

UNIVERZITA PARDUBICE  
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2017

VERONIKA VÁCLAVKOVÁ

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Oxidace mastných kyselin a její regulace

Veronika Václavková

Bakalářská práce

2017

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2015/2016

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Veronika Václavková**  
Osobní číslo: **C13400**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Název tématu: **Oxidace mastných kyselin a její regulace**  
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 :

1. Seznamte se s literárními údaji o fyziologických mastných kyselinách. Vypracujte přehled jednotlivých mastných kyselin.
2. Diskutujte význam mastných kyselin v tukové tkáni, játrech, svalech a v lidské plasmě - jejich zdroj, funkci v organismu, metabolismus a jejich význam pro získání energie.
3. Popište typy oxidace mastných kyselin u člověka, včetně jejího průběhu a regulace.
4. Popište metodiku pro stanovení profilu mastných kyselin u člověka a pro charakterizaci průběhu jejich oxidace.
5. Informace přehledně zpracujte, použijte obrázky, schémata a grafy a ze získaných literárních údajů vyvoďte závěry o významu oxidace mastných kyselin pro člověka. Diskutujte vliv poruch molekulárního mechanismu oxidace mastných kyselin na výskyt onemocnění.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

**Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.**

Vedoucí bakalářské práce:

**prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.**  
Katedra biologických a biochemických věd

Konzultant bakalářské práce:

**Ing. Martina Líbalová**  
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce:

**18. prosince 2015**

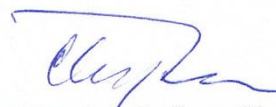
Termín odevzdání bakalářské práce:

**3. července 2016**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.  
děkan

L.S.



prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 15. února 2016

## Prohlášení

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.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

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.

V Pardubicích dne 6. 3. 2017

.....

Veronika Václavková

## **Poděkování**

Tímto bych ráda poděkovala vedoucímu práce panu prof. Ing. Alexandru Čeganovi, CSc a paní Ing. Martině Špryncové za jejich odbornou pomoc a cenné rady, které mi pomohly při zpracování bakalářské práce.

## **Anotace**

Bakalářská práce popisuje význam mastných kyselin v lidském organismu. Jsou zde popsány i důležité vlastnosti těchto kyselin a jejich uplatnění. Mezi stěžejní kapitoly této práce patří popis metabolismu mastných kyselin, průběh jejich oxidace a následné využití organismem. Závěr práce se věnuje analytickému stanovení mastných kyselin.

## **Klíčová slova**

mastné kyseliny,  $\beta$ -oxidace, regulace, metabolismus, metabolomika

## **Title**

Fatty acid oxidation and its regulation

## **Annotation**

Bachelor thesis describes the importance of fatty acids in the human organism. The important properties of these acids and their use are described here. The main chapters of this work include the description of fatty acid metabolism, the course of their oxidation and the subsequent use of the organism. The conclusion of the thesis deals with analytical determination of fatty acids.

## **Keywords**

fatty acids,  $\beta$ -oxidation, regulation, metabolism, metabolomics

.



## Obsah

0	Úvod .....	11
1	Mastné kyseliny .....	12
1.1	Názvosloví mastných kyselin.....	14
1.2	Přehled mastných kyselin.....	15
2	Význam mastných kyselin ve tkáních .....	20
2.1	Lidská plasma.....	20
2.1.1	Zdroj.....	20
2.1.2	Funkce.....	20
2.1.3	Význam pro získání energie .....	21
2.2	Svaly.....	21
2.2.1	Zdroj.....	21
2.2.2	Funkce.....	21
2.2.3	Metabolismus.....	21
2.2.4	Význam pro získání energie .....	22
2.3	Tuková tkáň.....	22
2.3.1	Zdroj.....	22
2.3.2	Funkce.....	22
2.3.3	Metabolismus.....	22
2.3.4	Význam pro získání energie .....	23
2.4	Játra .....	23
2.4.1	Zdroj.....	23
2.4.2	Funkce.....	23
2.4.3	Metabolismus.....	23
2.4.4	Význam pro získání energie .....	24
3	Metabolismus lipidů .....	26
3.1	Metabolismus mastných kyselin .....	27

3.1.1	Exogenní metabolismus .....	27
3.1.2	Endogenní metabolismus .....	28
4	Oxidace mastných kyselin u člověka .....	29
4.1	Aktivace mastných kyselin .....	29
4.2	Transport přes mitochondriální membránu .....	30
4.3	Oxidace .....	31
4.3.1	B-oxidace .....	31
4.3.2	Peroxisomální $\beta$ -oxidace.....	33
4.3.3	Oxidace nenasycených mastných kyselin.....	33
4.3.4	Oxidace rozvětvených mastných kyselin.....	34
4.3.5	Oxidace s lichým počtem uhlíků .....	36
4.4	Regulace oxidace mastných kyselin.....	36
4.4.1	Aktivace oxidace mastných kyselin.....	36
5	Metabolomika.....	37
5.1	Stanovení mastných kyselin pomocí plynové chromatografie.....	38
5.2	Stanovení mastných kyselin pomocí kapalinové chromatografie .....	38
5.3	Kombinované techniky stanovení mastných kyselin .....	39
6	Závěr.....	41
7	Citovaná literatura .....	44

## 0 Úvod

Pro živočichy jsou tuky jednoznačně nepostradatelné, proto není dobré je z jídelníčku vyřazovat, ale dbát na vhodný výběr. Při nevyvážené konzumaci zvyšují riziko vzniku řady onemocnění. Tuky jsou součástí každé buňky, mají zásadní význam pro mnoho funkcí našeho těla, od kardiovaskulárního systému až po systém nervový. Jsou složeny z glycerolu a různých mastných kyselin, které mají v závislosti na druhu rozdílné účinky na naše zdraví. Každý tuk obsahuje mastné kyseliny v různém poměru.

Tuk je nerozpustný ve vodě, naopak se dobře rozpouští v organických rozpouštědlech jako je například chloroform.

Z lipidů je získávána energie, především při dlouhodobé zátěži, kdy už není možno štěpit glykogen. Pro tento účel jsou lipidy uvolňovány z tukových zásob. Jsou důležitou součástí membrán všech buněk. Jsou dobrými tepelnými izolanty a jako tukový polštář poskytují mechanickou ochranu orgánům.

Základní složkou lipidů jsou mastné kyseliny. V lipidech se vyskytují ve formě esterů. Mastné kyseliny jsou zdrojem nejenom energie, ale i látek, které jsou pro organismus životně důležité. Těmito látkami jsou například eikosanoidy.

Hlavním cílem bakalářské práce je popsat vlastnosti, metabolismus a regulaci mastných kyselin u člověka.

