

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Kyselina myristová a zánět  
Adéla Stýblová

Bakalářská práce

2019

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2018/2019

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Adéla Stýblová**  
Osobní číslo: **C16278**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Název tématu: **Kyselina myristová a zánět**  
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Seznamte se s významem kyseliny myristové v lidském organismu, uveďte její biosyntézu, metabolismus, funkci v organismu jako lipokinu, se zaměřením na vztah k zánětu, ateroskleróze a poškození cévní stěny. Proveďte literární rešerši k této problematice, při vyhledávání literárních údajů využijte databázi MEDLINE.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**  
Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**  
Seznam odborné literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **MUDr. Vladimíra Nováková Mužáková, Ph.D.**  
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **21. prosince 2018**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **4. července 2019**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.  
děkan

L.S.



prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2019

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 1. 7. 2019

Adéla Stýblová

## **PODĚKOVÁNÍ**

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucí mé bakalářské práce MUDr. Vladimíře Novákové Mužákové, Ph.D. za čas, který mi věnovala, a také za rady a informace poskytované k této práci, které přispěly k úspěšnému dokončení. Dále patří velké poděkování celé mé rodině, která mě při studiu vždy podporovala.

## **ANOTACE**

Kyselina myristová patří do skupiny nasycených mastných kyselin s dlouhým řetězcem. V nedávné době byly objeveny její nové role v lidském organismu. Kyselina myristová je potřebná k acylaci proteinů, v organismu funguje jako hormon lipidové povahy nazývaný lipokin. Množství kyseliny myristové přijímané potravou ovlivňuje koncentraci HDL i LDL lipoproteinů v krvi a má roli v indukci chronického zánětu, která je způsobená interakcí se specifickými receptory.

### **KLÍČOVÁ SLOVA:**

kyselina myristová, nasycené mastné kyseliny, zánět, lipokin, ateroskleróza

**TITLE**

Myristic acid and inflammation

**ANNOTATION**

The myristic acid belongs to the group of saturated fatty acids with long chain. Its new roles have recently been discovered in human organism. Myristic acid is needed to protein acylation, it functions as a lipid-like hormone called lipokin in organism. Dietary intake of myristic acid affects the concentrations of HDL and LDL lipoproteins in blood, it has role in induction of chronic inflammation, which is caused by an interaction with specific receptors.

**KEY WORDS:**

myristic acid, saturated fatty acids, inflammation, lipokine, atherosclerosis

## OBSAH

0	Úvod .....	12
1	Charakteristika mastných kyselin .....	13
2	Metabolismus kyseliny myristové .....	14
2.1	Potravinové zdroje kyseliny myristové .....	14
2.2	Beta oxidace kyseliny myristové.....	16
2.3	Acylace proteinů.....	19
2.4	Další osudy kyseliny myristové .....	21
3	Biosyntéza kyseliny myristové .....	21
3.1	Klasická cesta biosyntézy .....	22
3.2	Další cesty biosyntézy .....	23
4	Funkce kyseliny myristové jako lipokinu .....	25
5	Další účinky kyseliny myristové v organismu.....	27
6	Úloha kyseliny myristové v rozvoji zánětu .....	28
6.1	Toll-like receptory .....	29
6.2	Aktivace NF- $\kappa$ B a rozvoj zánětu .....	34
7	Vztah kyseliny myristové k ateroskleróze .....	36
8	Závěr.....	42
9	Literární zdroje.....	43

## SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek č. 1 Osud kyseliny myristové v buňce.....	16
Obrázek č. 2 Beta oxidace mastných kyselin.....	18
Obrázek č. 3 Enzymový komplex synthasy mastných kyselin.....	22
Obrázek č. 4 Biosyntéza mastných kyselin klasickou cestou.....	24
Obrázek č. 5 Lipid A navázaný na doménu Kdo <sub>2</sub> .....	31
Obrázek č. 6 Dimerizace toll-like receptoru .....	31
Obrázek č. 7 Vazba LPS na toll-like receptor 4 za pomoci MD 2 .....	32
Obrázek č. 8 Částice LDL.....	38
Tabulka č. 1 Afinita ligandu EC <sub>50</sub> v μmol/l .....	26

## SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

ABCA1	ATP-vazebný kazetový přenašeč ( <i>ATP-binding cassette transporter</i> )
ACP	protein přenášející acyl ( <i>acyl-carrier protein</i> )
APC	antigen prezentující buňka ( <i>antigen-presenting cell</i> )
ATP	adenosintrifosfát
CD 14	diferenciační skupina 14 ( <i>cluster of differentiation 14</i> )
CoA	koenzym A
COX-2	cyklooxygenasa 2
CURL	váček oddělující receptor od ligandu ( <i>compartment of uncoupling of receptor and ligand</i> )
CYP4V2	enzym, hydroxylasa
DAMPs	molekulární vzory spojené s poškozením ( <i>damage-associated molecular patterns</i> )
FAD	flavinadenindinukleotid (oxidovaná forma)
FADH <sub>2</sub>	flavinadenindinukleotid (redukovaná forma)
GLUT 4	receptor pro glukózu
GPR	receptor spřažený s G proteinem ( <i>G protein-coupled receptor</i> )
HClO	kyselina chlorná
HDL	lipoprotein o vysoké hustotě ( <i>high density lipoprotein</i> )
ICAM-1	intercelulární adhezivní molekula ( <i>intercellular adhesive molecule 1</i> )
I $\kappa$ B	inhibitorový protein
IKK $\alpha/\beta/\gamma$	jednotlivé podjednotky inhibitorového proteinu: alfa/beta/gama
IRAK	kinasa spojená s receptorem pro interleukin ( <i>interleukin receptor-associated kinase</i> )
LDL	lipoprotein o nízké hustotě ( <i>low density lipoprotein</i> )
LOX-1	receptor pro oxidované částice LDL cholesterolu ( <i>lecitin-like oxidized low density lipoprotein receptor 1</i> )
Lp-PLA <sub>2</sub>	fosfolipasa A2 spojená s lipoproteinem ( <i>lipoprotein-associated phospholipase A2</i> )
LXR	jaterní receptor X ( <i>liver X receptor</i> )
MAPK	mitogenem aktivovaná protein kinasa ( <i>mitogen-activated protein kinase</i> )
M-CSF	faktor stimulující kolonii makrofágů ( <i>macrophage colony-stimulating factor</i> )

MD2	antigen lymfocytů 86 ( <i>lymphocyte antigen 86</i> )
MyD88	primární odpověď myeloidní diferenciace 88 ( <i>Myeloid differentiation primary response 88</i> )
NAD <sup>+</sup>	nikotinamidadenindinukleotid (oxidovaná forma)
NADH + H <sup>+</sup>	nikotinamidadenindinukleotid (redukována forma)
NADP <sup>+</sup>	nikotinamidadenindinukleotidfosfát (oxidovaná forma)
NADPH + H <sup>+</sup>	nikotinamidadenindinukleotidfosfát (redukována forma)
NF-κB	nukleární faktor kappa B
• OH	hydroxylový radikál
p38	mitogenem aktivovaná protein kinasa ( <i>mitogen-activated protein kinase</i> )
p47phox	cytosolický protein NADPH oxidasy
PAMPs	molekulární vzory spojené s patogenem ( <i>pathogen-associated molecular patterns</i> )
Ppi	difosfát
PRR	receptory rozeznávající molekulové vzory ( <i>pattern recognition receptor</i> )
sdLDL	malý denzní lipoprotein o nízké hustotě ( <i>small dense low density lipoprotein</i> )
SR A	receptor „scavenger“ A ( <i>scavenger receptor A</i> )
STAT 1/3	převodník signálu a aktivátor transkripce ( <i>signal transducer and aktivator of transcription</i> )
TAB	vazebný protein pro TAK 1
TAK 1	protein kinasa 7 aktivovaná mitogenem ( <i>mitogen-activated protein kinase 7</i> )
TIR	„toll“ interleukinový receptor ( <i>toll-interleukin receptor</i> )
TIRAP	„toll“ interleukinový receptor obsahují adaptorový protein ( <i>toll-interleukin receptor containing adaptor protein</i> )
TLR	„toll-like“ receptor ( <i>toll-like receptor</i> )
TRAF 6	faktor 6 spojený s tumor nekrotizujícím receptorem ( <i>tumor necrosis receptor-associated factor 6</i> )
TRAM	membránový protein spojený s translokačním řetězcem ( <i>translocating chain-associated membrane protein</i> )
TRIF	TIR doména obsahující adaptér včetně interferonu β ( <i>TIR-domain containing adapter including interferon β</i> )
VCAM-1	vaskulární buněčný adhezivní protein 1 ( <i>vascular cell adhesion protein 1</i> )

## 0 Úvod

Mastné kyseliny jsou velmi důležité a nepostradatelné pro správné fungování mnoha pochodů v lidském těle. Jsou součástí lipidů a tvoří z velké části jejich základní stavební kameny a ovlivňují jejich chování. Nacházejí se v tucích, voscích, ale i ve složených lipidech, jako jsou například fosfolipidy, které jsou hlavní složkou všech buněčných membrán. Mastné kyseliny se dále nacházejí i v glykolipidech, které obsahují mimo mastnou kyselinu i sfingosin a sacharid, a v ostatních složených lipidech, jako jsou sulfolipidy, aminolipidy a lipoproteiny. Mastné kyseliny také slouží jako zdroj energie, který může být buď použit okamžitě, nebo může být uložen v tukové tkáni ve formě triacylglycerolu do zásoby, kde má funkci tepelně izolační. Mastné kyseliny hrají důležitou roli i v signálních drahách. Volné nasycené mastné kyseliny jsou schopné indukovat aktivaci fagocytárního receptoru, toll-like receptoru způsobem nezávislým na ligandu a tím indukovat vznik neinfekčního zánětu. Mezi tyto nasycené mastné kyseliny patří například kyselina myristová.

# 1 Charakteristika mastných kyselin

Mastné kyseliny jsou monokarboxylové kyseliny s uhlíkovým řetězcem, který většinou obsahuje sudý počet uhlíků. Je to z důvodu, že jsou k syntéze mastných kyselin potřeba uhlovodíkové zbytky s dvěma uhlíky. Mohou ale existovat i výjimky. Řetězec může mít různou délku, ale nejvíce se vyskytují kyseliny o počtu 14 až 20 uhlíků. Mastná kyselina může obsahovat i různý počet dvojných vazeb v řetězci. Strukturu mastné kyseliny je možné vyjadřovat číselně. V závorce je nejprve počet uhlíků a po dvojtečce následuje počet dvojných vazeb. Uhlíky v řetězci mastné kyseliny se označují směrem od karboxylové skupiny buď čísly (1, 2, ...) nebo písmeny řecké abecedy ( $\alpha$ ,  $\beta$ , ...). Mezi nasycené mastné kyseliny s krátkým řetězcem patří kyselina octová (2:0), propionová (3:0) a máselná (4:0). Mastné kyseliny se středně dlouhým řetězcem zahrnují kyselinu kapronovou (6:0), kaprylovou (8:0) a kyselinu kaprinovou (10:0). Kyselina myristová se skládá ze 14 uhlíků (14:0) a náleží do skupiny kyselin s dlouhým řetězcem. Její vzorec lze vyjádřit také jako  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$ . Kyselina myristová patří do této skupiny spolu s kyselinou laurovou (12:0), kyselinou palmitovou (16:0) a stearovou (18:0). Největší podíl mastných kyselin přijímaných organismem potravou tvoří nasycené mastné kyseliny s dlouhým řetězcem (Tvrzická a kol., 2009a). Poslední skupinou jsou nasycené mastné kyseliny s velmi dlouhým řetězcem, kam patří kyselina arachová (20:0), behenová (22:0), lignocerová (24:0), cerotová (26:0) a další. Tyto kyseliny se objevují za patologických stavů, například u metabolických poruch (Tvrzická a kol., 2009a).

Mastné kyseliny jsou součástí jak jednoduchých, tak složitých lipidů. Z jednoduchých lipidů se jedná o tuky ve formě triacylglycerolů, které obsahují tři zbytky mastných kyselin vázající se esterovou vazbou na glycerol. Ve voscích je jeden zbytek mastné kyseliny navázaný esterovou vazbou na vyšší jednosytný alkohol. I u složitých lipidů jsou mastné kyseliny vázány esterovou vazbou, pouze se s nimi na alkohol ještě váže dodatečná molekula, která má jinou strukturu než mastné kyseliny. Příkladem jsou fosfolipidy, které mají na glycerol navázané dva zbytky mastných kyselin a jeden zbytek kyseliny fosforečné. Fosfolipidy jsou hlavní součástí cytoplazmatické membrány. Mastné kyseliny, navázané ve fosfolipidech nacházejících se v membráně, mají vliv i na aktivitu proteinů, které jsou na membránu vázané (Kremmyda a kol., 2011). Fosfolipidy jsou skupinou látek odvozených od kyseliny fosfatidové, na kterou se přes kyslík fosfátové skupiny váží různé druhy substituentů. V cytoplazmatické membráně jsou nejvíce zastoupeny fosfatidylcholin. Cholin představuje hydrofilní část molekuly a dva řetězce mastných kyselin představují hydrofobní část

molekuly. Kyselina fosfatidová má dvě polohy pro mastné kyseliny, a to sn-1 a sn-2. V první poloze se váže nasycená kyselina a v druhé nenasyčená mastná kyselina. Fosfolipidy zahrnují i sfingofosfolipidy. Dalšími složenými lipidy, obsahujícími mastnou kyselinu, jsou glykolipidy. Glykolipidy obsahují mastnou kyselinu, sfingosin a sacharid. Mají úlohu v nervové tkáni. Mastné kyseliny jsou krví převážně transportovány ve formě lipoproteinů. Mastné kyseliny mají specifickou funkci v buňkách jako druzí poslové a jsou ligandy jaderných receptorů (Kremmyda a kol., 2011). Druzí poslové jsou molekuly, většinou proteiny, které se aktivují po vazbě ligandu na receptor. Příklady ligandů jsou hormony, růstové faktory, antigeny aj. Druhým poslem je například diacylglycerol, ve kterém jsou vázány dvě mastné kyseliny (Tvrzická a kol., 2009a). Mastné kyseliny s velmi dlouhým řetězcem jsou také součástí ceramidů, což jsou sloučeniny, které mají vliv na pokožku a její propustnost pro vodu (Kremmyda a kol., 2011).

