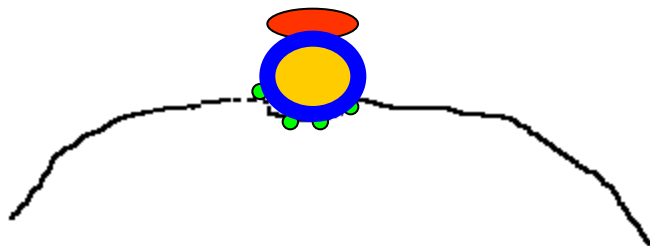
vychytávají poškozené a nadbytečné LDL

Vychytávání LDL pomocí specifických receptorů

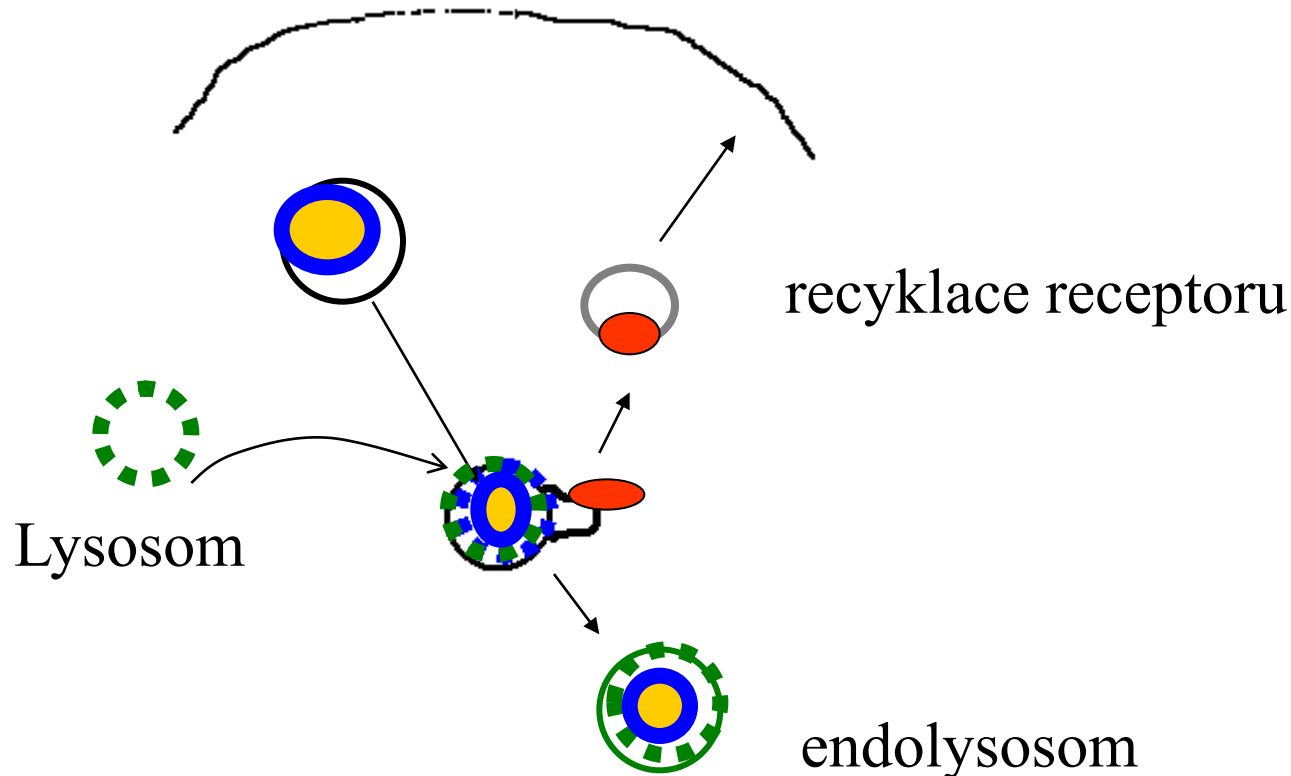
- LDL receptor je negativně nabitý membránový glykoprotein lokalizovaný na povrchu klatrinem povlečených jamek, váže apo E a apo B