# 1 Mastné kyseliny

Mastné kyseliny jsou z biochemického hlediska vyšší monokarboxylové kyseliny, které se v přírodě vyskytují se sudým počtem uhlíkových atomů, protože jejich biosyntéza probíhá adicí acetátu. Existují volné (volné mastné kyseliny, VMK, free fatty acids, FFA) nebo je nalezneme vázané jako součást biologicky důležitých látek (ve formě esterů s alkoholy – glycerolem, sfingosinem nebo cholesterolem) např.:

- Buněčné membráně (fosfolipidy membrán)
- Glykolipidy - nervové tkáni
- Lipidy mají také zásobní funkci: Ze všech živin jsou to nejvydatnější zdroje energie
- Eikosanoidy, deriváty eikosa-polyenových mastných kyselin, tedy látky jako prostaglandiny, leukotrieny nebo thromboxany, jsou vnitrobuněčné signalizační molekuly (tzv. autokrinní), které ovlivňují svalový stah, srážení krve, bolest či například zánět

Jelikož mají amfipatickou povahu jsou navázány na bílkoviny, které umožňují jejich přenos. Zejména dochází k vazbě na albumin a k vazbě na vazebný protein. [1]

Existují s uhlíkovými řetězci dlouhými od dvou do třiceti šesti uhlíků. Mastné kyseliny s počtem 4 až 14 a 20 až 36 atomů uhlíku nejsou běžné. U člověka se obvykle vyskytují mastné kyseliny s počtem 16–20 atomů uhlíku. [2], [3]

Mastné kyseliny můžeme dělit dle následujících kritérií:

- dle stupně nasycenosti

Nasycené mastné kyseliny obsahují pouze jednoduché vazby, jsou nepostradatelné pro syntézu steroidních hormonů a zajišťují tělu přísun cholesterolu.

Nenasycené obsahují jednu i více dvojných vazeb a pomáhají udržovat správnou hladinu cholesterolu. [4] Dělí se na MUFA (mononenasycené mastné kyseliny, monounsaturated fatty acids) a PUFA (polynenasycené mastné kyseliny, polyunsaturated fatty acids).

MUFA mají ve svém řetězci pouze jednu dvojnou vazbu. Do skupiny PUFA se řadí všechny ostatní MK a nezáleží na počtu dvojných nebo trojných vazeb. Nutno zdůraznit, že MK s trojnými vazbami se v přírodních lipidech vyskytují vzácně.

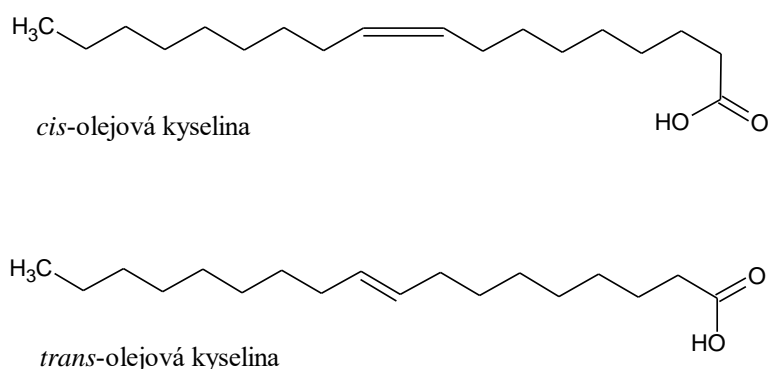
PUFA se dále rozdělují na omega 3 (hlavní kyselinou je  $\alpha$ -linolenová), omega 6 MK (především kyselina linolová) a omega 9 (např. kyselina olejová). [3], [5]

- dle délky řetězce
  - SCT – krátký řetězec – do C6 (kyselina máselná)
  - MCT – střední řetězec – C6-C12 (kys. laurová, kapronová, ...)

- LCT – dlouhý řetězec – nad C12 (kys. palmitová, stearová...)

- dle umístění dvojně vazby

Další typ dělení je cis- a trans-. To jsou dva stabilní stereoizomery, které se liší pouze v poloze substituentů na dvojně vazbě, jak je na obrázku číslo jedna. Pokud se nacházejí na stejné straně dvojně vazby, jedná se o izomer cis-, pokud na opačných stranách jedná se o izomer trans-. [6] V lidském těle se přirozeně vyskytují pouze cis-izomery. [2], [7] Trans-izomery vznikají hydrogenací rostlinných olejů. Zvýšená konzumace pak může přispívat k srdečně cévním onemocněním a zřejmě i k rozvoji nádorových onemocnění. [8]



**Obrázek 1:** Cis- a trans- izomery.

- esenciální, neesenciální

Mastné kyseliny se dělí na esenciální a neesenciální neboli na postradatelné a nepostradatelné. Pro každý živočišný druh jsou esenciální mastné kyseliny jiné. Pro člověka to jsou kyseliny linolová,  $\alpha$ -linolenová. Lidský organismus si je nedokáže vyrobit a musí je přijímat v potravě. Kyselinu linolovou nejvíce obsahují plnotučné mléčné výrobky a hovězí a skopové maso. Kyselinu  $\alpha$ -linolenovou obsahuje merlík čilský (více je známý jako quinoa), lněná semínka a vlašské ořechy. [9], [10]

## 1.1 Názvosloví mastných kyselin

Názvy nasycených karboxylových kyselin (tzv. systematické názvosloví) se tvoří tak, že k označení alifatického uhlovodíku s karboxylovou skupinou se přidává zakončení „-ová kyselina“, např. kyselina s 18 uhlíky se bude nazývat oktadekanová kyselina. Pokud bude obsahovat jednu dvojnou vazbu, za název sloučeniny se přidá koncovka „-en“. Kyselina opět s 18 uhlíky se bude nazývat oktadecenová kyselina. Abychom věděli, na kterém uhlíku se dvojná vazba nachází, je nutné takový řetězec očíslovat. Začíná se od karboxylového uhlíku, kterému je přiřazeno číslo jedna nebo od koncového, který se označuje jako  $\omega$ . Kyselina s 18 uhlíky a jednou dvojnou vazbou na devátém uhlíku (počítáno tedy od karboxylového uhlíku) se tedy bude nazývat oktadec-9-enová kyselina. [6], [7] Pokud bychom postupovali od koncového uhlíku, označila by se jednoduše  $\omega$ -9 nebo n-9. Takto se mastné kyseliny označují formálně.

Další možností pro pojmenování mastných kyselin je použití zkrácených zápisů, jejichž obecný tvar je  $C_n:m;o$ . Jednotlivá písmena znamenají: C – uhlík, n – počet uhlíků v řetězci, m – počet dvojných vazeb a o – číslo uhlíku, na kterém se dvojná vazba vyskytuje. Zápis kyseliny, která má 18 uhlíků a jednu dvojnou vazbu na devátém uhlíku, bude tedy vypadat takto: C18:1;9.

K označení mastných kyselin se velmi často používají triviální názvy. Kyselinou, kterou jsem zde uváděla různými zápisy, je kyselina olejová.

## 1.2 Přehled mastných kyselin

Mastné kyseliny mají celou řadu biologických i fyziologických účinků. A to jak pozitivních, tak i negativních.