Propustnost cytoplazmatické membrány závisí na zastoupení mastných kyselin ve fosfatidylcholinu. Fosfatidylcholin obsahuje buď více nasycených mastných kyselin, nebo více nenasyčených mastných kyselin. Dvojnásobné vazby v řetězcích mastných kyselin způsobují ohýbání řetězce, čímž je znemožněno blízké nasedání molekul fosfolipidů vedle sebe a zvyšuje se propustnost membrány. Pokud fosfolipidy obsahují více nasycených mastných kyselin je tomu naopak a propustnost se snižuje (Tvrzická a kol., 2009b; Kremmyda a kol., 2011). Mastné kyseliny, které jsou navázané ve sloučenině, ovlivňují vlastnosti dané sloučeniny významným způsobem. Například bod tání triacylglycerolu uloženého v tukové tkáni závisí na druhu v něm navázaných mastných kyselin. U triacylglycerolu, který je uložen v periferní tkáni, je vyšší pravděpodobnost vystavení nižší teplotě oproti triacylglycerolu, který je uložen hluboko v tkáni. V triacylglycerolu v periferní tkáni jsou převážně navázané nenasyčené mastné kyseliny, které jsou i za nižších teplot tekuté, což je pro lidský organismus žádoucí.

## 2 Metabolismus kyseliny myristové

Metabolismus mastných kyselin velmi úzce souvisí s metabolismem tuků v lidském těle. Mastné kyseliny vstupují do metabolismu buď z příjmu potravou nebo si je organismus schopný syntetizovat sám *de novo* biosyntézou mastných kyselin (Ratnayake a Galli, 2009). V potravě jsou mastné kyseliny přijímány ve formě triacylglycerolů. Ve srovnání se sacharidy a bílkovinami se z tuků získá největší množství energie (Kremmyda a kol., 2011).

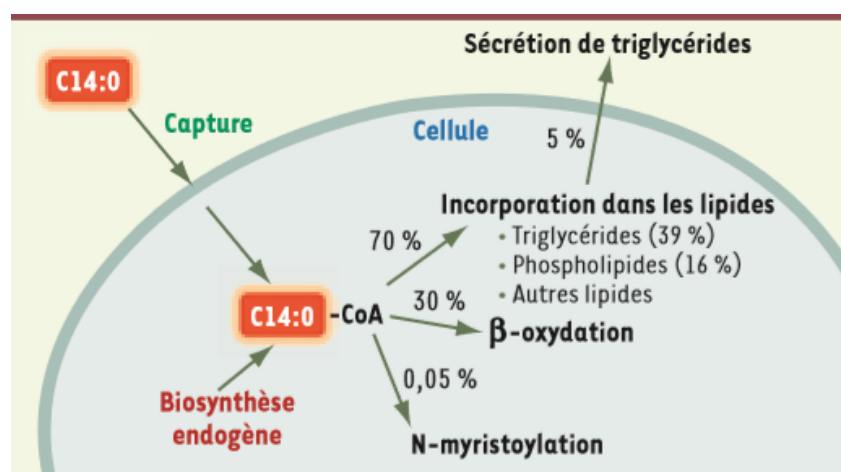
### 2.1 Potravinové zdroje kyseliny myristové

Hlavními rostlinnými zdroji nasycených mastných kyselin s dlouhým řetězcem je olej z kokosového ořechu, palmový olej, kakaové máslo a bambucký tuk z ořechu Shea. Kyselina myristová se ve zdrojích nasycených mastných kyselin s dlouhým řetězcem vyskytuje pouze ve stopovém množství. Jedná se totiž o vzácnější mastnou kyselinu. Kyselina myristová se vyskytuje hojně například v másle z muškátového ořechu, který obsahuje až 79 hm. % kyseliny myristové (Serra a kol., 2019). Podle muškátového ořechu byla tato kyselina i pojmenována. Muškátový oříšek pochází z rostliny muškátovníku vonného (*Myristica Fragrans*). Mezi další velmi bohaté zdroje kyseliny myristové patří méně známé tuky a oleje z amazonských rostlin. Například tuk ucuhuba, který obsahuje 77 hm. % kyseliny myristové a muru muru tuk s obsahem 28,3 hm. %, babassu a andiroba olej (Serra a kol., 2019).

Mezi živočišné zdroje nasycených mastných kyselin s dlouhým řetězcem patří máslo, vepřové sádlo či lůj (Tvrzická a kol., 2009a). Kyselina myristová se také vyskytuje v mléčném tuku, kde zabírá kolem 10 hm. % z celkových mastných kyselin. V mléčném tuku se kyselina myristová nachází navázaná esterovou vazbou v pozici sn-2 glycerolu. Oproti tomu v běžně používaných olejích a tucích se většinou nachází v pozici na krajních uhlících glycerolu, které označujeme jako sn-1 a sn-3 (Beauchamp a kol., 2009a), a to ve velmi malých množstvích (Rioux a Legrand, 2001; Temme a kol., 1997).

Triacylglyceroly z potravy jsou ve střevě štěpeny na monoacylglyceroly a mastné kyseliny. Triacylglyceroly, obsahující kyselinu myristovou na prostředním uhlíku glycerolu, v pozici sn-2, jsou velmi dobře absorbovány po rozštěpení ve formě 2-monoacylglycerolu (Beauchamp a kol., 2009a). Buňky střevní sliznice, enterocyty, syntetizují zpět triacylglyceroly z monoacylglycerolu a dvou mastných kyselin. Triacylglyceroly jsou transportovány krevním řečištěm ve formě transportních lipoproteinů nazývaných chylomikrony. V krevních kapilárách tukové a svalové tkáně jsou endotelové buňky, které mají na svém povrchu lipoproteinovou lipázu. Lipoproteinová lipáza štěpí triacylglyceroly, které jsou obsaženy v chylomikronech přiváděných krevními kapilárami. Z triacylglycerolů po štěpení vzniká glycerol a příslušné mastné kyseliny. V tukové tkáni jsou mastné kyseliny opět esterifikovány a uloženy ve formě triacylglycerolů do zásoby. Volné mastné kyseliny mohou být z tukové tkáně v případě potřeby uvolněny a putují navázané na albumin krevním řečištěm do jater, kde mohou být esterifikovány, opět přeměněny na triacylglyceroly,  $\beta$  oxidovány nebo mají jiný osud, jako například začlenění do membránových lipidů. Mastné kyseliny, které se dostaly do svalové tkáně z chylomikronů působením lipoproteinové lipázy jsou převážně  $\beta$  oxidovány za vzniku energie. V játrech a tukové tkáni jsou mastné kyseliny, popřípadě syntetizovány i *de novo* z glukózy.

Kyselina myristová je v játrech při vstupu do hepatocytu přeměněna na myristoyl-CoA a ten je ze 70 % převeden do buněčných lipidů. Z těchto 70 % myristoyl-CoA převedených do buněčných lipidů je kolem 5 % vyloučeno z buňky ven ve formě triacylglycerolů, zbytek je v buňce uložen ve formě triacylglycerolů, ve formě fosfolipidů a ostatních druhů lipidů. Ze zbylých 30 % vstupuje myristoyl-CoA do  $\beta$  oxidace mastných kyselin a velmi malé množství, kolem 0,05 %, je využito na N-myristoylaci proteinů (viz obrázek č. 1) (Beauchamp a kol., 2009a). Kyselina myristová je buňkou rychleji absorbována oproti kyselině palmitové. Pro příklad po 4 hodinách inkubace v buněčné kultuře hepatocytů je absorbováno 87 % kyseliny myristové z jejího počátečního množství, u kyseliny palmitové 68 % z jejího původního množství (Rioux a Legrand, 2001).



Obrázek č. 1 Osud kyseliny myristové v buňce

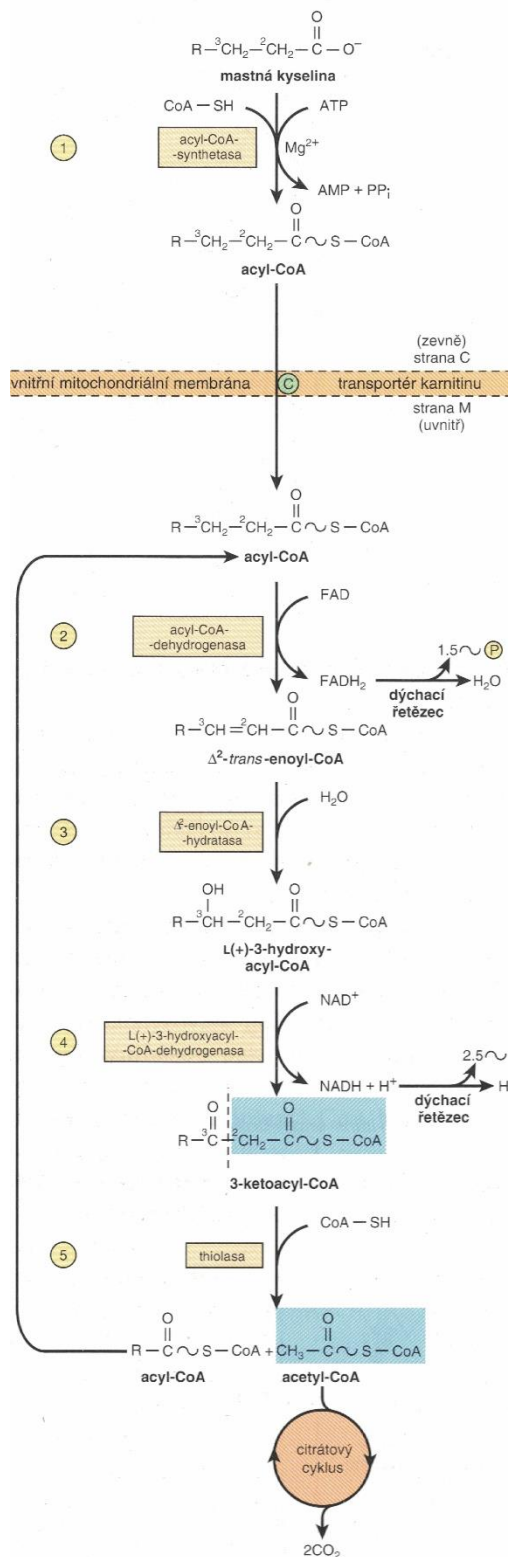
(převzato z Beauchamp a kol., 2009a)

## 2.2 Beta oxidace kyseliny myristové

Proces  $\beta$  oxidace volných mastných kyselin (viz obrázek č. 2) je aerobní děj odehrávající se zejména ve svalové tkáni a mírně i v tkáni jaterní. Nejprve v buňce musí dojít k přeměně mastné kyseliny na acyl-CoA (Carvahlo a Caramujo, 2018), tedy k její aktivaci, např. z kyseliny myristové vznikne myristoyl-CoA (Beauchamp a kol., 2009a). K tomu dochází v cytosolu pomocí katalýzy enzymů, které se vyskytují na povrchu mitochondriální membrány, ale také i na povrchu endoplazmatického retikula. Tyto enzymy se nazývají acyl-CoA-synthetasy. Tato aktivace probíhá za spotřeby jedné molekuly adenosintrifosfátu (ATP), vzniká jedna molekula acyl-CoA, adenosinmonofosfát a difosfát (PPi). Jedná se o jediný krok  $\beta$  oxidace, kde se spotřebovává energie ve formě adenosintrifosfátu. Následuje druhý krok, a to transport přes cytoplazmatickou membránu mitochondrie, k čemuž je potřeba vazba acyl-

CoA na karnitin (Carvahlo a Caramujo, 2018). Karnitin je obsažen hojně v buňkách svalové tkáně, protože zde probíhá  $\beta$  oxidace ve zvýšené míře z důvodu zvýšené potřeby energie. Acyl-CoA se přeměňuje reakcí s karnitinem na acyl-karnitin za katalýzy enzymem karnitinpalmitoyltransferasou I, která je umístěná na vnější membráně mitochondrie. Za pomoci přenašečového enzymu karnitinacylkarnitintranslokasy se acyl-karnitin přenáší dovnitř mitochondrie (Carvahlo a Caramujo, 2018). Je to transport na principu antiportu, takže pokud acyl-karnitin přechází na jednu stranu, tak současně proti němu je transportován samotný karnitin ven z mitochondrie a slouží k další reakci acyl-CoA s karnitinem. Uvnitř mitochondrie se karnitin odštěpuje z acyl-karnitinu za katalýzy karnitinpalmitotransferasou II, která je umístěná na vnitřní straně mitochondrie a vzniká acyl-CoA. Následuje samotná  $\beta$  oxidace acyl-CoA. Nejprve dochází k odštěpení dvou vodíků ze sousedních uhlíků  $\alpha$  a  $\beta$  mastného acylu za katalýzy acyl-CoA-dehydratasou a vzniká  $\Delta^2$ -trans-enoyl-CoA. Při této reakci dochází k přeměně FAD na  $\text{FADH}_2$ , který putuje do dýchacího řetězce. Mezi  $\alpha$  a  $\beta$  uhlíkem vznikne dvojná vazba, která je následně hydratována vodou. Jedná se o adici vody na dvojnou vazbu, na  $\alpha$  uhlík se naváže vodík a na  $\beta$  uhlík se naváže hydroxylová skupina za katalýzy enzymem enoyl-CoA-hydratasou a za vzniku 3-L-hydroxyacylu-CoA. Dále nastává opět dehydrogenace za přítomnosti enzymu 3L-hydroxyacyl-CoA-dehydrogenasy a vzniká 3-ketoacyl-CoA za současné přeměny  $\text{NAD}^+$  na  $\text{NADH} + \text{H}^+$ , který opět putuje do dýchacího řetězce. 3-ketoacyl-CoA je pak pouze rozštěpen mezi uhlíkem  $\alpha$  a  $\beta$  enzymem 3-ketoacyl-thiolasou na acetyl-CoA a zbylý acyl-CoA již kratší o dva uhlíky. Acetyl-CoA následně vstupuje do citrátového cyklu (Carvahlo a Caramujo, 2018; Ratnayake a Galli, 2009). Zbylý acyl-CoA vstupuje na začátek  $\beta$ -oxidace a vše se opakuje. Počet opakování závisí na délce mastné kyseliny.  $\text{FADH}_2$  a  $\text{NADH} + \text{H}^+$  se oxidují v dýchacím řetězci zpět na FAD a  $\text{NAD}^+$  za vzniku adenosintrifosfátu. V citrátovém cyklu dochází k oxidaci acetyl-CoA až na konečný produkt oxid uhličitý a vznikají při tom opět redukované kofaktory  $\text{FADH}_2$  a  $\text{NADH} + \text{H}^+$ , které jsou oxidovány za vzniku adenosintrifosfátu. Výslednými produkty metabolismu mastných kyselin jsou látky: oxid uhličitý a molekuly adenosintrifosfátu.

Beta oxidace kyseliny myristové je výhodná, protože je šestkrát oxidovatelnější než kyselina palmitová (Rioux a Legrand, 2001). Kyselina myristová se oxiduje rychleji než ostatní nasycené mastné kyseliny s delším řetězcem, ale pomaleji než nenasycené kyseliny (Ratnayake a Galli, 2009). U kyseliny myristové probíhá 6 opakování sledu reakcí  $\beta$  oxidace a jejím rozštěpením vzniká 7 molekul acetyl-CoA. Z energetického hlediska vzniká při samotné  $\beta$  oxidaci celé kyseliny myristové 24 molů adenosintrifosfátu a ze vzniklých 7 molů acetyl-CoA vzniká v citrátovém cyklu celkem 70 molů adenosintrifosfátu. Když odečteme dva moly



Obrázek č. 2 Beta oxidace mastných kyselin

(převzato z Murray a kol., 2012)

adenosintrifosfátu, které jsou potřebné k aktivaci β oxidace, je celkový výtěžek 92 molů adenosintrifosfátu z jednoho molu kyseliny myristové.