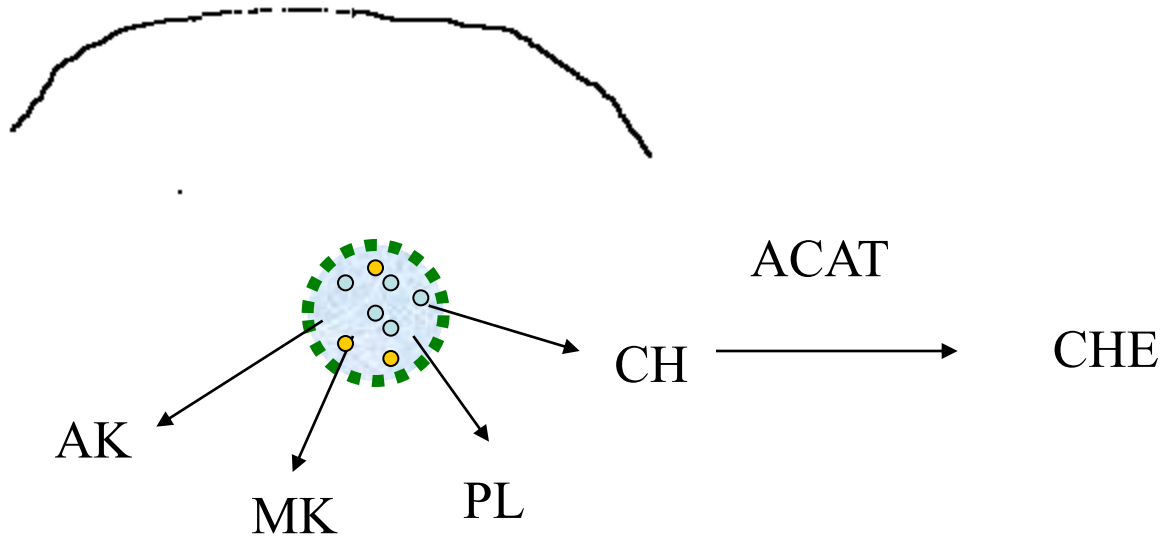
- po navázání LDL je komplex internacionalizován endocytózou



- vesikly obsahující LDL ztrácí klatrinový obal a fúzí s lysosomy za tvorby endolysosomů
- LDL se odděluje od svého receptoru, receptor migruje k okraji částice a recykluje zpět do membrány



- pH v endolysosomu klesá, lipoprotein v endolysosomu je degradován, uvolňuje se cholesterol, aminokyseliny, mastné kyseliny, fosfolipidy
- cholesterol je esterifikován ACAT (acylCoA-cholesterol-acyltransferasou) a uchován v buňce



Hladina cholesterolu v buňce je striktně regulována

- down- regulace příjmu ve formě LDL (zvýšená hladina cholesterolu v buňce reguluje počet LDL receptorů na **základě regulace transkripce** prostřednictvím SREBP)
- regulace syntézy cholesterolu



Familiární hypercholesterolemie

Defekt tvorby LDL-receptorů

v důsledku mutace genu pro LDL-receptor (u homozygotů 1/1000 000, u heterozygotů 1/500)

V krvi koluje velké množství LDL (ateroskleróza s rychlou progresí)

Buňka produkuje nadměrné množství cholesterolu

Zvýšené riziko srdečního infarktu



Charakteristické xantomy na šlachách

Vychytávání lipoproteinů scavengerovými receptory SRA a SRB

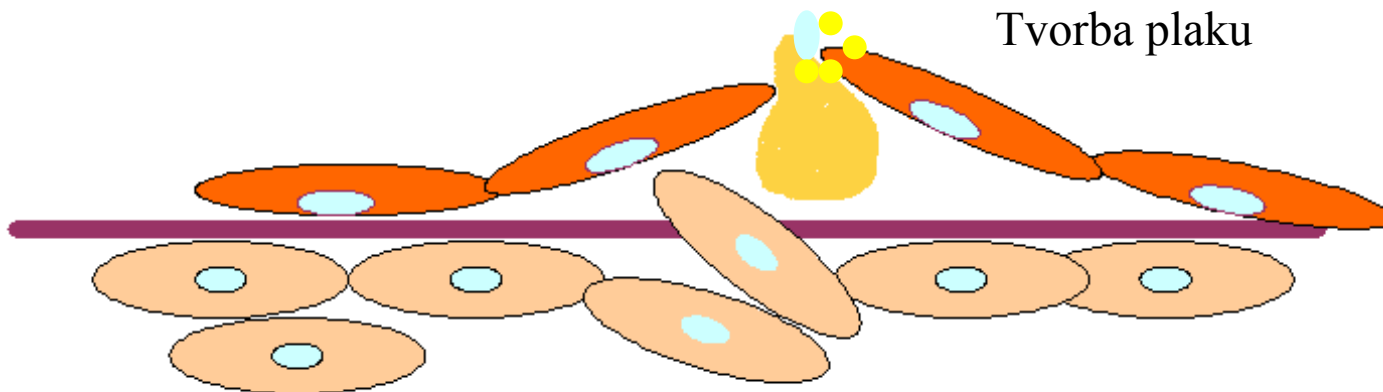
- receptory jsou přítomny na povrchu fagocytujících buněk (makrofágy v cévní stěně, v plicních alveolech a peritoneu, Kupferovy buňky, cévní endotel)
- **receptor nemá zpětnou regulaci**
- přednostně vychytává chemicky modifikované LDL (oxidované, glykované)
- vychytává též nepoškozené LDL, pokud kapacita jejich přirozeného vychytání je překročena