Mezi ty pozitivní patří především tvorba eikosanoidů. Organismus si je tvoří z kyselin eikosapentaenové a arachidonové. Aby se poznalo, od které kyseliny jsou odvozeny, přidávají se k nim indexy. K prostaglandinům a tromboxanům odvozených od kyseliny eikosapentaenové (EPA) se přidává dolní index 3, od kyseliny arachidonové (AA) index 2. Pokud jde o leukotrieny od EPA, značí se dolním indexem 5. Leukotrieny od AA jsou s indexem 4. Eikosanoidy jsou velmi důležité látky, které ovlivňují krevní tlak, agregaci trombocytů nebo např. nervový přenos v CNS (viz význam mastných kyselin). [11]

V případě, že kyselinou olejovou nahradíme nasycené mastné kyseliny ve své stravě, můžeme zlepšit poměr HDL vůči LDL spolu s úpravou inzulínové rezistence. Za těchto podmínek má kyselina olejová i antitrombotické a antiaterogenní účinky. [3], [4]

Z mastných kyselin, které mají na náš organismus negativní vliv, bych zdůraznila hlavně kyselinu erukovou. Je považována za kardiotoxickou. Výzkumnou formou na zvířatech se projeví léze na myokardu. U pacientů s adrenoleukodystrofií měla sice zvýšená konzumace této kyseliny pozitivní vliv na fluiditu membrán trombocytů, ale bohužel též negativní účinky na myokard. [3]

Jak už bylo zmíněno, PUFA se dělí na n-3 a n-6. Zvýšená konzumace n-3 MK může mít protizánětlivé účinky nebo snížit riziko trombózy. [12] Obecně indukují procesy apoptózy, potlačují proliferaci, angiogenezi, invazivní růst nádoru a rozvoj metastáz. [7] Zajišťují správnou funkci nervové tkáně a sítnice. [3]

Eikosanoidy tvořené z AA, která patří k n-6 MK, vznikají ve větší míře než z EPA, která je n-3 MK. Je tomu tak díky skladbě potravy v západních zemích. Zvýšená koncentrace těchto eikosanoidů může přispívat k většímu riziku vzniku trombů, zánětlivých onemocnění. Proagregační účinky spolu se zvýšenou viskozitou krve může vést k snížení kapilární krvácivosti. [13]

V průběhu staletí se se změnou životního stylu i výrazně změnil vzájemný poměr n-3 a n-6 MK v neprospěch n-3 MK. V zemích, kde je rozdíl v poměrech největší, to může mít za následek zvýšený počet především kardiovaskulárních onemocnění. Do této skupiny bohužel patří i Česká republika. [7] Vracení poměru zpět na původní hodnoty by významně snížilo mortalitu nejen na kardiovaskulární onemocnění, ale ovlivnilo by to i alergické a autoimunitní choroby (astma bronchiale a revmatoidní arthritida, některá psychiatrická

onemocnění (Alzheimerova choroba) a nádory (kolorektální karcinom, nádory prsu a prostaty). [12]

V následující Tabulce č. 1 je zpracován přehled nejdůležitějších mastných kyselin a jejich význam v lidském těle. [2], [9], [14]

*Tabulka 1:* Přehled mastných kyselin

Název	Zkrácený název / n-x	Struktura mastné kyseliny	Význam
<b>Octová k.</b>	2:0	$\text{CH}_3\text{COOH}$	Využívána k syntéze MK
<b>Propionová k.</b>	3:0	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$	Metabolizována na glukózu [3]
<b>Máselná k.</b>	4:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	Součást triacylglycerolů v mateřském mléce
<b>Valerová k.</b>	5:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$	Zefektivňuje produkci monoklonálních protilátek u rekombinantních buněčných kultur [15]
<b>Kapronová k.</b>	6:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$	Pro člověka nevýznamná
<b>Kaprylová k.</b>	8:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	Pro člověka nevýznamná
<b>Kaprinová k.</b>	10:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$	Antimikrobiální účinky [16]
<b>Laurová k.</b>	12:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$	Přeměněná tělem na monolaurin – antibakteriální účinky [16]



Název	Zkrácený název / n-x	Struktura mastné kyseliny	Význam
<b>Myristová k.</b>	14:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	Kovalentně vázána na některé proteiny
<b>Myristolejová k.</b>	14:1 / n-5	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	-----
<b>Pentadekanová k.</b>	15:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{COOH}$	-----
<b>Palmitová k.</b>	16:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	Produkt syntézy mastných kyselin
<b>Palmitolejová k.</b>	16:1; 9 / n-7	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Součástí komplexních lipidů
<b>Heptadekanová k.</b>	17:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{COOH}$	-----

Název	Zkrácený název / n- x	Struktura mastné kyseliny	Význam
<b>Stearová k.</b>	18:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	Součástí komplexních lipidů
<b>Vakcentová k.</b>	18:1	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_9\text{COOH}$	-----
<b>Olejová k.</b>	18:1; 9 / n-9	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Součástí komplexních lipidů
<b>Linolová k.</b>	18:2; 9,12	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	Esenciální mastná kyselina
<b>Linolenová k.</b>	18:3; 9,12,15	$\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	Esenciální mastná kyselina
<b>Γ-linolenová</b>	18:3 / n-6	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_3(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$	Prekurzorem AA
<b>Arachidová k.</b>	20:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	Měřitelná v krevním séru u osob s metabolickými poruchami
<b>Gondoová k.</b>	20:1 / n-9	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8 \text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_9\text{COOH}$	-----
<b>Gadolová k.</b>	20:1 / n- 11	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9 \text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	-----
<b>Eikosapentaenová k. (Timnodonová k.)</b>	20:5 / n-3	$\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_5(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	Správná funkce nervové tkáně a sítnice
<b>Arachidonová k.</b>	20:4; 5,8,11,14 / n-6	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_4(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	Prekurzor eikosanoidů
<b>Behenová k.</b>	22:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOH}$	Měřitelná v séru u osob s metabolickými poruchami

Název	Zkrácený název / n- x	Struktura mastné kyseliny	Význam
<b>Eruková k.</b>	22:1 / n-9	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{11}\text{COOH}$	Kardiotoxická [3]
<b>Cetolová k.</b>	22:1 / n- 11	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_9\text{COOH}$	-----
<b>Adrenová k.</b>	22:4 / n-6	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_4(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$	-----
<b>Klupadonová k.</b>	22:5 / n-3	$\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_5(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$	Správná funkce nervové tkáně a sítnice
<b>Lignocerová k.</b>	24:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$	-----
<b>Nervonová k.</b>	24:1 / n-9	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{13}\text{COOH}$	Součást sfingolipidů
<b>Cerotová k.</b>	26:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{24}\text{COOH}$	Měřitelná v krevním séru u osob s metabolickými poruchami
<b>Montanová k.</b>	28:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{26}\text{COOH}$	Měřitelná v krevním séru u osob s metabolickými poruchami
<b>Melissová k.</b>	30:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{28}\text{COOH}$	Měřitelná v krevním séru u osob s metabolickými poruchami [17]

## 2 Význam mastných kyselin ve tkáních

### 2.1 Lidská plasma

#### 2.1.1 Zdroj

Zdrojem MK je střevo, ze kterého se vstřebávají a jsou inkorporovány do chylomikronů. Dále se MK mohou uvolnit z tukové tkáně a navázat na albumin. Tím je zajištěna jejich rozpustnost ve vodném prostředí, v tomto případě v lidské plazmě. Tu chápou jako transportní medium, které zajišťuje, že molekuly budou dopraveny do potřebných míst.