## 2.3 Acylace proteinů

Kyselina myristová může být využita k acylaci proteinů. Acylace proteinů je reakce, která způsobuje jejich modifikaci, upravení jejich vlastností (Rioux a Legrand, 2001). Existují dva způsoby acylace, jedním z nich je terminální N-myristoylace, což znamená acylaci kyselinou myristovou. Druhým je palmitoylace, kde se jedná o acylaci kyselinou palmitovou. Reakce začíná u proteinu, který má na konci sekvenci dvou aminokyselin v pořadí methionin-glycin. Methionin-glycin konec je odštěpen za katalýzy enzymem methionin-aminopeptidasou. Namísto konce methionin-glycin se naváže myristát amidovou vazbou. Navázání myristátu je katalyzováno N-myristoyl-transferasou a je nevratné (Tvrzická a kol., 2009b; Beauchamp a kol., 2009a). N-myristoyl-transferasa je přenašečový enzym, který přenáší myristát z myristoyl-CoA na protein nebo peptid (Resh, 1999). Substrát pro tuto reakci je myristoyl-CoA a může pocházet jak z *de novo* syntézy, tak z endogenních zdrojů. V buňce se myristoyl-CoA vyskytuje jen ve velmi malé koncentraci, kolem 5 nmol/l (Martin a kol., 2011; Beauchamp a kol., 2009) a je využit k myristoylaci jen z 0,05 % z počátečního množství. Hodnota koncentrace myristoyl-CoA v buňce ovlivňuje míru myristoylace. Myristoylace může probíhat buď kotranslačně, tedy souběžně s proteosyntézou, což je nevratná reakce, nebo k myristoylaci dochází posttranslační modifikací, která je reverzibilní (Kremmyda a kol., 2011). Reakce probíhá postupnými kroky. Nejprve se myristoyl-CoA naváže na enzym N-myristoyl-transferasu. Poté se na N-myristoyl-transferasu naváže substrát, kterým je peptid nebo protein. Následuje samotný přenos myristátu a po něm se CoA uvolní z enzymu. Nakonec je z enzymu uvolněn produkt myristoyl-peptid/protein (Resh, 1999).

Myristoylované proteiny jsou významné pro intracelulární signalizaci (Beauchamp a kol., 2009a). Dále je myristoylace významná pro subcelulární adresování a interakci protein-protein a protein-membrána (Martin a kol., 2011; Beauchamp a kol., 2009a). Tato modifikace umožňuje například začlenění některých proteinů do cytoplazmatické membrány (Beauchamp a kol., 2009a; Kremmyda a kol., 2011). Myristoylace má vliv i na správné zabalení proteinu po jeho syntéze a pro správnou interakci mezi jednotlivými podjednotkami proteinu (Rioux a Legrand, 2001). Existují i tzv. myristoylované přepínače, které mají vliv na ukotvení myristoylovaných proteinů, např. elektrostatický spínač myristoyl/fosfotyrosin (Martin a kol., 2011).

Doposud bylo nalezeno asi 100 druhů myristoylovaných proteinů. Myristoylované proteiny ovlivňují funkce lidského organismu. Jednotlivé myristoylované proteiny jsou např.

$\alpha$  podjednotka G proteinů, která zprostředkovává interakci mezi receptorem a efektem a ovlivňuje produkci druhých posílů. Alfa podjednotka G proteinu je příkladem molekuly, která zprostředkovává intracelulární signalizaci (Beauchamp a kol., 2009a). Protein G je heterotrimerní molekula složená ze tří odlišných podjednotek:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  a nachází se na vnitřní straně membrány buňky. Účinné látky, jako například hormony, se vážou na buněčné receptory, které interagují s G proteiny. Účinné látky změň konformaci receptoru a způsobí buďto aktivaci, nebo stabilizaci G proteinu. V neaktivním stavu je  $\alpha$  podjednotka G proteinu vázaná na guanosindifosfát a je spojená s  $\beta$  i  $\gamma$  podjednotkou. V aktivním stavu se váže na guanosintrifosfát a spolu s ním se odštěpí od ostatních podjednotek. Vznikají dvě molekuly,  $\alpha$ -guanosintrifosfát a  $\beta$ - $\gamma$  molekula, které ovlivní efekty (Cabrera-Vera a kol., 2003). Alfa-guanosintrifosfát působí na efekty (Linder a kol., 1991). Efekty jsou adenylcyklasa nebo fosfolipasa C (Cabrera-Vera a kol., 2003), které následně způsobují produkci druhých posílů. Modifikace  $\alpha$  podjednotky rodiny G proteinů představuje myristoylaci i palmitoylaci. Obě tyto modifikace umožňují kotvení G proteinů v membráně. Myristoylace usnadňuje tvorbu heterotrimeru G tím, že  $\alpha$  podjednotka modifikovaná myristoylací má vyšší afinitu k  $\beta$ - $\gamma$  podjednotce (Linder a kol., 1991). Příklad významu myristoylace pro interakci protein-protein je regulace interakce  $\beta$ - $\gamma$  podjednotek a efektoru  $\alpha$ -podjednotkou modifikovanou myristoylací. Po odštěpení podjednotky  $\alpha$  z G proteinu je podjednotka  $\beta$ - $\gamma$  schopná reagovat s celou řadou efektorů, jako jsou například iontové kanály pro draslík a vápník (Cabrera-Vera a kol., 2003). Myristoylace  $\Delta^4$ -desaturasy dihydroceramidu pravděpodobně způsobuje subcelulární adresování tohoto enzymu na membránu mitochondrie (Beauchamp a kol., 2009b).

Dalším příkladem myristoylovaného proteinu je NADH-cytochrom b5 reduktasa (Beauchamp a kol., 2009a), což je enzym přeměňující methemoglobin na hemoglobin, nebo eNOS, endoteliální myristoylovaný enzym ve stěně cév, který ovlivňuje tvorbu oxidu dusnatého. Endoteliální enzym je zakotvený na membráně endotelové buňky prostřednictvím myristoylace, ale je také modifikovaný palmitoylací (Beauchamp a kol., 2009a).

Mimo N-terminální myristoylaci může modifikace probíhat i jinými způsoby. S acylace je labilní thioesterová vazba zbytku mastné kyseliny s vnitřním cysteinovým zbytkem. O acylace je oxyesterová vazba opět mezi mastnou kyselinou s vnitřním serinovým zbytkem. Dále mohou probíhat isoprenylace a glypiace. Isoprenylace je thioesterová vazba mezi C koncovým zbytkem cysteinu a isoprenem. Glypiace jsou u kyseliny myristové častější, jedná se o nepřímou vazbu mezi glykolipidovou kotvou a proteinem (Rioux a Legrand, 2001). Většina proteinů modifikovaných myristoylací se nachází na cytoplazmatické

membráně, existují však i výjimky, např. kalcineurin B (Rioux a Legrand, 2001), což je fosfatáza, která se účastní přenosu signálu a hraje roli v aktivaci T lymfocytů.

## 2.4 Další osudy kyseliny myristové

Kyselina myristová může být také v játrech prodloužena na kyselinu palmitovou, nebo desaturována na nenasycenou mastnou kyselinu. Tyto procesy probíhají o něco pomaleji než u kyseliny palmitové. Desaturací vzniká z kyseliny myristové za katalýzy  $\Delta^9$ -desaturasou kyselina myristoolejová (14:1) (Rioux a Legrand, 2001), která má jednu dvojnou vazbu za uhlíkem 9 od karboxylové skupiny.

Ukládání mastných kyselin do triacylglycerolů je proces odehrávající se zejména v tkáni jaterní a tukové, ale i ve svalové tkáni a slouží k vytváření energetických zásob. Mastné kyseliny jsou v případě zvýšené potřeby energie uvolněny z triacylglycerolů a vstupují do  $\beta$  oxidace. Mastné kyseliny mohou být také přeměněny na fosfolipidy a v nich začleněny do cytoplazmatické membrány. Oba procesy přeměny na triacylglyceroly a na fosfolipidy mají podobný průběh. Vycházejí z glycerol-3-fosfátu, který je za katalýzy glycerol-3-fosfát-acyltransferasou přeměněn na lysofosfatidovou kyselinu a ta je přeměněna na kyselinu fosfatidovou za katalýzy 1-acylglycerol-3-fosfát-acyltransferasou. Kyselina fosfatidová je základní stavební jednotka všech fosfolipidů. Fosfolipidy vznikají z kyseliny fosfatidové esterifikací alkoholem na místě hydroxylové skupiny fosfátu, který náleží kyselině fosfatidové. Kyselina fosfatidová se následně může přeměnit na diacylglycerol za katalýzy fosfatidylfosfatasou za uvolnění fosfátu a následně na triacylglycerol za katalýzy diacylglycerol-acyltransferasou a účasti acyl-CoA.

## 3 Biosyntéza kyseliny myristové

Mastné kyseliny jsou syntetizovány *de novo* především v jaterní tkáni hepatocyty, ale v podstatně menší míře i v jiných tkáních, jako např. v ledvinách, mléčné žláze apod. Syntéza probíhá v cytosolu buněk. Tohoto procesu se účastní enzymy, jako je například acyltransferasa a acyl-CoA-karboxylasa (Tvrzická a kol., 2009a).

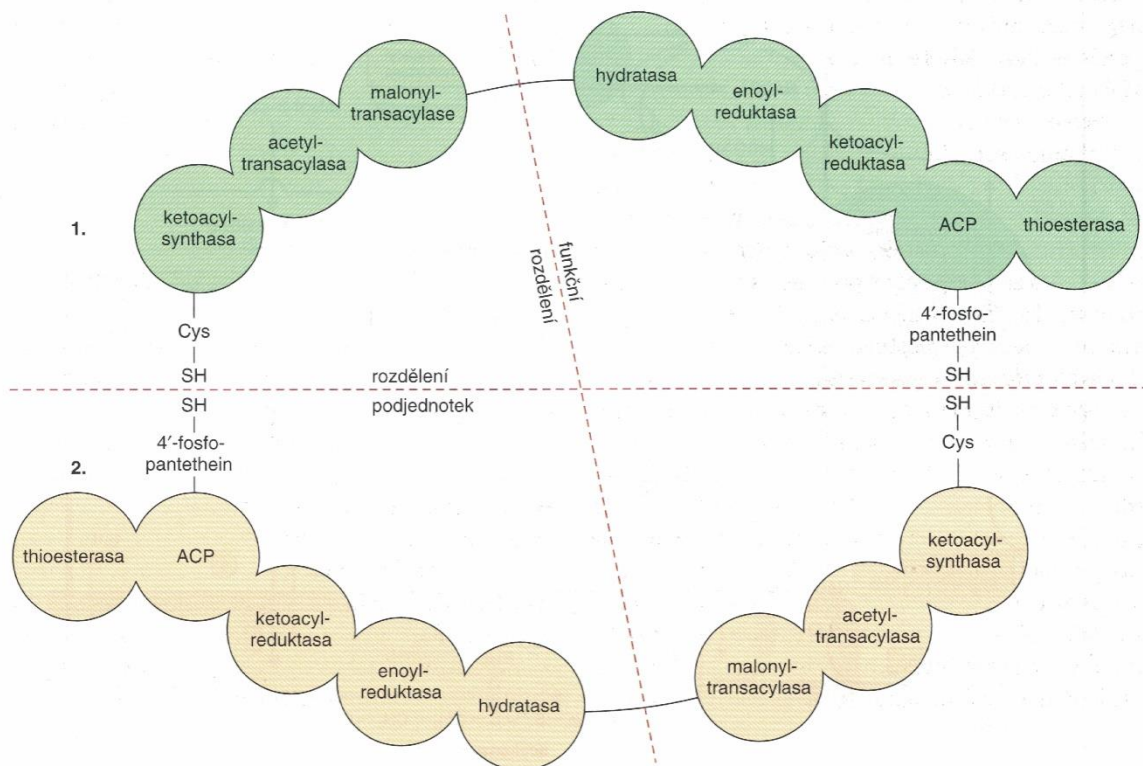
Biosyntéza mastných kyselin (viz obrázek č. 4) se také nazývá lipogeneze a probíhá z nadbytečných cukrů, výchozím substrátem je glukóza. Glukóza podléhá glykolýze za vzniku pyruvátu a ten je přeměněn na acetyl-CoA. Vlastní biosyntéza mastných kyselin začíná u přeměny acetyl-CoA a končí u výsledného produktu kyseliny palmitové. Kyselina

myristová je takto syntetizována jen v malém množství, dochází přednostně k syntéze kyseliny palmitové (Rioux a kol., 2007).

První a zásadní reakcí je vytvoření malonyl-CoA z acetyl-CoA karboxylací. Tato reakce probíhá za přítomnosti hydrogenuhličitanových iontů, adenosintrifosfátu, acetyl-CoA-karboxylasy, biotinu a je nevratná. Nejprve dochází ke karboxylaci biotinu navázaného na enzym acetyl-CoA-karboxylasu za využití jedné molekuly adenosintrifosfátu. Poté je karboxylová skupina navázaná na biotinu přenesena na acetyl-CoA za vzniku malonyl-CoA.

### 3.1 Klasická cesta biosyntézy

Klasická cesta syntézy mastných kyselin je pomocí komplexu synthasy mastných kyselin (viz obrázek č. 3), který se vyskytuje zejména u obratlovců. Je to multienzymový komplex složený ze dvou podjednotek, které jsou identické a každá obsahuje sedm enzymů navázaných na sebe do komplexu a protein, který se nazývá acyl přenášející protein (ACP).