Tvorba pěnových buněk a vznik plaku

- makrofágy naplněné lipidy se stávají pěnovými buňkami
- mohou se akumulovat v subendotelové oblasti cév
- růstové faktory a cytokiny stimulují migraci buněk hladkého svalů a jejich proliferaci

Místo pro adhezi a agregaci destiček

Tvorba plaku



Vliv hormonů na vychytávání LDL v játrech

Insulin a trijodthyronin zvyšují vychytávání LDL játry,
Glukokortikoidy mají opačný efekt.

(mechanismus není znám)

Proč nekontrolovaný diabetes a hypothyroidismus jsou rizikovým faktorem aterosklerosy a jsou často spojeny s hypercholesterolemií?



Role HDL v metabolismu

reverzní transport cholesterolu (RTC)

- HDL přejímají cholesterol z periferních tkání a zprostředkují jeho transport do jater

Existuje několik typů HDL

- liší se velikostí, tvarem, obsahem lipidů a apoproteinů
- mají i různé funkce
- hlavní subfrakce dle denzity: HDL₂, HDL₃
- HDL podléhají v cirkulaci přeměnám (**remodelace HDL**)

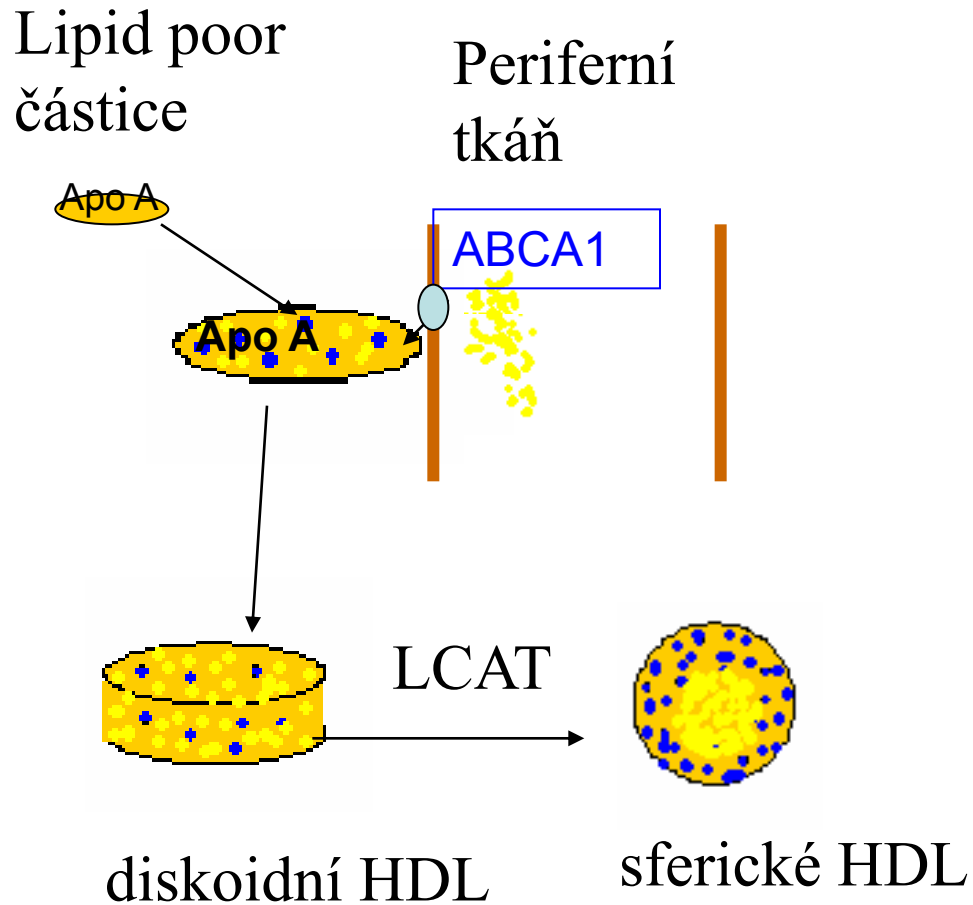
HDL – vznik a metabolismus