#### 2.1.2 Funkce

Z některých hydrolyzou vznikají druzí poslové, které syntetizují buňky jako odpověď na signál. Tím může být třeba vazba hormonu na receptor. Zlepšení činnosti mozku napomáhá fosfatidylserin, který podporuje uvolňování neurotransmiterů a aktivitu jejich receptorů.

Mohou být prekurzory hormonů, jako jsou např. eikosanoidy. Ty fungují jako regulační molekuly, které se vyskytují u většiny forem života. Na rozdíl od endokrinních hormonů, tyto působí pouze autokrinně nanejvýš parakrinně. Dělí se na čtyři hlavní skupiny, a to prostaglandiny, leukotrieny, prostacyklíny a tromboxany. [18]

Účinky prostaglandinů jsou podmíněny vazbou na specifický receptor, a tak mohou mít v různých buňkách i protichůdné metabolické a fyziologické odezvy. Ovlivňují např. krevní tlak, nervový přenos v CNS, agregaci trombocytů. Ve všech stádiích gravidity působí jako látky vyvolávající potrat. Působení prostaglandinů a prostacyklinů je podobné.

Tromboxany syntetizují výhradně krevní destičky. Způsobují vazokonstrikci cév a agregaci trombocytů. Tím mají výrazní vliv na srážení krve. Podílejí se na zánětlivých projevech a působí na kontrakci hladké svaloviny.

Leukotrieny jsou syntetizované jako odpověď na imunologické i neimunologické stimuly. Účinkují již v extrémně nízkých koncentracích. Jejich působení vede k vyplavení histaminu, snížení krevního tlaku a zvýšení permeability kapilár a mají také chemotaktické účinky. Dále regulují činnost polymorfonukleárů a podílejí se na indukci sekreci lysozymových enzymů. Ukazuje se, že jsou mediátory šoku a ischemie. Připisuje se jim i významná úloha v patogenezi astma bronchiale, ale i u jiných chorob, kde hraje roli imunotolerance a zánětlivá složka. [11]

### 2.1.3 Význam pro zisk energie

Plazma je pro zisk energie důležitá, tím že zajišťuje transport volných mastných kyselin po celém organismu. Nejdůležitější pro získání energie jsou svaly a játra.

## 2.2 Svaly

### 2.2.1 Zdroj

Mastné kyseliny se ke svalům dostávají plazmou, kde jsou zabudované v chylomikronech a LDL nebo navázané na albumin. Děje se tak v případě, že se jim nedostává energie v podobě glukózy.

### 2.2.2 Funkce

Svalová tkáň se rozděluje na červenou a bílou.

Červená svalová vlákna (tzv. pomalá vlákna I. typu) se zaměřují na aerobní zátěž (cyklistika, plavání, aj.). Jejich hlavním zdrojem energie je  $\beta$ -oxidace MK. K tomuto druhu metabolismu je zapotřebí bohaté cévní zásobení a vysoký počet mitochondrií. Protože takový způsob získávání energie vyžaduje kyslík, cytoplasma svalových buněk obsahuje i protein, který umožňuje kyslík skladovat. Tento protein se nazývá myoglobin.

Naproti tomu bílá svalová tkáň (tzv. rychlá vlákna II. typu) je zaměřena na získávání ATP z anaerobních procesů (glykogenolýza a anaerobní glykolýza). Tomu odpovídá i jejich stavba – mají horší cévní zásobení i počet mitochondrií je nižší oproti červeným svalovým vláknům. Pro jejich potřeby jsou ale nutné enzymy glykolýzy a molekuly glykogenu. Jsou ideální pro činnosti, které lze vykonat jednorázově – skok, sprint atd.

### 2.2.3 Metabolismus

Jakmile organismus začne vykonávat aerobní zátěž, energie pro činnost svalů se získává z MK, které pocházejí z intramuskulárních zásob nebo jsou nově dopraveny krví.

Na začátku cvičení při nízké intenzitě přednostně spotřebovávají MK z plazmy, protože je jich dostatek. Poté, co cvičení trvá a jeho intenzita roste, svaly začnou spotřebovávat své intramuskulární zásoby. Ty poskytují dostatek energie pro střední intenzitu cvičení po dobu přibližně dvou hodin, následně se svaly opět vracejí ke spalování MK z plazmy.

V případě anaerobní činnosti svaly uplatňují anaerobní glykolýzu, během níž se zvyšuje koncentrace laktátu. Ten způsobuje pálení ve svalech při velmi intenzivním cvičení. Po přibližně třech minutách, kdy organismus koná anaerobní činnost se začne tvorba laktátu zpomalovat a tělo dostane signál, že se blíží ke svým tělesným hranicím. Je to ochranný

mechanismus těla před vyčerpáním nebo zraněním. Bylo zjištěno, že se laktát vyplaví z organismu asi hodinu po cvičení, a tedy ani nemůže způsobovat bolesti svalů ještě několik dní po fyzické námaze. Tuto bolest způsobuje poškození svalových buněk, které se stalo během cvičení.

Při snaze snížit hladinu laktátu se organismus sice bolesti po cvičení nezbaví, ale umožní mu to příště cvičit intenzivněji a déle.

#### 2.2.4 Význam pro získání energie

Svalová tkáň se skládá, jak z červených, tak i z bílých vláken. Zapojují se podle dostupnosti kyslíku ve tkáni. [19], [20], [21]

### 2.3 Tuková tkáň

#### 2.3.1 Zdroj

Nadbytek volných mastných kyselin je uložen ve formě lipidových inkluzí v adipocytech, tedy v tukové tkáni.

Organismus se snaží nadbytek volných mastných kyselin co nejdříve uložit do tukové tkáně nebo zmetabolizovat, protože mohou být pro organismus i toxické. Při vysoké koncentraci volných mastných kyselin se na buněčných membránách začnou projevovat strukturální změny. To má dopad na srdeční funkci (indukce arytmií) a na hemokoagulační kaskádu (ovlivnění trombocytární membrány, aj.). [22]

#### 2.3.2 Funkce

Zásobní funkci plní MK v tukové tkáni, kde jsou ukládány nejenom jako zásoba energie, ale slouží zde i jako tepelná a mechanická izolace.

Pro jejich skladování se spotřebuje méně vody než pro uskladnění stejného množství sacharidů ve formě glykogenu. Lze je také ukládat prakticky v neomezeném množství, jak můžeme vidět u některých druhů zvířat ukládajících se k zimnímu spánku nebo lépe u obézních lidí.

#### 2.3.3 Metabolismus

V případě potřeby se zvýší koncentrace glukagonu, adrenalinu a noradrenalinu, způsobí to zvýšení hladiny cAMP v tukové tkáni.

Aktivuje se tím cAMP-dependentní protein kináza, která podnítlí fosforylací hormon-senzitivní lipázy (HSL). Fosforylace zároveň stimuluje lipolýzu, která má za následek

vyplavení MK do krve. Tam se váží MK na sérový albumin, který je dopraven krví například do jater, kde se zahájí jejich  $\beta$ -oxidace. [2]

#### 2.3.4 Význam pro zisk energie

Z evolučního hlediska umožňovaly adipocyty přežití jedince v dobách hladovění, díky své specializaci na ukládání energetických zásob. Později ale přišla neolitická doba, následně průmyslová revoluce. Ta pozměnila životní styl člověka do takové míry, že dnešní Evropan pravidelná období hladu nezažívá.