Obrázek č. 3 Enzymový komplex synthasy mastných kyselin

(převzato z Murray a kol., 2012)

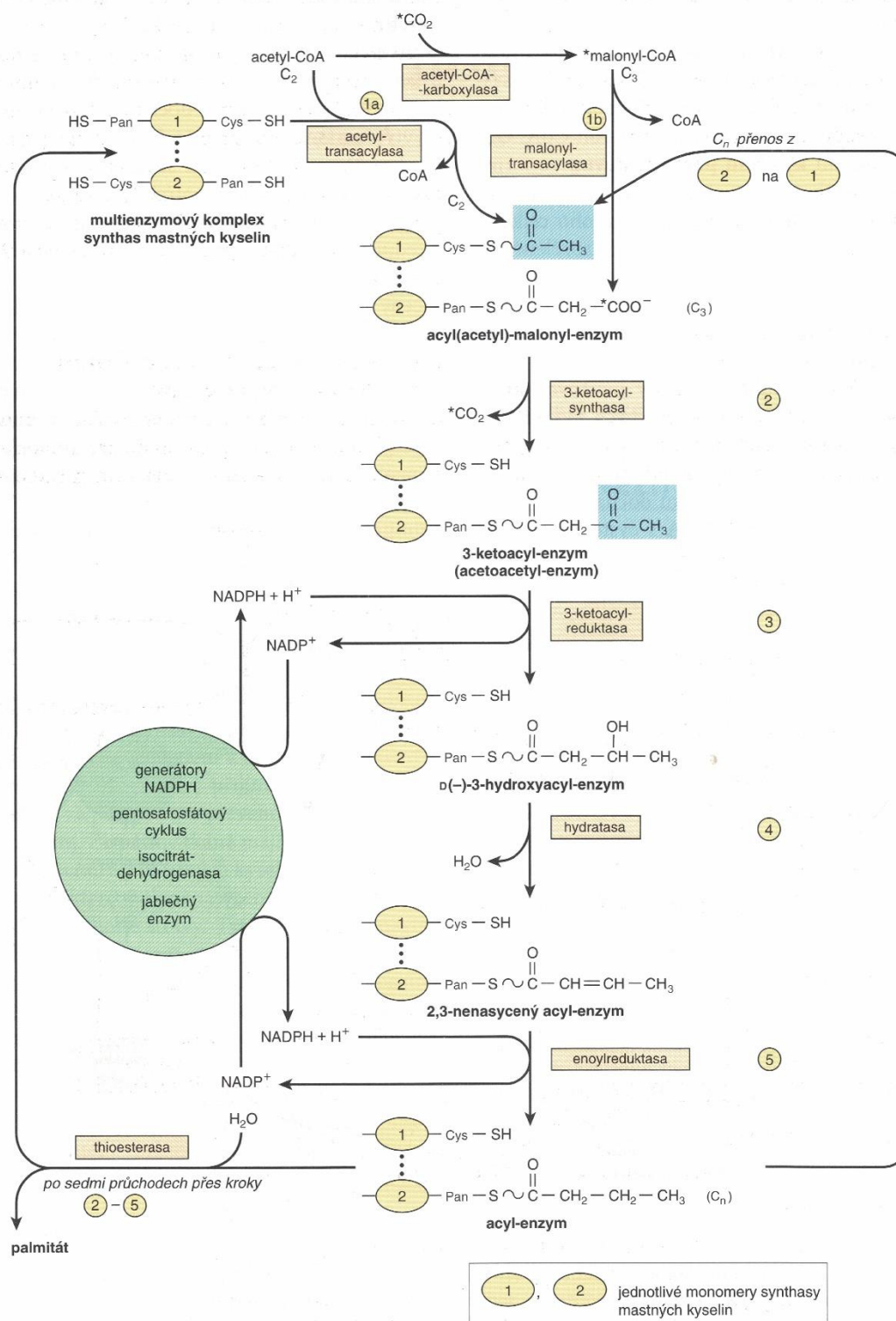
Za katalýzy synthasou mastných kyselin probíhá sled enzymových reakcí. První reakcí je aktivace, kdy se malonyl-CoA naváže na acyl přenášející protein na jeho funkční sulfanylovou skupinu (-SH) za katalýzy malonyl-transacylasy a jedna molekula acetyl-CoA

se naváže za katalýzy acetyl-transacylasou také na sulfanylovou skupinu cysteinu, která je na druhém monomeru. Vzniká acetyl(acyl)-malonyl enzym. Následuje kondenzační reakce. Malonyl-CoA je dekarboxylován a na místo karboxylové skupiny je navázán dvou-uhlíkatý zbytek acetylu, který byl původně navázaný na sulfanylové skupině cysteinu. Tato skupina cysteinu je po reakci volná. Vzniká 3-ketoacyl-enzym, který je následně redukován za katalýzy 3-ketoacylreduktasou za vzniku 3-hydroxyacyl-enzymu. Při této reakci se přeměňuje  $\text{NADPH} + \text{H}^+$  na  $\text{NADP}^+$ . 3-hydroxyacyl-enzym je dehydratován za katalýzy hydratase za vzniku 2,3-nenasyceného acyl-enzymu. 2,3-nenasycený acyl-enzym je opět redukován za katalýzy enoylreduktasou za současné přeměny  $\text{NADPH} + \text{H}^+$  na  $\text{NADP}^+$  na produkt acyl-S-enzym. Acyl z acyl-S-enzymu se může znovu navázat na sulfanylovou skupinu cysteinu a reakce probíhá znovu a pokaždé je acyl prodloužen o dva uhlíky.  $\text{NADP}^+$  se regeneruje v pentosofosfátovém cyklu. Většinou probíhá šest cyklů a vzniká palmitoyl a ten je uvolněn z komplexů díky poslednímu enzymu thioesterase ve formě volného palmitátu. Přednostní vznik palmitátu je z důvodu vysoké specifity terminální thioesterasy. Existují však speciální thioesterasy, například cytosolická thioesterasa, neboli thioesterasa II., která má za následek, že se uvolní z komplexu i kratší kyseliny s počtem od 8 do 14 uhlíků (Rioux a Legrand, 2001). Thioesterasa II umožňuje i uvolnění kyseliny myristové z komplexu syntasy mastných kyselin a vyskytuje se hlavně v mléčné žláze (Rioux a Legrand, 2001), kde je potřeba syntéza mastných kyselin s kratším řetězcem.

### 3.2 Další cesty biosyntézy

Další možností syntézy kyseliny myristové je peroxizomální  $\beta$  oxidace. Tato reakce probíhá v peroxizomech především jaterních buněk a výchozí látkou je kyselina palmitová, u které dochází ke zkrácení jejího uhlovodíkového řetězce o dva uhlíky (Rioux a kol., 2007) Tento proces byl poprvé objeven u lidských lymfocytů (Rioux a Legrand, 2001).

Výchozí látka, mastná kyselina, difunduje do peroxizomu přímo bez pomoci přenašeče. Zapotřebí je ji aktivovat na acyl-CoA peroxizomální acyl-CoA-synthasou. Acyl-CoA je oxidován kyslíkem za katalýzy acyl-CoA-oxidase a vzniká trans- $\Delta^2$ -enoyl-CoA a peroxid vodíku, který se rozkládá na vodu a kyslík za katalýzy peroxizomální katalase. Trans- $\Delta^2$ -enoyl-CoA je hydratován za katalýzy enoyl-CoA-hydratase na 3-L-hydroxyacyl-CoA. Následuje dehydrogenace 3-L-hydroxyacyl-CoA za katalýzy 3-L-hydroxyacyl-CoA-dehydrogenase za současné přeměny  $\text{NAD}^+$  na  $\text{NADH} + \text{H}^+$  a vzniká  $\beta$ -oxoacyl-CoA. CoA-SH za katalýzy thiolase vytěsňuje acetylovou skupinu ve formě acetyl-CoA z  $\beta$ -oxoacyl-CoA a vzniká acyl-CoA kratší o dva uhlíky, například myristoyl-CoA.



Obrázek č. 4 Biosyntéza mastných kyselin klasickou cestou

(převzato z Murray a kol., 2012)

Třetí možností, jak syntetizovat kyselinu myristovou, je prodloužením uhlíkového řetězce kyseliny laurové (12:0) o dva uhlíky za katalýzy enzymem elongasou. Množství takto syntetizované kyseliny myristové je zanedbatelné (Rioux a kol., 2007). Elongace mastné kyseliny může probíhat jak v mitochondriích, tak v endoplazmatickém retikulu, protože

v těchto místech se elongasy nacházejí. Proces elongace je ve zmíněných organelách o něco rozdílný. V mitochondriích probíhá proces elongace, který je podobný obrácenému sledu reakcí při  $\beta$  oxidaci. Dochází k reakci molekuly acyl-CoA a molekuly acetyl-CoA za katalýzy thiolasou a za vzniku 3-L-ketoacyl-CoA ( $\beta$ -oxoacyl-CoA). Za katalýzy L-3-ketoacyl-CoA-dehydrogenasou a za současné přeměny  $\text{NADH} + \text{H}^+$  na  $\text{NAD}^+$  vzniká L-3-hydroxyacyl-CoA, který je za katalýzy enzymem  $\Delta^2$ -enoyl-CoA-hydratasou přeměněn na  $\Delta^2$ -enoyl-CoA. Molekula  $\Delta^2$ -enoyl-CoA je následně redukována enzymem  $\Delta^2$ -enoyl-CoA-reduktasou na konečný produkt acyl-CoA, který je delší o dva uhlíky než před reakcí. U poslední reakce, kdy vzniká konečný produkt, delší acyl-CoA o dva uhlíky, je obměna oproti  $\beta$  oxidaci. Probíhá zde přeměna  $\text{NADPH} + \text{H}^+$  na  $\text{NADP}^+$  a ne jak je tomu u  $\beta$  oxidace, kde se v tomto kroku přeměňuje  $\text{FADH}_2$  na  $\text{FAD}$ .

V endoplazmatickém retikulu probíhá elongace úplně stejně jako syntéza mastných kyselin pomocí komplexu synthasy mastných kyselin, jen s tou obměnou, že je výchozí acyl navázaný jen na CoA a ne přímo na komplexu synthasy mastných kyselin.

## 4 Funkce kyseliny myristové jako lipokinu

Lipokiny jsou skupinou hormonů lipidové povahy, jsou vytvářeny v tukové tkáni (Murdolo a kol. 2013). Jsou to hormony propojující metabolismus tuků s celkovým metabolismem lidského těla (Cao a kol., 2008). Hlavním prokázaným lipokinem je kyselina palmitoolejová (16:1) s délkou 16 uhlíků a jednou dvojnou vazbou mezi 9. a 10. uhlíkem. Má několik účinků, například zvyšuje citlivost svalových a hepatálních buněk na inzulin, potlačuje lipogenezi, steatózu jater a zvyšuje proliferaci pankreatických  $\beta$  buněk. Kyselina palmitoolejová pochází z velké části z endogenní *de novo* biosyntézy a jen v malém množství je přijímána potravou. Mastné kyseliny, vzniklé podobně jako kyselina palmitoolejová z *de novo* biosyntézy zejména v tukové tkáni, které se jinak vyskytují v potravě velmi málo, působí jako lipokiny (Yilmaz a kol., 2016). Dochází k vzájemné regulaci *de novo* lipogeneze v játrech a v tukové tkáni. Například vymizení jaterního receptoru LXR (*Liver X receptor*) indukuje lipogenezi v tukové tkáni aktivací proteinu ChREBP (*Carbohydrate-responzive element-binding protein*), který zastává roli regulátoru transkripčního faktoru *de novo* lipogeneze v buňkách tukové tkáně (Yilmaz a kol., 2016). Lipokiny jsou látky, které působí jako signální molekuly při regulaci *de novo* biosyntézy lipidů v játrech a tukové tkáni, čímž zasahují do celkového metabolismu a udržují metabolickou homeostázu organismu (Yilmaz a kol., 2016). Mimo esterů kyseliny palmitoolejové mohou zastávat funkci lipokinů i estery

hydroxylových, nasycených mastných kyselin. Estery hydroxylových mastných kyselin podporují sekreci inzulínu  $\beta$  buňkami pankreatu. Zvýšené množství inzulínu znamená zvýšenou stimulaci receptoru pro glukózu GLUT 4, který následně přijímá více glukózy, která cirkuluje v krvi. Glukóza je substrátem pro lipogenezi, tudíž její zvýšené přijímání buňkou znamená zvýšení lipogeneze (Song a kol., 2018).

Nasycené mastné kyseliny (ligandy receptorů)	EC <sub>50</sub> v $\mu\text{mol/l}$ (afinita ligandu)	
	FFAR 1 (GPR 40) receptor	FFAR 4 (GPR 120) receptor
Kyselina kaprylová (8:0)	38	-
Kyselina kaprinová (10:0)	14-43	-
Kyselina laurová (12:0)	6-12	-
<b>Kyselina myristová (14:0)</b>	<b>8-14</b>	<b>30</b>
Kyselina palmitová (16:0)	5-7	52
Kyselina stearová (18:0)	17	18

Tabulka č. 1 Afinita ligandu EC<sub>50</sub> v  $\mu\text{mol/l}$

(převzato z Miyamoto a kol., 2016)

Signalizace volnými mastnými kyselinami je zprostředkována přes receptory FFAR (*Free fatty acid receptor*). Je to skupina receptorů spojených s G proteiny, kterými se reguluje energetická rovnováha. Do skupiny FFAR receptorů patří GPR receptory (*G protein-coupled receptors*). Účinky kyseliny palmitoolejové a hydroxylových mastných kyselin jsou zprostředkované receptorem GPR120 spojeným s G proteinem (Song a kol., 2018). Volná kyselina myristová funguje jako ligand receptoru FFAR 1 (GPR 40) a FFAR 4 (GPR120). Ligandy těchto receptorů jsou všechny mastné kyseliny patřící do skupiny nasycených mastných kyselin s dlouhým řetězcem a středně dlouhým řetězcem. Některé ligandy působí jenom na jeden z FFAR 1 a FFAR 4 receptorů, ale kyselina myristová působí na oba receptory. K aktivaci těchto receptorů je zapotřebí různých koncentrací jednotlivých nasycených mastných kyselin, záleží na jejich afinitě k receptoru. Kyselina myristová aktivuje FFAR 1 při střední účinné koncentraci (EC<sub>50</sub>) 8-14  $\mu\text{mol/l}$  a receptor FFAR 4 při koncentraci 30  $\mu\text{mol/l}$ . Porovnání středních účinných koncentrací ligandů receptorů FFAR 1 a FFAR 4 (viz tabulka č. 1). Aktivací receptoru FFAR 1 kyselinou myristovou nebo ostatními ligandy dochází ke zvýšení sekrece inzulínu a udržování homeostázy v lidském organismu. Tento receptor se nachází na buňkách střevní sliznice, na imunitních buňkách, buňkách centrálního

nervového systému a na chuťových buňkách. Receptor FFAR 1 na chuťových buňkách zapříčiňuje vnímání chuti mastných kyselin. (Miyamoto a kol., 2016). Aktivací receptoru FFAR 4 je stimulován růst tukové tkáně (role v hospodaření s energií), probíhá regulace zánětu (role v imunitní odpovědi), příčina sekrece střevního hormonu. FFAR 4 receptor se nachází na povrchu buněk střevní sliznice, imunitních buněk, buněk slinivky břišní a adipocytů (Miyamoto a kol., 2016).

CYP4V2 je enzym, hydroxylasa, který specificky převádí kyselinu myristovou na hydroxy-myristovou kyselinu (Nakano a kol., 2009), která tak získá svou biologickou aktivitu (Song a kol., 2018).