- základem HDL je apo AI a apo AII (z jater, apo AI též ve střevě), obsahují též apoC a apo E
- pro transport cholesterolu ze tkání mají význam malé částice tzv. „*lipid free*“ a „*lipid poor*“ apo A
- jsou secernovány játry a enterocyty a rovněž vznikají v cirkulaci z velkých HDL částic, povrchových vrstev VLDL a chylomikromů

Jak je cholesterol skladován v buňce?

- Estery cholesterolu jsou uchovány ve formě kapének cytoplazmě
- Reverzní transport cholesterolu je zahájen hydrolýzou pomocí cholesterylesterhydrolázy
- Volný cholesterol je transportován k buněčné membráně

Tvorba nových HDL



* Exprese genů pro ABCA1 je regulována množstvím cholesterolu v buňkách

V dalších přeměnách HDL hrají významnou roli:

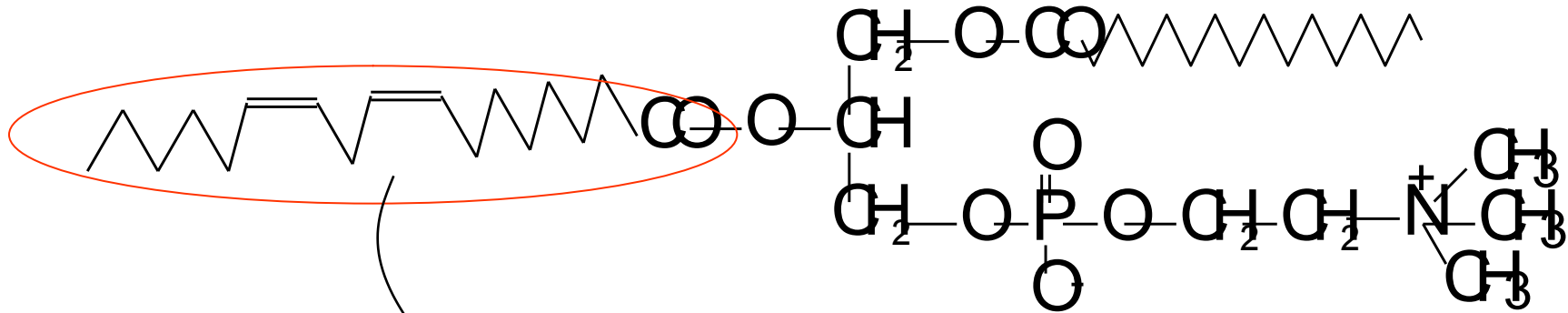
lecitincholesterolacyltransferasa (LCAT)

cholesterolester-transfer-protein (CETP)

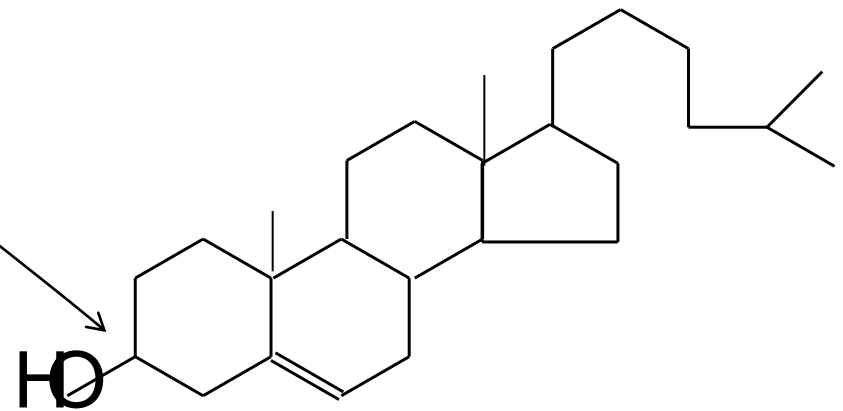
LCAT

- přenáší acyl MK z lecitinu (fosfatidylcholinu) na cholesterol
- plasmatický enzym, působí na povrchu HDL, je aktivován apo A-I