I když se zdá, že už tuková tkáň není potřeba, opak je pravdou. I minimální množství lipidů uloženého mimo tukovou tkáň znamená dysfunkci nebo apoptózu postižených buněk. Typickým příkladem může být jaterní steatóza. [23]

### 2.4 Játra

#### 2.4.1 Zdroj

Hlavním zdrojem MK pro oxidaci nebo syntézu v játrech je potrava. V případě nedostatku energie se do jater transportují MK z tukové tkáně prostřednictvím plazmy.

#### 2.4.2 Funkce

Játra regulují poměr zásob sacharidů, tuků a bílkovin podle aktuální zásoby sacharidů. Mohou se zde tuky měnit na cukry a zvyšovat tak zásobu glykogenu, nebo při nadbytku glykogenu se mohou aminokyseliny i glukóza transformovat na tuky a ukládat v tukové tkáni. Tím v podstatě dochází k regulaci metabolismu i ostatních živin.

Vzniká zde většina fosfolipidů. Ty tvoří nepostradatelnou část všech buněčných membrán. Složení biomembrán buněk jednotlivých tkání je rozdílné. To platí i pro živočišné druhy. Například membrána lidského erytrocytu obsahuje 1,5 % kyseliny fosfatidové a 0,5 % myelinu. Membrána bakterie *Escherichia coli* tyto látky neobsahuje.

Játra jsou také místem syntézy cholesterolu a tvoří se tu i plazmatické lipoproteiny, odbourávají se zbytky chylomiker nebo VLDL, vychytávají LDL a tvoří HDL a VLDL. [24]

#### 2.4.3 Metabolismus

Tukový metabolismus sice probíhá v celém těle, ale v játrech nejintenzivněji. V klidovém stavu jsou játra jedním z hlavních míst oxidace volných mastných kyselin. Pod termínem „volné mastné kyseliny“ jsou myšleny mastné kyseliny vázané na albumin

a cirkulující v plazmě. Většina je v játrech také reesterifikována do triacylglycerolů a fosfolipidů.

TAGy jsou triestery glycerolu a mastných kyselin. Jsou to nepolární a ve vodě nerozpustné sloučeniny. Vzhledem k této skutečnosti musí být skladovány v nevodném prostředí.

Kromě oxidace FFA se zde též uskutečňuje jejich syntéza. Iniclace probíhá, jestliže je v buňkách k dispozici velké množství acetyl-CoA, ale jeho spotřeba je malá. K tomuto procesu typicky dochází po jídle.

I když má syntéza MK řadu podobných rysů jako jejich oxidace, probíhá v cytoplasmě a její dílčí kroky katalyzují jiné enzymy.

Pokud mají vzniknout delší MK než kyselina palmitová, podstupují proces elongace v endoplazmatickém retikulu nebo v mitochondriích. Nenasycené MK vznikají působením desaturas také v endoplazmatickém retikulu. Vzhledem k jejich specifitě nemohou být některé člověkem syntetizovány a musí být přijímány potravou (esenciální MK). [2]

Pro organismy je výhodnější si uchovávat jako zdroj energie TAGy než sacharidy z důvodu nižší spotřeby vody.

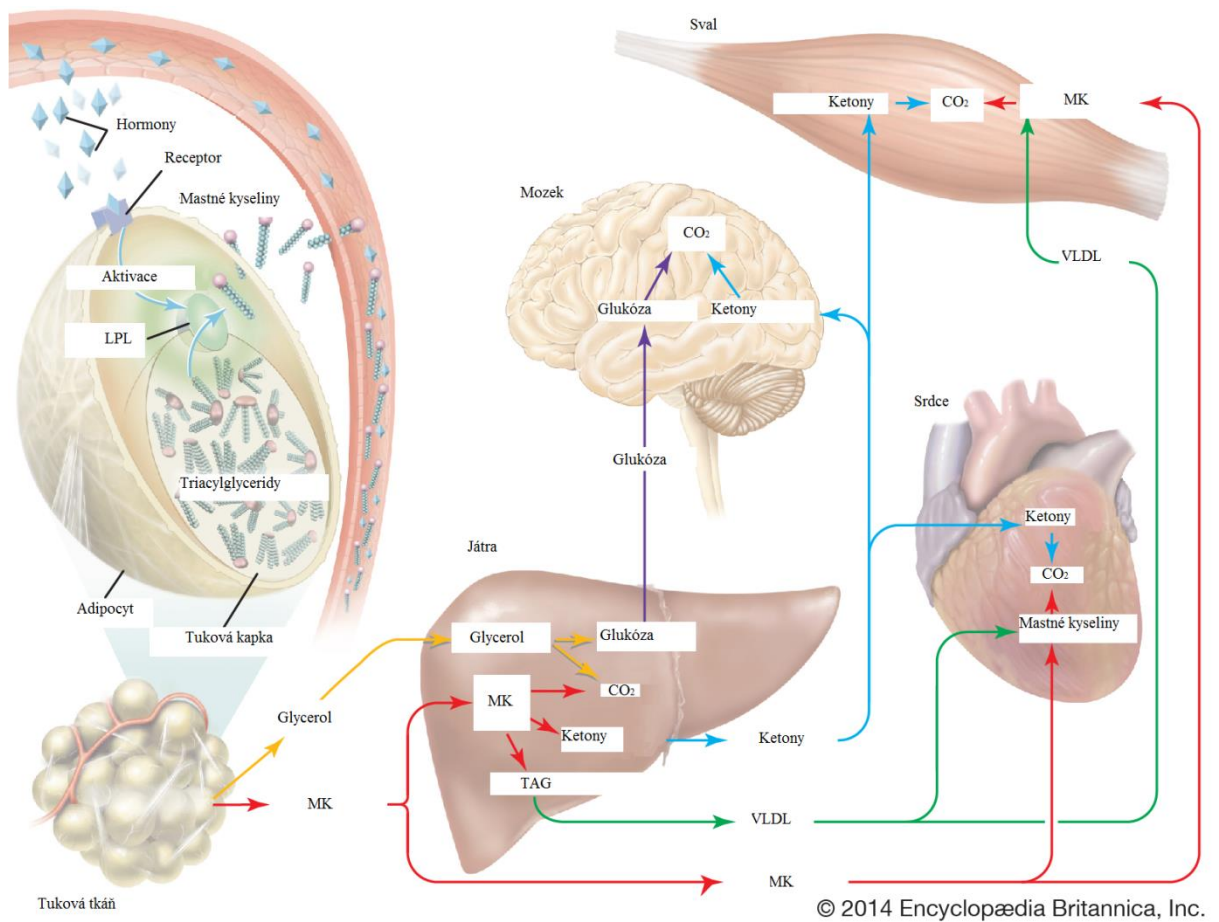
#### 2.4.4 Význam pro získání energie

I když glykogen i TAGy jsou v konečné fázi degradovány na oxid uhličitý a vodu, nevýhodou je fakt, že dostat z tuku energii trvá déle než z glykogenu. Tudiž oba zdroje energie jsou pro organismus stejně nezbytné.