## 5 Další účinky kyseliny myristové v organismu

Zastoupení jednotlivých mastných kyselin v lidském těle závisí do určité míry na složení tuku, který lidský organismus přijme potravou (Kremmyda a kol., 2011), závisí též i na *de novo* lipogenezi. Zastoupení mastných kyselin je také ovlivněno geneticky, působením hormonů, teploty organismu na enzymy jako jsou elongasy a desaturasy (Tvrzická a kol., 2009a). V současnosti je strava častěji příliš bohatá na nasycené mastné kyseliny, které jsou obsaženy ve strukturních sloučeninách jako triacylglyceroly a fosfolipidy, ale i ve formě volných mastných kyselin. Častá konzumace nasycených mastných kyselin, hlavně kyselin s dlouhým řetězcem zvyšuje hladiny cholesterolu v LDL částicích a zvyšuje zároveň cholesterol v HDL částicích. Poměr celkového cholesterolu k cholesterolu v HDL částicích se ale nemění (Siri-Tarino a kol., 2010). Nasycené mastné kyseliny blokují receptor pro LDL částice a tím zvyšují jejich koncentraci v krvi zejména při současném zvýšení celkového příjmu cholesterolu potravou (Siri-Tarino a kol., 2010). Cholesterol v LDL částicích je známý hlavně pro své aterogenní účinky (Tvrzická a kol., 2009). Koncentraci LDL částic nejvíce zvyšuje kyselina laurová (12:0), méně kyselina myristová (14:0) a nejméně kyselina palmitová (16:0), kyselina stearová (18:0) na cholesterol v LDL částicích nepůsobí (Siri-Tarino a kol., 2010).

Byla provedena studie vlivu kyseliny myristové a kyseliny palmitové na koncentraci lipoproteinů v krvi. Studie byla prováděna na dvanácti mužích, kterým byla podávána dieta po dobu tří týdnů bohatá buď na kyselinu myristovou nebo na kyselinu palmitovou. Bylo zjištěno, že kyselina myristová je mastná kyselina, jejíž konzumace nejvíce zvyšuje celkový cholesterol v krvi. Cholesterol v HDL částicích se zvýšil více v plazmě u subjektů, které

konzumovaly dietu s kyselinou myristovou a cholesterol v LDL částicích se pohyboval ve stejných hodnotách při obou dietách (Tholstrup a kol., 1994).

Kyselina myristová má aktivační účinek na enzym  $\Delta^6$ -desaturasu.  $\Delta^6$ -desaturasa je enzym, který vnáší dvojnou vazbu do uhlíkového řetězce mastné kyseliny v poloze za 6. uhlíkem a podílí se tak na syntéze polynenasycených mastných kyselin, jako je například kyselina eikosapentaenová nebo dokosahexaenová. Tyto polynenasycené mastné kyseliny mají prospěšný vliv na zdraví. Substrátem jsou kyseliny linolová (18:2) nebo  $\alpha$ -linolenová (18:3). Kyselina myristová také chrání kyselinu  $\alpha$ -linolenovou před  $\beta$  oxidací tím, že do  $\beta$  oxidace vstupuje přednostně. Touto ochranou kyselina myristová zvyšuje hladiny polynenasycených mastných kyselin v organismu (Beauchamp a kol., 2009a).

Kyselina myristová má vliv na biosyntézu *de novo* sloučeniny ceramidu. Ceramid je syntetizován za pomoci enzymu  $\Delta^4$ -desaturasy dihydroceramidu, který se účastní posledního kroku biosyntézy ceramidu.  $\Delta^4$ -desaturasa dihydroceramidu je enzym, který je modifikovaný za pomoci myristoylace, což jeho aktivitu snižuje. Vzniklý ceramid je součástí sfingolipidů a působí proapopticky. Předpokládá se, že modifikací enzymu  $\Delta^4$ -desaturasy dihydroceramidu by kyselina myristová mohla ovlivňovat apoptózu (Beauchamp a kol., 2009a).

## 6 Úloha kyseliny myristové v rozvoji zánětu

Zánět je proces, kterým reaguje lidský organismus na cizí antigeny, ale i na vnější podněty, jako je například poranění kůže, popálení a následné vniknutí patogenu, cizí částice nebo také ischemie tkáně. Zánět mohou způsobovat jak vlivy fyzikální, například pořezání, popálení, tak i chemické jako například poleptání. Zánět můžeme rozdělit na lokální a systémový. Lokální vzniká pouze v určitém místě nebo určité části těla, zatímco systémový zánět je zánět, který se rozšíří do celého těla. Systémový zánět nízkého stupně může vznikat také jako následek různých metabolických poruch jako je například diabetes mellitus 2. typu, kardiovaskulární onemocnění, rakovina a mnoho dalších. Zvýšené množství tělesného tuku způsobuje vyšší riziko vzniku patologických změn metabolismu a následného systémového zánětu (Rogero a Calder, 2018).

Nasycené mastné kyseliny způsobují chronický zánět několika způsoby. Například aktivací toll-like receptorů (aktivace toll-like receptoru 4, nebo toll-like receptoru 2) nebo v mitochondriích svými oxidačními produkty (Namgaladze a Brüne, 2016). Vliv každé mastné kyseliny na indukci zánětu je specifický a jeho prozkoumáním by mohl být objasněn vztah tuků a lidského zdraví (Fritsche, 2015).

## 6.1 Toll-like receptory

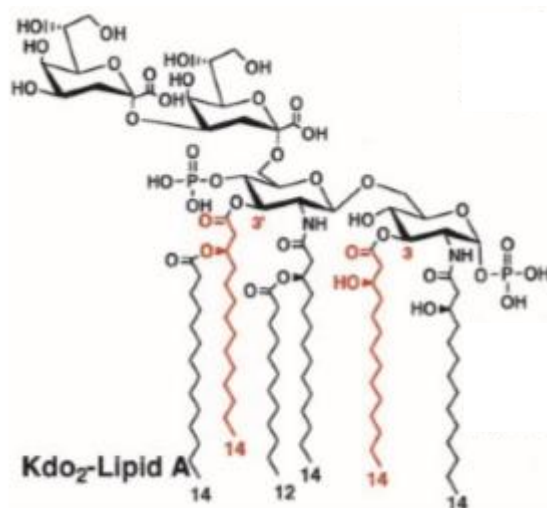
Toll-like receptory (TLR) jsou skupinou proteinů, které jsou začleněné v cytoplazmatické membráně buněk. Toll-like receptory patří do skupiny transmembránových receptorů, které reagují na přítomnost patogenních molekul a označují se zkratkou PRR (*Pattern recognition receptor*). Tyto receptory reagují na přítomnost patogenních molekul jako například PAMPs (*pathogen-associated molecular patterns*) nebo DAMPs (*damage-associated molecular patterns*) struktury. PAMPs jsou molekuly typické pro povrch patogenních mikroorganismů a DAMPs jsou molekuly typické pro poškození tělu vlastních buněk. Toll-like receptory mají významnou roli v imunitním systému a podílejí se na vzniku systémového zánětu. V lidském těle máme dva hlavní typy těchto receptorů: umístěné na povrchu buněk (TLR 1, TLR 2, TLR 4, TLR 5, TLR 6) a přítomné v intracelulárních organelách, jako je endoplazmatické retikulum nebo endozom (TLR 3, TLR 7, TLR 8, TLR 9). Existuje ale i jiné dělení, a to dělení do pěti tříd toll-like receptorů: TLR 2, TLR 3, TLR 4, TLR 5 a TLR 9. Do těchto tříd spadají ostatní toll-like receptory (Kordjazy a kol., 2018).

Receptory, které mohou být aktivovány pomocí lipidů, jsou toll-like receptor 4 a toll-like receptor 2. Toll-like receptor 4 je více specifický než toll-like receptor 2. To znamená, že toll-like receptor 4 reaguje převážně s jedním typem molekul, jako jsou například lipopolysacharidy, ale toll-like receptor 2 je schopný reagovat s částmi bakteriálního peptidoglykanu nebo s bakteriálními lipoproteiny (Raetz a Whitfield, 2002). Toll-like receptor 2 funguje pouze jako heterodimer s toll-like receptorem 1 nebo 6 (Fritche, 2015). Toll-like receptor 4 byl jako první objeven v lidském těle a funguje jako monomer. Je prezentován na povrchu imunitních buněk, jako jsou makrofágy, neutrofilů, ale i na adipocytech nebo enterocytech. Toll-like receptor 4 se také vyskytuje na membráně endotelových buněk (Raetz a Whitfield, 2002).

Toll-like receptor je aktivován hlavně lipopolysacharidy (LPS) (Rogerio a Calder, 2018), které patří do skupiny molekul PAMPs. Lipopolysacharid pochází z mikrobiálních produktů, které se do krve dostávají ze střeva, při zvýšeném obsahu tuků v potravě (Fritche, 2015). Byla provedena studie na myších, kdy jedna skupina myší přijímala stravu bohatou na tuky a druhá stravu na tuky chudou. U skupiny se stravou s vyšším obsahem tuků byla v krvi nalezena déletrvající zvýšená koncentrace endotoxinu (Cani a kol., 2007). Lipopolysacharid v krvi může také pocházet z běžné potravy jako jsou například mléčné výrobky a maso (Erridge, 2011). Lipopolysacharid je ve střevě vstřebán a přepravován v chylomikronech (Yu

a kol, 1997). Lipopolysacharid je endotoxin, který mají na svém buněčném povrchu hlavně Gram negativní bakterie (Fritsche, 2015) a skládá se z hlavní části nazývané lipid A. To je fosfolipid na bázi glukosaminu, který tvoří hydrofobní kotvu lipopolysacharidu, a je zanořený do vrstvy cytoplazmatické membrány (Raetz a Whitfield, 2002). Lipid A obsahuje dva glukosaminy, které jsou spojené přes hydroxy skupinu šestého uhlíku prvního glukosaminu a přes hydroxy skupinu na prvním uhlíku druhého glukosaminu. Na první glukosamin jsou navázané dva zbytky mastných kyselin, jeden na amino skupinu na druhém uhlíku a druhý je navázaný na hydroxy skupinu na třetím uhlíku glukosaminu. Jedná se o zbytky kyseliny 3-hydroxy-myristové. Na druhém glukosaminu jsou navázané čtyři zbytky mastných kyselin. Z těchto čtyř zbytků mastných kyselin jsou dva zbytky kyseliny 3-hydroxy-myristové navázané přímo na glukosamin přes amino skupinu na druhém uhlíku a přes hydroxy skupinu na třetím uhlíku. Poslední dva acyly jsou navázané na uhlovodíkové řetězce kyselin, které jsou vázány přímo a váží se přes hydroxy skupinu na třetím uhlíku již navázaných mastných kyselin. Jedná se o kyselinu myristovou (14:0) a kyselinu laurovou (12:0). Na první i druhý glukosamin jsou ještě navázané zbytky kyseliny fosforečné a to tak, že na prvním glukosaminu se váže na hydroxy skupinu na prvním uhlíku a na druhém glukosaminu se váže na hydroxy skupinu na šestém uhlíku. Jedná se o popis lipidu A u bakterie *Escherichia Coli* (viz obrázek č. 5). Jednotlivé druhy mastných kyselin se mohou lišit v závislosti na druhu bakterie. V lipidu A je až šest navázaných mastných kyselin s délkou dvanáct až šestnáct uhlíků (Rodego a Calder, 2018). Náhrada nasycených mastných kyselin s dvanácti až šestnácti uhlíky v lipidu A za mononenasyčené mastné kyseliny nebo za polynenasycené mastné kyseliny znemožňuje funkci lipopolysacharidu (Fritsche, 2015). Pro aktivaci toll-like receptoru je nutný výskyt nasycených mastných kyselin v lipopolysacharidu (Hwang a kol., 2016). Na lipid A se vážou dvě molekuly domény Kdo, což jsou dvě molekuly 3-deoxy-D-manno-okt-2-ulosonové kyseliny. Kdo jsou navázané přes hydroxy skupinu na šestém uhlíku druhého glukosaminu.

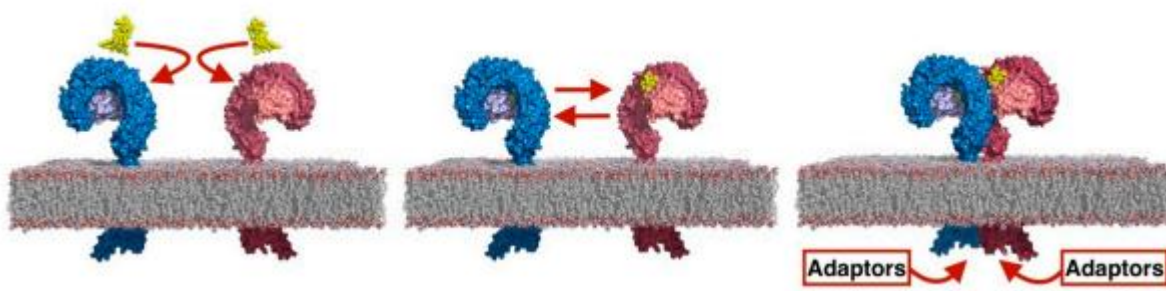
Na doménu Kdo se váže ethanolamin pyrofosfát, na který se vážou jednotlivé sacharidy například v pořadí: heptóza, galaktóza, glukóza, heptóza. Na poslední heptózu se váže O antigen. Jedná se o část lipopolysacharidu, která je nejdále od cytoplazmatické membrány. O antigen se skládá z oligosacharidových podjednotek, které se opakují a je specifický pro každou bakterii. Na délce oligosacharidu závisí způsob růstu bakterie v živném médiu a odolnost vůči antibiotikům (Raetz a Whitfield, 2002). Aktivace makrofágů je ovlivněna přes toll-like receptor 4. Druh navázané nasycené mastné kyseliny v lipidu A ovlivňuje aktivaci tohoto receptoru. Kyselina laurová a kyselina myristová jsou dvě



Obrázek č. 5 Lipid A navázaný na doménu Kdo<sub>2</sub>

(převzato z Raetz a Whitfield, 2002)

nejčastější mastné kyseliny vázající se v lipidu A, obě mají významnou úlohu v lipopolysacharidem-zprostředkované interakci s toll-like receptorem 4. Kyselina laurová má největší prozánětlivou aktivitu oproti ostatním nasyceným mastným kyselinám (Lee a kol., 2001). Pokud lipid A obsahuje jednu nenasycenou mastnou kyselinu, stává se neschopným vyvolat aktivaci a spíše inhibuje aktivaci toll-like recepturu a následnou produkci cytokinů (Wong a kol., 2009). Konkrétní mechanismus interakce toll-like recepturu 4 s lipopolysacharidem spočívá nejprve v rozpoznání. Aktivace toll-like recepturu 4 lipopolysacharidem probíhá buď přímou vazbou na receptor, a tím dojde k jeho aktivaci nebo nepřímou. Nepřímé vazby se účastní i další molekuly, jako je například znak CD 14 a rozpustný pomocný protein MD2 (lymfocytový antigen 96). Při nepřímé aktivaci je lipid A

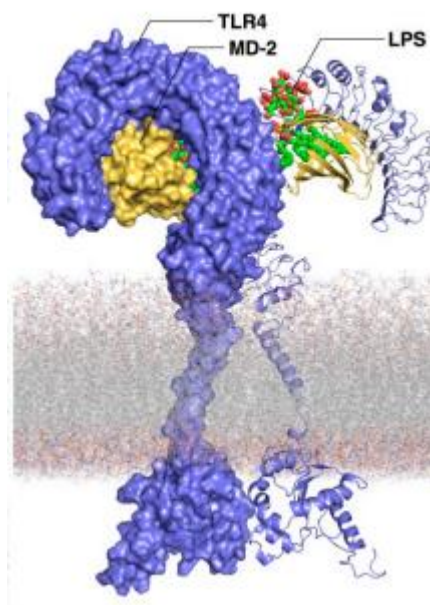


Obrázek č. 6 Dimerizace toll-like recepturu

(převzato z Billod a kol., 2016)

vázaný na lipopolysacharid vázající protein. Lipopolysacharid vázající protein interaguje s molekulou CD 14 a následně dochází k přenosu lipopolysacharidu na toll-like receptor 4 (Raetz a Whitfield, 2002). Nasycené mastné kyseliny v lipidu A se váží do hydrofobních domén receptoru a tím indukují dimerizaci.