Funkce LCAT



- LCAT přenáší acyl MK na OH skupinu cholesterolu
- neesterifikovaný cholesterol se přeměňuje na esterifikovaný – ten je méně polární a objemnější, zanořuje se do nitra HDL
- deficit LCAT vede k zastavení zpětného transportu cholesterolu, HDL zůstává v diskoidní formě



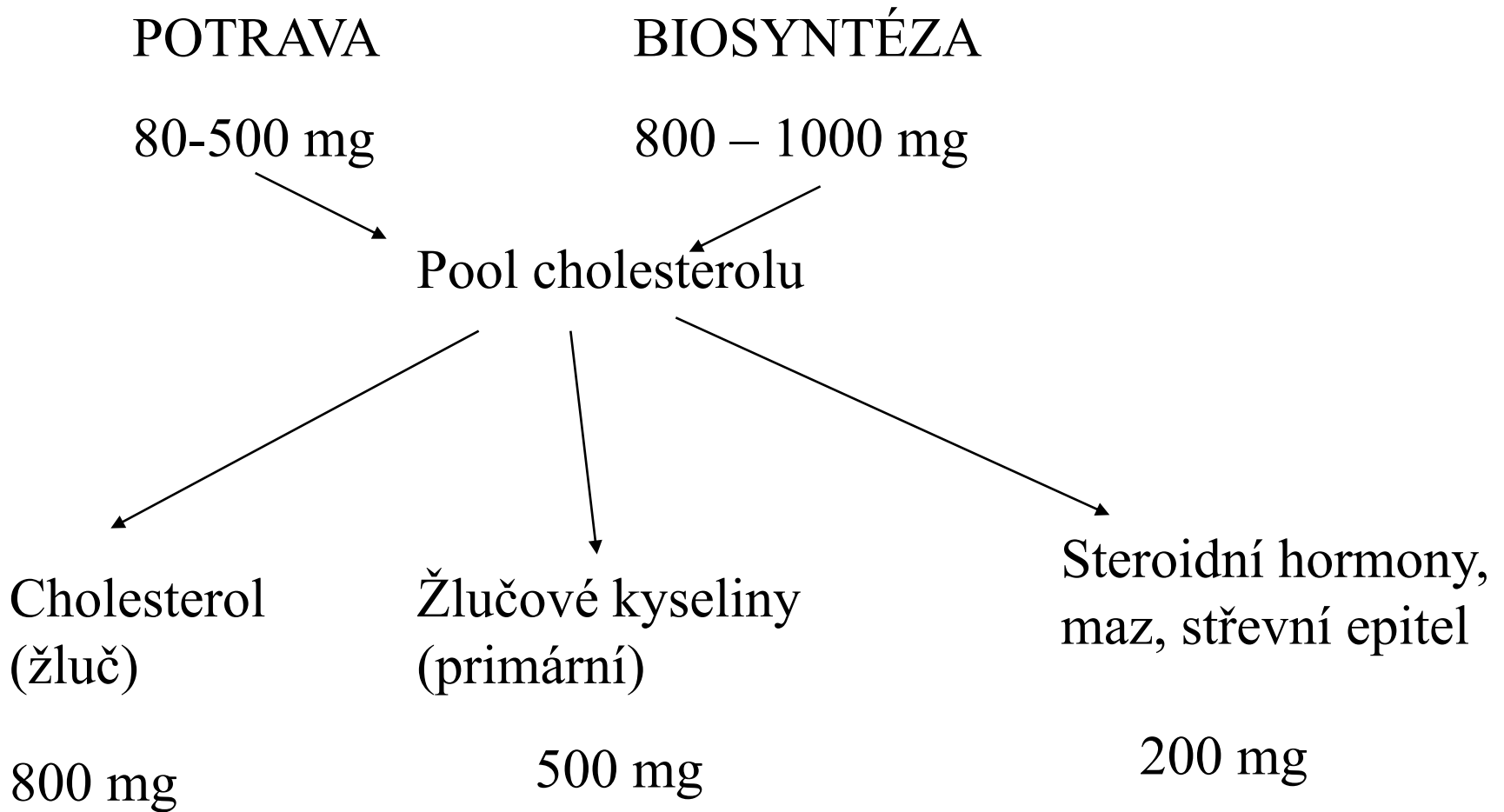
Další osudy HDL

- esterifikovaný cholesterol vznikající účinkem LCAT je nepolární a zanořuje se do nitra částice
- tak vznikají sferické HDL částice
- sferické HDL interagují s ostatními lipoproteiny
- rychlá esterifikace cholesterolu účinkem LCAT způsobuje, že většina HDL v plazmě má sférický tvar
- v játrech (a steroidogenních tkáních) jsou HDL vychytány pomocí SR-B I receptoru a pravděpodobně i dalšími mechanismy