Výhodou ukládání tuků místo sacharidů vidím především ve výtěžnosti. Díky tomu, že lze uložit více TAGů než sacharidů do stejného objemu a také že většina uhlíkových atomů je v tukách v nižším oxidačním stavu než v glykogenu, lze z tuků dostat více energie.

Na obrázku č. 2 je zobrazeno zpracování a využití MK jednotlivými tkáněmi.





**Obrázek 2:** Využití mastných kyselin tkáněmi; upraveno dle <http://www.britannica.com/media/full/605207/92256>

### 3 Metabolismus lipidů

Jak už bylo zmíněno, lipidy jsou ve vodě nerozpustné. Aby byly pro organismus využitelné, musí být nejprve stráveny. To probíhá v několika fázích.

První místo, kde se z lipidů mastné kyseliny mohou začít vstřebávat, je žaludek. Zde se mohou vstřebávat pouze kyseliny o délce maximálně 12 atomů uhlíku (tzv. mastné kyseliny s krátkým řetězcem). [25] Delší mastné kyseliny a triacylglyceroly jsou tráveny gastrinem a pomocí motility žaludku také emulgovány. [14]

Dále putují do tenkého střeva, kam vytéká ze společného vývodu pro žlučník a slinivku břišní žluč a pankreatická šťáva. Tato tekutina obsahuje pro další trávení tuků dvě důležité látky. A to:

- a) Žlučové kyseliny, které dále tyto tuky emulgují
- b) Pankreatickou lipázu štěpící dále lipidy

Cílem tohoto procesu je získat z tuků volné mastné kyseliny a 2-monoacylglyceroly. [14] Ty jsou vázány do micel, které umožňují jejich transport do enterocytů.

Micely jsou částice, které pomáhají vstřebávat tuky. Problém nastává při působení resp. nepůsobení enzymů na lipidy ve vodní fázi. Ve zředěných roztocích jsou mastné kyseliny přítomny především ve formě solí a právě micel. Koncentrace, při které se mastné kyseliny začnou shlukovat do micel, se nazývá kritická micelární koncentrace. V micelách jsou karboxylové skupiny orientovány směrem ven (na povrch) a dovnitř částice hydrofobní struktury. [22]

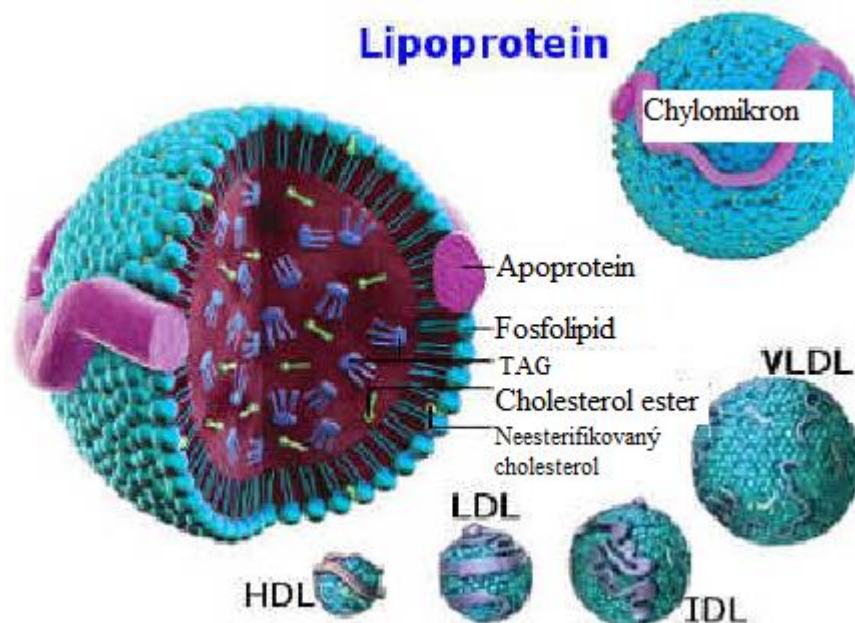
Chylomikrony vznikají v enterocytech a obsahují mastné kyseliny, triacylglyceroly, cholesterol. Chylomikrony na rozdíl od micel, obsahují ještě apoproteiny (někdy se jim také říká apolipoproteiny). Jsou to specializované bílkoviny, které se váží na lipidy a tvoří s nimi vlastní lipoproteinovou částici. Tím zajišťují jejich rozpustnost ve vodě.

Po opuštění enterocytů jsou chylomikrony schopny látky v nich obsažené transportovat k cíleným tkáním.

Plasmatické lipoproteiny zajišťují především transport MK ve vodném prostředí, kterým je v tomto případě plazma. Na základě fyzikálně-chemických vlastností je dělíme na:

- VLDL (very low density lipoprotein),
- LDL (low density lipoprotein),
- IDL (intermediate density lipoprotein),
- HDL (high density lipoprotein).

Na obrázku č. 3 je zobrazeno porovnání chylomikronu a ostatních druhů lipoproteinů.



**Obrázek 3:** Lipoproteiny; upraveno dle <http://healthy-ojas.com/assets/chol/lipoprotein.jpg>

### 3.1 Metabolismus mastných kyselin

Organismu má dvě možnosti, jak nakládat s mastnými kyselinami. Přijímáním z potravy je zpracovává přes exogenní metabolismus. Pokud si je nejprve musí syntetizovat, jedná se o endogenní metabolismus. Oba se od sebe oddělují, nicméně nerovnováha v jednom metabolismu může vyvolat patologii v tom druhém.

#### 3.1.1 Exogenní metabolismus

Úkolem exogenního metabolismu je dostat tuky z potravy ke svalům, tukové tkáni a játrům.

Celý proces začíná vstřebáním micel z tenkého střeva do enterocytů. Zde jsou 2-monoacylglyceroly přeměněny zpět na triacylglyceroly a spolu s cholesterolem včleněny do chylomikronů. Chylomikrony obsahují pomocné apoproteiny, které umožňují vstřebávání tuků a cholesterolu v tkáních. Apoproteiny hrají důležitou roli ve vstřebávání, a proto zde uvádím jejich výčet: A-I, A-II, A-IV a B-48.

Chylomikrony jsou následně vylučovány do lymfy, kde je třeba apoprotein B-48 a lymfou se dále dostávají do krevního řečiště přesněji do periferní cirkulace. Zde od HDL získají apoproteiny: E, C-I, C-II a C-III. Poté se konečně dostávají k cílovým místům. To jsou především kapiláry svalů a tuková tkáň. V těchto místech působí lipoproteinová lipáza, která

z chylomikronů vyváže triacylglyceroly a mastné kyseliny. Ty potom přestoupí do svalů a tukové tkáně.

V případě svalů se spálí na energii a v tukové tkáni je ukládají do zásob adipocyty.