Dimerizace je zásadní pro aktivaci receptoru (Hwang a kol., 2016). Dimerizace probíhá podle schématu (viz obrázek č. 6). Dva lipopolysacharidy nasedají na dva komplexy toll-like receptoru 4 s lymfocytovým antigenem 96 (MD 2). Následuje interakce protein-protein, po které se spojí domény obsahující TIR (*toll-interleukin receptor*) protein. TIR proteiny obsahují vazebné místo, které zprostředkovává vznik zánětlivé odpovědi (Billod a kol., 2016). Vazba toll-like receptoru s lipopolysacharidem *Escherichia coli* za pomoci molekuly MD 2 (viz obrázek č. 7).



Obrázek č. 7 Vazba LPS na toll-like receptor 4 za pomoci MD 2

(převzato z Billod a kol., 2016)

Konkrétní mechanismus přímé interakce mastných kyselin a toll-like receptoru 4 nebyl donedávna znám (Lee a kol., 2001). Volné mastné kyseliny v krvi mohou napodobovat účinky lipopolysacharidu (Fritsche, 2015) a tím samy o sobě zčásti indukovat zánět. Koncentrace volných mastných kyselin v plazmě představuje 0,7 mmol/l v postabsorbčním stavu, ale po mastném jídle stoupá (Lee a kol., 2001). Toll-like receptory mohou být aktivovány nebo inhibovány na ligandu nezávislým způsobem. Nasycené mastné kyseliny indukují vznik na ligandu nezávislé dimerizace a následné aktivace receptoru. Aktivace toll-like receptoru je naopak znemožněna hlavně dokosaheptaenovou kyselinou, která patří mezi

omega-3 polynenasycené mastné kyseliny a působí proti vzniku zánětu (Hwang a kol., 2016). Omega-3 polynenasycené mastné kyseliny inhibují aktivaci receptoru ligandem, lipopolysacharidem i aktivaci pomocí nasycených mastných kyselin. Kyselina dokosaheptaenová dokonce inhibuje vznik lipidových raftů. Schopnost na ligandu nezávislé dimerizace je zásadní při ovlivnění toll-like receptorů molekulami neinfekčního endogenního původu, což může vést ke vzniku sterilního zánětu (Hwang a kol., 2016). Sterilní zánět způsobený aktivací toll-like receptorů nasycenými mastnými kyselinami provází řadu chronických onemocnění, jako je například ateroskleróza nebo zánět tukové tkáně. K aktivaci toll-like receptoru pomocí lipopolysacharidu je nutná koncentrace v buněčné kultuře v rozmezí pmol/l nebo nmol/l, ale k aktivaci prostřednictvím volných nasycených mastných kyselin je zapotřebí vyšší koncentrace, až 100  $\mu$ mol/l (Hwang a kol., 2016).

Existuje několik možností aktivace toll-like receptoru volnými nasycenými mastnými kyselinami. Prvním příkladem je aktivace toll-like receptoru 4 jeho translokací do lipidových raftů (Hwang a kol., 2016), které se nacházejí v cytoplazmatické membráně. Lipidové rafty jsou úseky cytoplazmatické membrány, které mají odlišné složení od okolních částí. Nacházejí se zde transmembránové proteiny, zvýšený obsah cholesterolu, sfingomyelinu a glykolipidů (Wong a kol., 2009). Mezi transmembránové proteiny patří různé signální a transportní proteiny (Batchu a kol., 2016). V lipidových raftech dochází k zaregistrování signálu receptorem a k přenosu informace signálními molekulami. Kyselina laurová (12:0) prokazatelně indukuje dimerizaci toll-like receptoru 4 a jeho translokaci do lipidových raftů (Wong a kol., 2009). Kyselina laurová působí na toll-like receptor 4, který je v komplexu s pomocnými molekulami CD 14 a MD 2 (Rocha a kol., 2015). Většina nasycených mastných kyselin je schopná ovlivňovat toll-like receptor 4 v komplexu s pomocnými molekulami (Rocha a kol., 2015).

Druhým příkladem je heterodimerizace toll-like receptoru 2 nasycenými mastnými kyselinami. Při dimerizaci toll-like receptoru 2 dochází k následné translokaci molekul do lipidové frakce lipidových raftů, jako je protein MyD88 (*Myeloid differentiation primary response 88*) a p47phox, což je cytosolický protein NADPH oxidasy (Hwang a kol., 2016). Vazba zbytku kyseliny palmitové do hydrofobní kapsy toll-like receptoru 1 amidovou vazbou přispívá k heterodimerizaci s toll-like receptorem 2. Toll-like receptor 2 má navázané dva zbytky mastné kyseliny palmitové jako ligandy. Kyselina palmitová je nejvhodnější pro heterodimerizaci toll-like receptoru 2 s toll-like receptorem 1 (Hwang a kol., 2016). Volné mastné kyseliny způsobují dimerizaci toll-like receptorů zejména tak, že podporují tvorbu lipidových raftů, do kterých toll-like receptory přenášejí a interagují s hydrofobními

vazebnými kapsami toll-like receptorů. Dimerizace a translokace závisí z části na produkci reaktivních forem kyslíku, které vznikají za katalýzy NADPH oxidasou. Protein, fetuin A váže volné mastné kyseliny a funguje pravděpodobně jako jejich nosič. Předpokládá se, že by takto mohl nasycené mastné kyseliny předkládat toll-like receptorům (Hwang a kol., 2016). Nelze vyloučit, že některé nasycené mastné kyseliny působí jako přímé ligandy toll-like receptorů, ale je to málo pravděpodobné. Možností je, že se nasycené mastné kyseliny váží na CD 14, podobně jako kyselina laurová, a tím indukují aktivaci toll-like receptoru 4 (Lancaster a kol., 2018). Účinky jednotlivých nasycených mastných kyselin je třeba ještě prokázat (Hug a kol., 2018), jakož i účinek kyseliny myristové.

## 6.2 Aktivace NF- $\kappa$ B a rozvoj zánětu

Lidské tělo reaguje na zánět složkami humorálními i buněčnými. Prvním signálem k rozvoji zánětu patří reakce fagocytů na cizí antigen. Po navázání ligandu na receptor fagocytů (makrofágů), kterým je například toll-like receptor, dochází k aktivaci signálních drah a ty vedou k aktivaci NF- $\kappa$ B (Fritsche, 2015). NF- $\kappa$ B je heterodimerní komplex skládající se ze dvou podjednotek p50 a p65, účastníci se procesů vrozené i získané imunity, apoptózy, zánětu, proliferace apod. (Kawai a Akira, 2007). Vyskytuje se v cytoplazmě v neaktivní formě. V této formě je NF- $\kappa$ B navázaný na inhibitorové proteiny I $\kappa$ B. I $\kappa$ B se skládá ze tří podjednotek IKK $\alpha$ , IKK $\beta$ , IKK $\gamma$ . Podjednotky  $\alpha$  a  $\beta$  jsou enzymy, proteinkinasy a podjednotka  $\gamma$  je regulační molekula. Proteiny patřící do I $\kappa$ B slouží k maskování jaderného lokalizačního signálu, který NF- $\kappa$ B obsahuje a který způsobuje jeho translokaci do jádra. Aktivací toll-like receptorů dochází k fosforylaci zbytků serinu na molekule I $\kappa$ B. Následuje polyubikvitinace I $\kappa$ B a degradace v proteazomu. Jaderný lokalizační signál na molekule NF- $\kappa$ B je odhalen a je umožněn přesun do jádra buňky. (Kawai a Akira, 2007). Při klasické cestě probíhá fosforylace pomocí obou podjednotek IKK $\alpha$  i IKK $\beta$  a při alternativní cestě je fosforylace zprostředkována homodimerem IKK $\alpha$ -IKK $\alpha$ . IKK $\alpha$  je také důležitá i pro ukončení aktivace NF- $\kappa$ B (Kawai a Akira, 2007).

Toll-like receptor 2 a toll-like receptor 4 aktivují NF- $\kappa$ B cestou, na které využívají protein signální cesty MyD88. Toll-like receptor 2 potřebuje k interakci s MyD88 pomocný protein, kterým je TIRAP (*toll-interleukin receptor containing adaptor protein*). TIRAP slouží jako propojení mezi toll-like receptorem a molekulou MyD88. Toll-like receptor 4 potřebuje k propojení s MyD88 více pomocných proteinů, jako jsou TIRAP, TRIF (*TIR-domain containing adapter including interferon*) a TRAM (*translocating chain-associated membrane protein*). Toll-like receptor interaguje přes pomocné proteiny s jednou z domén

MyD88 a následně dochází k reakci MyD88 s enzymy IRAK (*Interleukin receptor associated kinase*). Enzym IRAK 4 se aktivuje fosforylací a dále aktivuje enzym IRAK 1 a oba se uvolní od molekuly MyD88. Oba enzymy IRAK 1 a IRAK 4 reagují s proteinem TRAF6. Protein TRAF 6 (*tumor necrosis receptor associated factor 6*) je ubikvitinován spolu s molekulou IKK $\gamma$ . Ubikvitinovaný TRAF 6 a IKK $\gamma$  spolu aktivují další kinázové komplexy, které zahrnují enzym kinasu TAK 1 (mitogen-activated protein kinase 7), TAB (TAK 1 vazebný protein), který aktivuje další komplexy zahrnující proteiny: MAPK, p38, což jsou mitogenem aktivované proteinkinasy a další. Nakonec dochází k aktivaci NF- $\kappa$ B (Kawai a Akira, 2007).

NF- $\kappa$ B se přesouvá do jádra buňky, kde spouští produkci cytokinů: interleukinu-1, interleukinu-6, tumor nekrotizující kofaktoru, interleukinu-8, dále kostimulačních receptorů a adhezivních molekul. Aktivací makrofágů přes toll-like receptor 4 se spouští produkce tumor nekrotizujícího faktoru- $\alpha$  a interleukinu-1 a dochází ke stimulaci tvorby tkáňového faktoru. Tkáňový faktor se tvoří i v endotelových buňkách (Raetz a Whitfield, 2002). Produkované cytokiny stimulují v játrech produkci proteinů akutní fáze, jako je například C reaktivní protein. Translokací NF- $\kappa$ B se spouští produkce enzymu cyklooxygenasy 2 (COX-2). Produkci cyklooxygenasy 2 může u řady dalších buněk způsobovat tumor nekrotizující faktor  $\alpha$  a interleukin 1. (Lee a kol., 2001). Koncentrace enzymu cyklooxygenasy 2 je zvýšená při zánětu nebo při nádorovém onemocnění a podporuje přeměnu kyseliny arachidonové na prostaglandiny a tromboxany (Lee a kol., 2001).

Kostimulační receptory jsou fragmenty antigenu, které jsou vystavovány na povrchu makrofágu a z něj se tak stává antigen prezentující buňka (APC). Tyto fragmenty se váží k proteinu hlavního histokompatibilního komplexu I a II, který makrofág již na svém povrchu má. Navázané fragmenty na histokompatibilní komplex I nasedají na receptory nezralých cytotoxických T lymfocytů, a fragmenty navázané na histokompatibilním komplexu II nasedají na receptory pomocných T lymfocytů. Navázaný makrofág, také produkuje do T buňky interleukin 1, který působí jako růstový faktor a také interleukin 2, který podporuje stimulaci interleukinem 1 a dozrávání. Následuje množení T buněk, jak cytotoxických označovaných jako T<sub>C</sub>, tak i pomocných T<sub>H</sub>. Namnožené cytotoxické T buňky jsou již zralé a vykonávají svou funkci. Navážou se na buňku obsahující na svém povrchu daný antigen a zničí ji. B buňky jsou aktivovány po setkání s antigenem, který se naváže na jejich imunoglobulin a pohltní ho. B buňky antigen prezentují v navázání na histokompatibilní komplex II. Pomocné T lymfocyty se na tento komplex s antigenem naváží pomocí svých specifických receptorů a uvolní interleukiny, které aktivují B buňky. Nastává množení B buněk a diferenciací v plazmatické buňky produkující specifické protilátky proti určeným

antigenům. Protilátky tyto antigeny označí pro fagocytózu nebo je jejich zničení zajištěno spuštěním aktivace komplementu. Vznikají také paměťové buňky. Ty mohou být jak cytotoxické T, tak pomocné T lymfocyty nebo také B buňky. Dalším typem buněk účastnících se na buněčné imunitě jsou supresorové, označované jako  $T_s$ , které inhibují proliferaci B buněk. Celkově tedy dochází k leukocytóze, obvykle nad hranici  $9 \times 10^9$  leukocytů v 1 l krve.

## 7 Vztah kyseliny myristové k ateroskleróze

Ateroskleróza je chronické zánětlivé onemocnění cévního systému spojované s částicemi LDL (*low density lipoproteins*). Ateroskleróza byla zkoumaná již v devatenáctém století, kdy byla poprvé zmíněna teorie německého lékaře Virchowa, která tvrdila, že je to onemocnění zánětlivé. V následujících letech se začalo spekulovat o ukládání lipidů do cévní stěny a také o vztahu zvýšeného příjmu cholesterolu v potravě a výskytu aterosklerózy. V roce 1910 Windaus zjistil, že v arteriální stěně postižené aterosklerózou je dvacetkrát více esterů cholesterolu a šestkrát více volného cholesterolu, než ve zdravé arteriální stěně (Windaus, 1910; Poledne, 2016).

Ateroskleróza je proces, který je příčinou kardiovaskulárních onemocnění, jako je ischemická choroba srdeční, cévní mozková příhoda a ischemická choroba dolních končetin, u kterých dochází k nedostatečnému prokrvení dané oblasti. Zasažuje zejména tepny velkého průřezu, hlavně tam, kde se krev víří a je po delší dobu ve styku s endotelem. Mezi velké tepny s častým výskytem aterosklerózy patří aorta, koronární tepny, tepny dolních a horních končetin (stehenní tepna, tepna podpažní, ...) a tepny v mozku.