SR-B1 receptor a vychytání cholesterolu v játrech

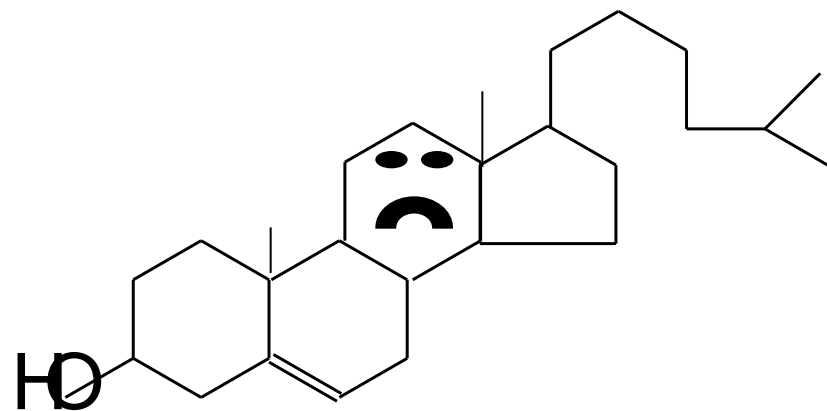
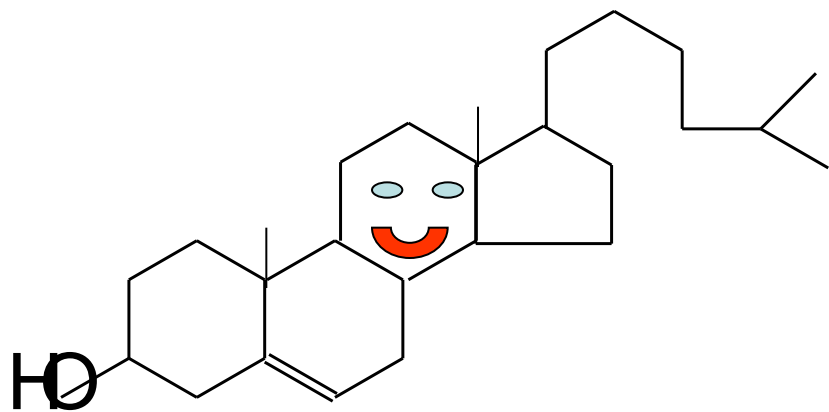
- HDL se váže na receptor
- nedochází k endocytose
- cholesterol je transportován do buněk
- HDL se po té odděluje od receptoru a vstupuje znovu do cirkulace
- exkrece cholesterolu do žluče je zprostředkována ABCG transportérem
- část cholesterolu je přeměněna na žlučové kyseliny

Bilance cholesterolu za 24 h

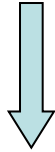


1000-1500 mg/den je vylučováno

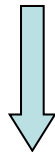
“Hodný” a “zlý” cholesterol



Zvýšený příjem cholesterolu nebo poruchy LDL receptorů
zvýšená hladina LDL v plasmě,

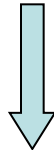


dlouhý poločas LDL, možnost oxidace MK



Poškozené a nadbytečné LDL jsou vychytávány SRA
receptory makrofágů, tvorba pěnových buněk

oxidované LDL jsou silně aterogenní



LDL cholesterol – zlý cholesterol

Vysoké hladiny HDL-cholesterolu

- prognosticky příznivý faktor pro riziko koronárních onemocnění

HDL-cholesterol = hodný cholesterol

Při zjištění vyšší hladiny cholesterolu v krvi je sledováno jeho zastoupení v LDL a HDL frakci – stanovení HDL- a LDL-cholesterolu – viz praktické cvičení

Lipoprotein (a)

- Lp(a) má obdobné složení jako LDL
- obsahuje apo B
- navíc obsahuje glykoprotein nazývaný apolipoprotein (a) [apo(a)], který je kovalentně vázán k apo B-100
- apo(a) má strukturu homologní s plazminogenem
- zvýšená hladina Lp(a) je nezávislým rizikovým faktorem aterosklerosy a trombózy (pacient normální koncentrace lipidů, ale zvýšený Lp(a)),
- teorie: Lp(a) zpomaluje odbourání krevní sraženiny v důsledku kompetice s plazminogenem ve vazbě na fibrin a může usnadňovat vazbu molekul LDL na stěny arterií