Zbydou chylomikronové zbytky, které obsahují cholesterol a apoproteiny B-48 a E. Apoprotein E je důležitý jako ligand pro receptor právě chylomikronových zbytků, který se nachází v játrech. Je důležitý pro předání cholesterolu játrům k dalšímu zpracování.

### 3.1.2 Endogenní metabolismus

Má za úkol roznášet triacylglyceroly a cholesterylestery syntetizované v játrech do periferních tkání. Transport probíhá v podobě částice VLDL, která má apoproteiny B-100, E, C-I, C-II a C-III.

V periferních kapilárách jsou VLDL hydrolyzovány stejnou lipoprotein lipázou, jako chylomikrony. C-II uvolňuje volné mastné kyseliny. Zbytek VLDL je dále hydrolyzován na IDL.

Část IDL je odbourávána v játrech prostřednictvím apoproteinu E, který se naváže na LDL receptor. Zbytek IDL může být ještě dále hydrolyzován jaterní lipázou a vzniká LDL. Většina je odstraněna z periferní cirkulace vazbou apoproteinu B-100 na jaterní LDL receptory.

Cholesterylestery jsou hydrolyzovány na neesterifikovaný cholesterol. LDL tento cholesterol poskytuje řadě parenchymálním tkáním – syntéza membrán, buňky v kůře nadledvin – syntéza steroidů. Tyto tkáně mají stejné receptory jako játra. [26]

## 4 Oxidace mastných kyselin u člověka

Oxidace mastných kyselin je proces, díky kterému dokáže organismus využít mastné kyseliny k získání energie. Je to proces katabolický to znamená, že vstupy jsou rozkládány na jednodušší sloučeniny. Hlavním produktem těchto pochodů je energie v podobě ATP.

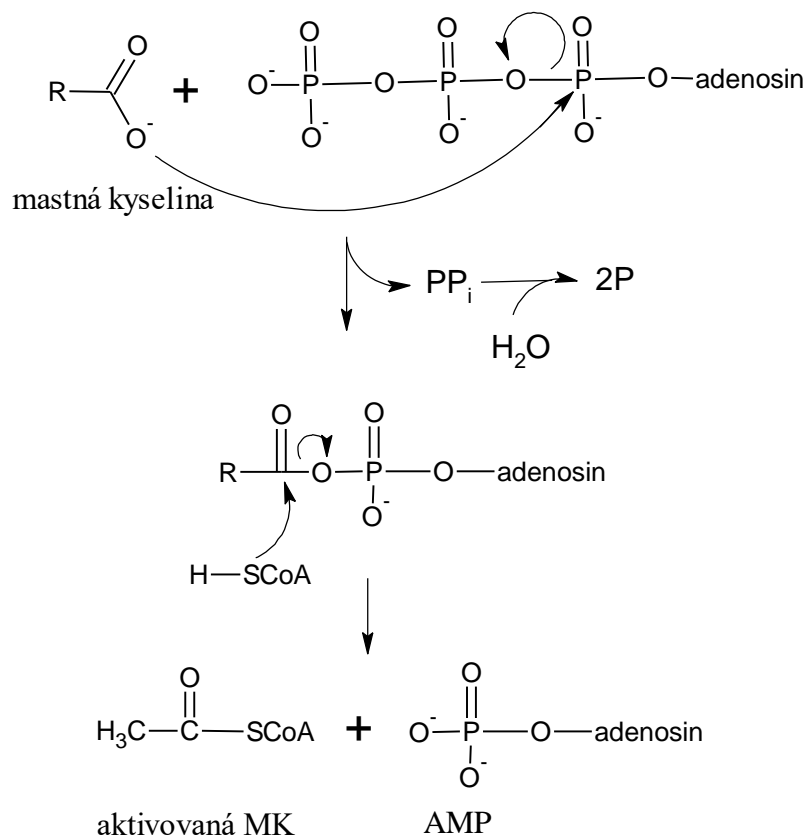
U člověka tento proces probíhá především v mitochondriích. [2]

### 4.1 Aktivace mastných kyselin

Ještě než se dojde k oxidaci mastných kyselin v mitochondriích, musí se nejprve aktivovat. Aby k aktivaci došlo, je potřeba aby do reakce vstoupily ATP (adenosintrifosfát) a CoA (koenzym A). ATP dodává energii potřebnou pro reakci a CoA jí katalyzuje. Výsledkem reakce je acyl-CoA. [2]

Aktivace probíhá v cytosolu buňky. [14]

Průběh reakce:



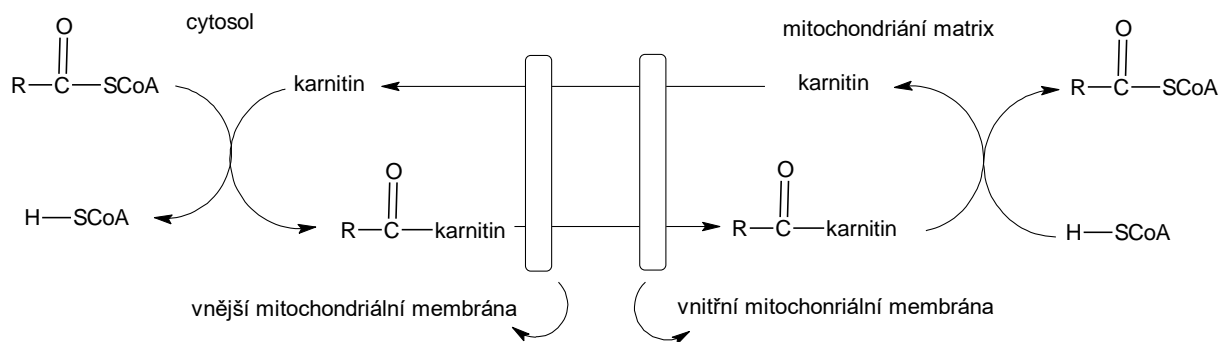
**Obrázek 4:** Aktivace mastné kyseliny

## 4.2 Transport přes mitochondriální membránu

Pro acyl-CoA s dlouhým řetězcem je nemožné projít do mitochondrií přímo. Výhodnější cesta je pro něj vazbou na karnitin. Jak je zobrazeno na obrázku č. 5. Samotné vnesení mastné kyseliny do mitochondrie probíhá ve čtyřech krocích:

1. Acyl-CoA se naváže acylovou částí na karnitin za vzniku acylkarnitinu. Současně se uvolní CoA zpět do cytosolu.
2. Transportní systém přeneše acylkarnitin do mitochondriální matrix.
3. Acylová část je přenesena na karnitin z mitochondrie. Uvolní se karnitin.
4. Uvolněný karnitin se vrací zpět do cytosolu.