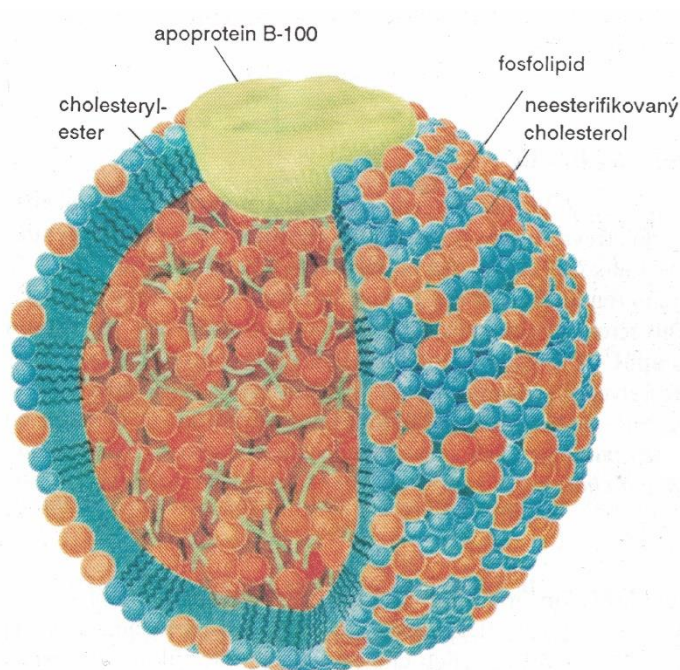
Proces aterosklerózy je dlouhodobý a zahrnuje několik stádií. První stádium představuje nahromaděné pěnové buňky tvořící lipidní proužky ve stěně tepny, postupně z nich vzniká vazivový aterosklerotický plát a dále aterom. V ateromu jsou pěnové buňky již prasklé a jsou zde uvolněné estery cholesterolu. Aterom se mění na fibrózní fibroaterom (vyzrálý aterosklerotický plát), který přechází do posledního stádia, a to stádia komplikovaných lézí, kdy může dojít ke krvácení do plátu. Fibroaterom se skládá z několika složek. Mezi buněčné složky patří například pěnové buňky, ostatní leukocyty (lymfocyty, dendritické buňky, žírné buňky), endotelové buňky, dále se zde nachází pojivová tkáň a mezibuněčná hmota. Cholesterol pocházející z LDL částic se ukládá do buněk a do mezibuněčné hmoty. Ve stádiu komplikovaných lézí dochází ke kalcifikaci plátu a ukládání hemosiderinu (Chen a Fisher, 2016).

Existují dva typy aterosklerotických plátů. Prvním je stabilní aterosklerotický plát, kde převládá vazivová složka, a tudíž je zde menší pravděpodobnost prasknutí plátu. U nestabilního aterosklerotického plátu převládá část aterosklerotická, je zde riziko prasknutí. Aterosklerotické pláty mají zdrsňený povrch, který spolu s možným krvácením do plátu nebo prasknutím plátu, vedou ke vzniku krevní sraženiny. Krevní sraženina buď částečně zamezí průtok krve tepnou a vznikají ischemie, nebo úplně a následně vznikají infarkty. Ischemie je stav, kdy daný orgán nebo oblast nedostává kyslík v takové míře, jaký potřebuje. Infarkt nastává po úplném zamezení průtoku krve tepnou, a tedy dochází k úplnému přerušení dodávky kyslíku. Nejčastěji vzniká v koronárních tepnách, kde zapříčiňuje infarkt myokardu.

Buňky endotelu cév za normálních podmínek pohlcují částice LDL regulovaně. Pohlcování částic LDL buňkami endotelu a buňkami mimojaterní tkáně a částečně i makrofágy se děje procesem endocytózou, která je zprostředkována vazbou na specifický receptor pro LDL, který se nachází v jamkách cytoplazmatické membrány. Jamky se po aktivaci receptoru vchlipují víc a víc dovnitř buňky, až vznikne váček. Váček je vytvořený z membrány, je opláštěný molekulami klathrinu a obsahuje částici LDL. Dochází ke ztrátě klathrinového pláště. Molekuly klathrinu se depolymerizují a vytvoří klathrinové triskeliony, které putují zpět na spodní stranu jamky s receptory v cytoplazmatické membráně. Neopláštěný váček, endozom, se spojí s váčkem CURL (*compartment of uncoupling of receptor and ligand*), který má kyselé prostředí. Okyselené prostředí (pH 5) způsobí vyvázání částice LDL od svého receptoru. Receptory se shromažďují ve výchlípce váčku a částice LDL je umístěna ve středu váčku. Výchlípka membrány váčku s LDL receptory se od váčku oddělí a putuje zpět k cytoplazmatické membráně buňky, kde s ní splyne a vytvoří novou jamku s receptory. Váček s částicí LDL splyvá s lysozomálním váčkem. Tímto splynutím vzniká sekundární lysozom, ve kterém je částice LDL degradována na aminokyseliny a estery cholesterolu. Estery cholesterolu jsou dále hydrolyzovány na cholesterol a mastné kyseliny, které jsou  $\beta$  oxidovány.

Při ateroskleróze dochází k poškození endotelu tepen. K poškození dochází několika způsoby: mechanickým poškozením v důsledku zvýšeného krevního tlaku, biologickými vlivy (působení některých bakterií nebo virů, což je časté u nemocných s diabetem) a toxickými vlivy (oxidovaná částice LDL, homocystein). Poškození toxickými vlivy, hlavně oxidovanou částicí LDL, je časté při kouření (Racek, 2010). Takto poškozený endotel má vyšší adhezivnost pro bílé krvinky, porušenou propustnost pro lipoproteiny a produkuje molekuly buněčné adheze, jako je vaskulární molekula buněčné adheze (VCAM-1), selektin a intercelulární adhezivní molekula (ICAM-1). Tyto molekuly zapříčiní migraci monocytů do

tkáně, jejich přeměnu na makrofágy a případně jejich adhezi na poškozené endotelové buňky (Moriya, 2018). Pokud je v krvi dlouhodobě zvýšená koncentrace LDL lipoproteinů, dochází ke zvýšení jejich koncentrace i v subendotelové vrstvě tepny. Makrofágy, které se nacházejí v této vrstvě, vycytávají přítomné oxidované částice LDL prostřednictvím vazby na scavenger receptory: SR A receptorem (*scavenger receptor A*) a CD 36 receptorem. Neoxidovaná částice LDL je vycytávána LDL-R receptorem. Toll-like receptory se na povrchu makrofágu také vyskytují a hrají roli v indukci zánětu. Aktivace toll-like receptorů oxidovanými LDL částicemi, má za následek podpoření zánětu v aterosklerotickém plátu. Nasycené mastné kyseliny aktivují toll-like receptor 4 změnami v lipidových raftech. Mimo makrofágů se zánětu v aterosklerotickém plaku účastní žírné buňky, které uvolňují histamin a leukotrieny (Moriya, 2018). Zánět způsobený aterosklerózou je chronický a podporuje vznik patologických změn metabolismu (Batchu a kol., 2016). Krevní destičky se na poškozeném endotelu hromadí a v rámci reparačního procesu dochází k růstu buněk hladkého svalstva, čímž se zmenšuje vnitřní průměr tepny (Chen a Fisher, 2016).



Obrázek č. 8 Částice LDL

(převzato z Voet a Voetová, 1990)

Zvýšená koncentrace LDL lipoproteinů v plazmě je stav, kdy jsou LDL náchylné ke glykaci nebo oxidaci (Moriya, 2018) volnými radikály kyslíku, zejména při delším pobytu u stěny cévy. Vznik aterosklerózy ovlivňuje též velikost částic LDL (Poledne, 2016). Malé částice LDL vznikají častěji při nahrazení nasycených mastných kyselin v potravě za

sacharidy. Tyto částice LDL se rychleji oxidují a rychleji se dostávají do stěny cévy (Poledne, 2016) a nazývají se malé denzní LDL částice (sdLDL) (Racek, 2010). V krvi chrání částice LDL před oxidací antioxidanty, jako je například vitamín E, ale v cévní stěně tomu tak není (Racek, 2010).

Částice LDL v těle vznikají postupnou přeměnou z částic IDL (*intermediate density lipoproteins*), které se přeměnili z částic VLDL (*very low density lipoproteins*), které jsou produkovány játry. Přeměna na částice LDL zahrnuje ztrátu triacylglycerolů a přijímání cholesterolu (Racek, 2010). Částice LDL se skládá z vnitřní části, která je hydrofobní, a z obalu. Ve vnitřní části se nacházejí estery cholesterolu a triacylglyceroly. V plášti se nacházejí fosfolipidy, estery cholesterolu, volný cholesterol a nejméně jedna molekula apolipoproteinu B-100 (viz obrázek č. 8).

Za vznik a progresi aterosklerózy zodpovídají především modifikované LDL lipoproteiny. Modifikace probíhá nejčastěji oxidací, případně glykací (Racek, 2010). Oxidace LDL je komplexní proces způsobený reaktivními formami kyslíku, zejména hydroxylovým radikálem ( $\bullet\text{OH}$ ) a kyselinou chlornou ( $\text{HClO}$ ). Oxidace probíhá na jednotlivých složkách LDL částice. Oxidací fosfolipidů a následnou hydrolýzou fosfolipidů pomocí speciální fosfolipasy Lp-PLA<sub>2</sub> (lipoprotein-associated phospholipase A<sub>2</sub>) vznikají jednotlivé oxidované mastné kyseliny a lyzolecitin, který podporuje zánět a proliferaci buněk endotelu (Racek, 2010). Při oxidaci vícenenasycených mastných kyselin, které se nacházejí v esterech cholesterolu a ve fosfolipidech, vznikají hydroperoxydy. Následně dochází ke štěpení oxidovaného řetězce vícenenasycených mastných kyselin na sloučeniny o počtu tří až devíti uhlíků, kterými jsou reaktivní aldehydy, např. malondialdehyd a 4-hydroxynonenal. Malondialdehyd se v některých případech váže na apolipoprotein B-100 a způsobí jeho modifikaci (Racek, 2010). Tato modifikace zabrání vazbě na LDL receptor. Oxidací cholesterolu vznikají oxysteroly. Oxidace probíhá na různých místech molekuly a následně na cholesterol působí hydroxylasy. Hlavními produkty oxidace cholesterolu jsou 27-OH-cholesterol a 7 $\alpha$ -OH-cholesterol. 7 $\alpha$ -OH-cholesterol se přeměňuje na 7 $\beta$ -OH-cholesterol a poté na epoxycholesteroly, které mají cytotoxické účinky (Racek, 2010). Cytotoxické účinky mají i další produkty oxidace cholesterolu, jako jsou 7-ketocholesterol, cholestan-3P, které ovlivňují sodno-draselné pumpy a zvyšují příjem vápníku buňkou (Sevanian a kol., 1995). Glykace probíhá na rozdíl od oxidace i v krevním řečišti. Reakce probíhá na molekule apolipoproteinu B-100. Dochází k navázání molekuly glukózy na  $\epsilon$ -aminoskupinu lyzinu, který je součástí apolipoproteinu. Ke glykaci je zapotřebí dlouhodobě zvýšená hladina glukózy v krvi, např. u diabetiků (Racek, 2010). Oxidované LDL má biologické účinky na

buňky hladké svaloviny ve stěně cévy, zvyšuje jejich proliferaci a tím i ztluštění cévní stěny. Dále podporuje uvolňování kolonii makrofágů stimulujícího faktoru (M-CSF), který indukuje přeměnu monocytů na makrofágy. Endotelové buňky oxidované LDL, které způsobují jejich poškození, přijímají interakcí s LOX-1 receptorem pro oxidované LDL (Racek, 2010). Oxidované LDL se nachází v plazmě i v aterosklerotických lézích. V plazmě je jejich koncentrace nezávislá na stupni aterosklerózy, tudíž je nelze použít jako indikátor onemocnění. V plazmě se zvýšená koncentrace oxidovaných LDL vyskytuje u jedinců, kteří mají predispozice k ateroskleróze, jako je například obezita, mužské pohlaví, nedostatek pohybu atd. (Racek, 2010). Oxidované LDL aktivuje transkripční faktory a stimuluje produkci prozánětlivých cytokinů. Mezi transkripční faktory ovlivněné oxidovanými LDL lipoproteiny patří NF- $\kappa$ B (stimuluje produkci cytokinů), aktivační protein 1 (kontroluje produkci prozánětlivých cytokinů), STAT 1/3 (převádí signál a aktivuje transkripci), a další.

Makrofágy, které se nacházejí v subendotelové vrstvě poškozené cévy přijímají oxidované LDL fagocytózou. Fagocytóza se rozděluje na dva podtypy, heterofagii a autofagii. Heterofagie je pohlcování částic, které se nacházejí mimo makrofága. Autofagie je proces, kdy dochází k pohlcování částic, které se už nachází v cytoplazmě makrofágů (Sergin a kol., 2015). Oba tyto procesy se svým dílem účastní na procesu aterosklerózy. Příjem modifikovaných LDL, které se nacházejí mimo buňku je neomezený oproti příjmu nemodifikovaných LDL. To umožňuje neomezené shromažďování modifikovaných LDL v makrofágu a vznik pěnových buněk (Sergin a kol., 2015). Vzniklý endozom s modifikovaným LDL splývá s lysozomem, kde dochází k hydrolýze. V lysozomu je enzym, lipasa lysozymové kyseliny, který uvolní volný cholesterol. Lysozomální produkty degradace modifikovaných LDL putují v lysozomu do endoplazmatického retikula. Volný cholesterol je následně dopravován k cytoplazmatické membráně a je do ní začleňován, nebo je reesterifikován a ukládán v buňce ve formě lipidových kapének. Na cholesterolstery v kapénkách působí cytoplazmatické hydrolasy a vznikají molekuly volného cholesterolu, které jsou z buňky odstraněny cestou závislou na proteinu ABCA1, který transportuje cholesterol ven z buňky (Sergin a kol., 2015). Autofagie pomáhá odstraňovat lipidové kapénky, které nejsou odstraněny cestou za pomoci ABCA1, z cytoplazmy makrofágů. Proces odstraňování lipidových kapének se také nazývá lipofagie. Lipofagie probíhá vytvořením váčku, který je obalený dvojitou vrstvou membrány. Váček se vytvoří kolem lipidových kapének a následně splyne s lysozomy. Pokud není možné, aby lipofagie probíhala v dostatečné míře, dochází k hromadění lipidových kapének v makrofágu a dochází ke vzniku pěnových buněk a ke zvýšení zánětlivé reakce (Sergin a kol., 2015). Nadbytkem kapének

v makrofágu se poškozují jeho orgány a je porušena rovnováha jeho vnitřního prostředí (Sergin a kol., 2015). Hromaděním nefunkčních organel (poškozených mitochondrií) a proteinových shluků dochází k produkci reaktivních forem kyslíku, podpoření zánětu a k apoptóze (Sergin a kol., 2015).

Pokud je v potravě dlouhodobě zvýšená přítomnost nasycených mastných kyselin, dochází ke zvyšování celkového cholesterolu v plazmě, tedy k zvyšování koncentrace částic LDL v krvi a částic HDL v menší míře (Poledne, 2016). Pokud je kyselina laurová, myristová a stearová ve zvýšené míře přijímaná potravou, je vyšší riziko následného vzniku infarktu myokardu (Kabagambe a kol., 2003). Dalšími mastnými kyselinami, které mají podíl na vzniku kardiovaskulárního onemocnění, chronického zánětu, poruchy metabolismu lipidů a dalších nepříznivých účinků, jsou trans mastné kyseliny (Mozaffarian a Willett, 2007). Polynenasycené mastné kyseliny mají naopak příznivé působení a snižují riziko vzniku těchto onemocnění.

Ke vzniku aterosklerózy kyselina myristová přispívá dvěma způsoby, a to zvyšováním koncentrace LDL lipoproteinů v krvi, které nastává při jejím zvýšeném příjmu potravou. Druhou možností je účast na zánětu spojeném s aterosklerózou. Kyselina myristová interaguje s toll-like receptory, které jsou umístěné na povrchu makrofágů, což zapříčiní produkci prozánětlivých cytokinů a rozvoj sterilního zánětu cévy.

## 8 Závěr

Kyselina myristová je nasycená mastná kyselina s dlouhým řetězcem, která se vyskytuje v malém množství začleněná v lipidech v lidském těle. V malém množství je přijímána potravou, z větší části si ji organismus syntetizuje sám *de novo* biosyntézou z nadbytečných sacharidů. Kyselina myristová vstupuje do buňky a je začleněna do buněčných lipidů,  $\beta$  oxidována nebo je využita k acylaci proteinů. Acylace proteinů je důležitá pro jejich správnou funkci a u některých pro ukotvení v cytoplazmatické membráně. Kyselina myristová funguje i jako lipokin. Je ligandem receptorů FFAR 1 a FFAR 4. Aktivací receptoru FFAR 1 například zvyšuje sekreci inzulínu. V zánětlivé reakci, která se vyskytuje i u aterosklerózy, se spekuluje o možnosti aktivace toll-like receptorů kyselinou myristovou přímým způsobem nebo způsobem nezávislým na ligandu. Kyselina myristová, která byla přijata potravou, podporuje vznik aterosklerózy zvyšováním koncentrace LDL lipoproteinů v krvi.

## 9 Literární zdroje

- (1) Batchu S. N., Chaudhary K., Zlobine I., Pawa J., Seubert J. M. Fatty acids and cardiac ischemia reperfusion injury. In: Watson R. R., Meester F. Handbook of Lipids Function: Fatty Acids. United States of America, Elsevier, **2016**, str. 809, ISBN: 978-1-63067-036-8.
- (2) Beauchamp E., Rioux, V., Legrand, P. Acide myristique nouvelles fonctions de régulation et de signalisation. *Revue de Synthèse*. **2009a**, č. 25, str. 57-63.
- (3) Beauchamp E., Tekpli X., Marteil G., Lagadic-Gossmann D., Legrand P., Rioux V. N-myristoylation targets dihydroceramide  $\Delta^4$ -desaturase 1 to mitochondria: partial involvement in the apoptic effect of myristic acid. *Biochimie*. **2009b**, č. 91, str. 1411-1419.
- (4) Billod J.-M., Lacetera A., Guzmán-Caldentey J., Martín-Santamaría S. Computational approaches to toll-like receptor 4 modulation. *Molecules*. **2016**, č. 21 (994), str. 1-24.
- (5) Cabrera-Vera T. M., Vanhauwe J., Thomas T. O., Medková M., Preininger A., Mazzoni M. R., Hamm H. E. Insights into G protein structure, function, and regulation. *Endocrine Reviews*. **2003**, č. 24 (6), str. 765-781.
- (6) Cani P. D., Amar J., Iglesias M. A., Poggi M., Knauf C., Bastelica D., Neyrinck A. M., Fava F., Tuohy K. M., Chabo Ch., Waget A., Delmeé E., Cousin B., Sulpice T., Chamontin B., Ferrières J., Tanti J.-F., Gibson G. R., Gasteilla L., Delzenne N. M., Alessi M. Ch., Burcelin R. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*. **2007**, č. 56, str. 1761-1772.
- (7) Cao H., Gerhold K., Mayers J. R., Wiest M. M., Watkins S. M., Hotamisligil S. G. Identification of lipokine, a lipid hormone linking adipose tissue to systemic metabolism. *Cell*. **2008**, č. 134, str. 933-944.
- (8) Carvahlo C. C. R., Caramujo M. J. The various roles of fatty acids. *Molecules*. **2018**, č. 23, str. 1-36.
- (9) Erridge C., The capacity of foodstuffs to induce innate immune activation of human monocytes in vitro is dependent on food content of stimulants of toll-like receptors 2 and 4. *British Journal of Nutrition*. **2011**, č. 105, str. 15-23.
- (10) Fritsche K. L. The science of fatty acids and inflammation. *Advances in Nutrition*. **2015**, č. 6, str. 2935-3015.
- (11) Hořejší V., Bartůňková J. *Imunologie*. 3. vyd. Praha: Triton, **2005**, 279 s., ISBN 80-7254-686-4.
- (12) Hug H., Mohajeri M. H., Fata G. Toll-like receptors: regulators of the immune response in the human gut. *Nutrients*. **2018**, č. 10 (203), str. 1-16.

- (13) Hwang D. H., Kim J. A., Lee J. Y. Mechanisms for the activation of toll-like receptor 2/4 by saturated fatty acids and inhibition by docosahexaenoic acid. *European journal of pharmacology*. **2016**, č. 785, str. 24-35.
- (14) Chen X.-Y., Fisher M. Pathological characteristics. *Frontiers of Neurology and Neuroscience*. **2016**, č. 40, st. 21-33.
- (15) Kabagambe E. K., Baylin A., Siles X., Campos H. Individual saturated fatty acids and nonfatal acute myocardial infarction in Costa Rica. *European Journal of Clinical Nutrition*. **2003**, č. 57, str. 1447-1457.
- (16) Kawai T, Akira S. Signaling to NF- $\kappa$ B by toll-like receptors. *Trends in molecular medicine*. **2007**, č. 13, str. 460-469.
- (17) Kordjazy N., Haj-Mirzaian Arvin, Haj-Mirzaian Arya, Mojtaba Rohani M., Gelfand E. W., Rezaei N., Hossein Abdolghaffari. A role of toll-like receptor in inflammatory bowel disease. *Pharmacological Research*. **2018**, č. 129, str. 204-215.
- (18) Kremmyda L.-S., Tvrzická E., Staňková B., Žák A. Fatty acids as biocompounds: their role in human metabolism, health and disease – a review. part 2: fatty acid physiological roles and applications in human health and disease. *Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacký, Olomouc, Czech Republic*. **2011**, roč. 155, č. 3, str. 195-218.
- (19) Lancaster G. I., Langley K. G., Berglund N. A., Meikle P. J., Bond P. J., Febbraio M. A. Evidence that TLR4 is not a receptor for saturated fatty acids but mediates lipid-induced inflammation by reprogramming macrophage metabolism. *Cell metabolism*. **2018**, č. 27, str. 1096-1110.
- (20) Lee J. Y., Sohn K. H., Rhee S. H., Hwang D., Saturated fatty acids, but not unsaturated fatty acids, induce the expression of cyclooxygenase-2 mediated through toll-like receptor 4. *Journal of Biological Chemistry*. **2001**, č. 276 (10), str. 16683-16689.
- (21) Linder M. E., Pang I. H., Duronio R. J., Gordon J. I., Sternweis P. C., Gilman A. G. Lipid modifications of G protein subunits. Myristoylation of G $\alpha$  increases its affinity for beta gamma. *Journal of Biological Chemistry*. **1991**, č. 266, str. 4654-4659.
- (22) Martin D. O., Beauchamp E., Berthiaume L. G. Post-translational myristoylation: fat matters in cellular life and death. *Biochimie*. **2011**, č. 93, str. 18-31.
- (23) Mazaffarian D., Willett W. C. Trans fatty acids and cardiovascular risk: a unique cardiometabolic imprint? *Current atherosclerosis reports*. **2007**, č. 9(6), str. 486-493.
- (24) Miyamoto J., Hasegawa S., Kasubuchi M., Ichimura A., Nakajima A., Kimura I. Nutritional signaling via free fatty acid receptors. *International Journal of Molecular Sciences*. **2016**, č. 17 (450), str. 1-12.

- (25) Moriya J. Critical roles of inflammation in atherosclerosis. *Journal of cardiology*. **2018**, str. 22-27.
- (26) Murdolo G., Bartolini D., Tortoioli C., Piroddi M., Iuliano L., Galli F. Lipokines and oxysterols: novel adipose-derived lipid hormones linking adipose dysfunction and insulin resistance. *Free radical biology and medicine*. **2013**, č. 65, str. 811-820.
- (27) Murray R. K., Bender D. A., Botham K. M., Kennelly P. J., Rodwell V. W., Weil P. A. *Harperova ilustrovaná biochemie*. 1. vyd. Praha 5: Galén, **2012**, 730 s., ISBN 978-80-7262-907-7.
- (28) Nakano M., Kelly E. J., Rettie A. E. Expression and characterization of CYP4V2 as a fatty acid  $\omega$ -hydroxylase. *Drug metabolism & Disposition*. **2009**, č. 37, str. 2119-2122.
- (29) Namaladze D., Brüne B. Macrophage fatty acid oxidation and its roles in macrophage polarization and fatty acid-induced inflammation. *Biochimica et Biophysica Acta*. **2016**, č. 1861, str. 1796-1807.
- (30) Poledne R. Inflammation and atherogenic effects due to saturated fatty acids. In: Watson R. R., Meester F. *Handbook of Lipids Function: Fatty Acids*. United States of America, Elsevier, **2016**, str. 809, ISBN: 978-1-63067-036-8.
- (31) Racek J. Oxidované LDL a ateroskleróza. *Labor aktuell*. **2010**, č. 03/10, str. 12-15.
- (32) Raetz C. R. H., Whitfield C. Lipopolysaccharide endotoxins. *Annual review of biochemistry*. **2002**, č. 71, str., 635-700.
- (33) Ratnayake V. M., Galli C. Fat and fatty acid terminology, methods of analysis and fat digestion and metabolism: a background review paper. *Annals of nutrition & Metabolism*. **2009**, č. 55, str. 8-43.
- (34) Resh M. D. Fatty acylation of proteins: new insights into membrane targeting of myristoylated and palmitoylated proteins. *Biochimica et Biophysica Acta*. **1999**, č. 1451, str. 1-16.
- (35) Rioux V., Catheline D, Legrand P., In rat hepatocytes, myristic acid occurs through lipogenesis, palmitic acid shortening and lauric acid elongation. *Animal*. **2007**, č. 1/6, str. 820-826.
- (36) Rioux V. Legrand P. Metabolism and the functions of myristic acid. *Oléagineux Corps Gras Lipides*. **2001**, č. 8 (2), str. 161-166.
- (37) Rocha D. M., Caldas A. P., Oliviera L. L., Bressan J., Hermsdorff H. H. Saturated fatty acids trigger TLR4-mediated inflammatory response. *Atherosclerosis*. **2016**, č. 244, str. 211-215.
- (38) Rogero M., Calder P. C. Obesity, inflammation, toll-like receptor 4 and fatty acids. *Nutrients*. **2018**, č. 10 (432), str. 1-19.

- (39) Sergin I., Evans T., Razani B. Degradation and beyond: the macrophage lysosome as a nexus for nutrient sensing and processing in atherosclerosis. *Current opinion in lipidology*. **2015**, č. 26 (5), str. 394-404.
- (40) Serra J. L., Cruz Rodrigues A. M., Freitas R. A., Almeida Meirelles A. J., Darnet S. H., Silva S. H. M. Alternative sources of oils and fats from Amazonian plants: Fatty acids, methyl tocopherols, total carotenoids and chemical composition. *Food Research International*. **2019**, č. 116, str. 12-19.
- (41) Sevanian A., Hodis H. N., Hwang J., McLeod L. L., Peterson H. Characterization of endothelial cell injury by cholesterol oxidation products found in oxidized LDL. *Journal of lipid research*. **1995**, č. 36, str. 1971-1986.
- (42) Siri-Tarino P. W., Sun Q., Hu F. B., Krauss R. M. Saturated Fatty Acids and Risk of Coronary Heart Disease: Modulation by Replacement Nutrients. *Current atherosclerosis reports* **2010**, č. 12, str. 384-390.
- (43) Song Z., Xiaoli A. M., Yang F. Regulation and metabolic significance of de novo lipogenesis in adipose tissues. *Nutrients*. **2018**, č. 10, str. 1-22.
- (44) Temme E. H. M., Mensink R. P., Hornstra G. Effects of medium chain fatty acids (MCFA), myristic acid, and oleic acid on serum lipoproteins in healthy subjects. *Journal of lipid research*. **1997**, č. 38, str. 1746-1754.
- (45) Tholstrup T., Marckmann P., Jespersen P., Vessby B., Jart A., Sandström B. Effect on blood lipids, coagulation, and fibrinolysis of a fat high in myristic acid and a fat high in palmitic acid. *The American Journal of Clinical Nutrition*. **1994**, č. 60, str. 9919-25.
- (46) Tvrzická E., Staňková B., Vecka M., Žák A. Mastné kyseliny 1. Výskyt a biologický význam. *Časopis českých lékařů*. **2009a**, roč. 148, č. 1, str. 16-24.
- (47) Tvrzická E., Staňková B., Vecka M., Žák A. Mastné kyseliny 2. Fyziologický a klinický význam. *Časopis českých lékařů*. **2009b**, roč. 148, č. 3, str. 116-123.
- (48) Voet D., Voetová J. G. *Biochemie*. 1. vyd. Praha: Victoria Publishing Praha, **1990**, 1325 s., ISBN 80-85605-44-9.
- (49) Windaus A. Über den gehalt normaler und atheromatöser aorten cholesterin und cholesterinestern. *Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische. Chemie*. 2009, **1910**, č. 67(2), str. 174-176.
- (50) Wong S. W., Kwon M. J., Choi A. M. K., Kim H. P., Nakahira K., Hwang D. H. Fatty acids modulate toll-like receptor 4 activation through regulation of receptor dimerization and recruitment into lipid rafts in a reactive oxygen species-dependent manner. *Journal of Biological Chemistry*. **2009**, č. 284, str. 27384-27392.
- (51) Yilmaz M., Claiborn K. C., Hotamisligil G. S. De novo lipogenesis products and endogenous lipokines. *Diabetes*. **2016**, č. 65, str. 1800-1807.

- (52) Yu B., Hailman E., Wright S. D. Lipopolysaccharide binding protein and soluble CD14 catalyze exchange of phospholipids. *The Journal of Clinical Investigation*. **1997**, č. 99(2), str. 315-324.