Buňka striktně odděluje cytosolové a mitochondriální zásoby CoA, protože každá slouží pro jiný účel. Mitochondriální zásoba je využívána pro oxidační odbourávání pyruvátu, aminokyselin i některých mastných kyselin, zatímco cytosolová zásoba je určena pouze pro syntézu mastných kyselin. [2]



**Obrázek 5:** Transport acyl-CoA do mitochondrie

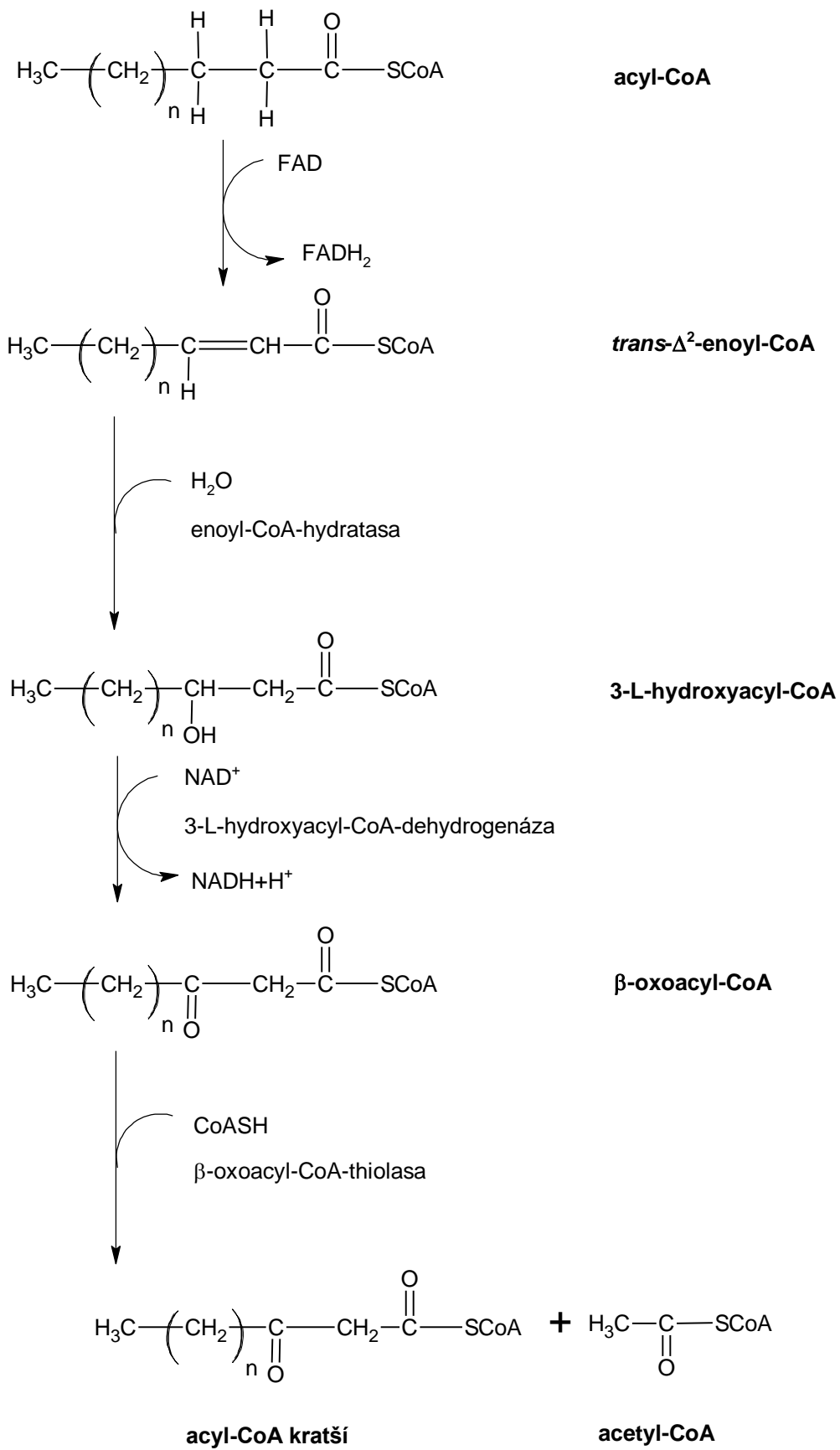
## 4.3 Oxidace

### 4.3.1 $\beta$ -oxidace

Mastné kyseliny, které jsou nyní v podobě acyl-CoA v mitochondriích. Zde jsou štěpeny procesem zvaným  $\beta$ -oxidace. Opět probíhá ve čtyřech krocích:

1. Acyl-CoA-dehydrogenáza za účasti FAD (flavinadenindinukleotid) vytvoří dvojnou vazbu  $\beta$ -dehydrogenací (viz obrázek 4).
2. Enoyl-CoA-hydratáza hydratuje tuto dvojnou vazbu za vzniku 3-L-hydroxyacyl-CoA.
3. Následně proběhne dehydrogenace za katalýzy 3-L-hydroxyacyl-CoA-dehydrogenázou. Vznikne  $\beta$ -oxoacyl-CoA. Reakce probíhá za účasti  $\text{NAD}^+$  (nikotinamidadenindinukleotid).
4. V posledním kroku se rozštěpí vazba mezi  $\text{C}_\alpha$  a  $\text{C}_\beta$  katalyzovaný  $\beta$ -oxoacyl-CoA-thiolázou. Vznikne acyl-CoA, který má řetězec o dva uhlíky kratší a acetyl-CoA. [2]

Průběh reakce je znázorněn na obrázku č.6.



**Obrázek 6:** Oxidace mastné kyseliny



### 4.3.2 Peroxisomální $\beta$ -oxidace

Některé mastné kyseliny jsou příliš dlouhé pro přímou  $\beta$ -oxidaci v mitochondriální matrix. Buňka tento problém řeší tak, že tyto dlouhé mastné kyseliny volně difundují do peroxisomů. Tam jsou dlouhé řetězce zkráceny. To pak usnadní následný přenos mastných kyselin do mitochondrií.

Tento proces má průběh podobný jako v mitochondriích pouze s jinými enzymy:

1. Acyl-CoA-oxidáza katalyzuje reakci:  $\text{acyl-CoA} + \text{O}_2 \rightarrow \text{trans-}\Delta^2\text{-enoyl-CoA} + \text{H}_2\text{O}_2$ . Vyžaduje účast kofaktoru FAG, ale elektrony jsou přenášeny na  $\text{O}_2$ , který se reakce účastní a vzniká  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Účinkem peroxisomální katalázy podléhá disproportionaci na  $\text{O}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}$ .
2. Funkci enoyl-CoA-hydratázy a 3-L-hydroxyacyl-CoA-dehydrogenázy zastává jeden polypeptid.
3. Peroxisomální thioláza má stejnou funkci jako  $\beta$ -oxoacyl-CoA-thioláza. Rozdílem je odlišná specifita. Neštěpí acyl-CoA s řetězcem kratším než C8. [2]

Tento proces tedy končí u oktanoyl-CoA. Oktanoylové a acetylové skupiny jsou pak z peroxisomů odstraněny ve formě karnitinových derivátů a takhle pokračují do mitochondrií. [27]

### 4.3.3 Oxidace nenasycených mastných kyselin

Mastné kyseliny vyskytující se v přírodě mají pouze dvojně vazby s konformací cis-. Dvojně vazby nejsou konjugované, většinou se vyskytují v intervalech třech uhlíků.

U  $\beta$ -oxidace nenasycených mastných kyselin nastávají dva problémy, které řeší další tři enzymy:

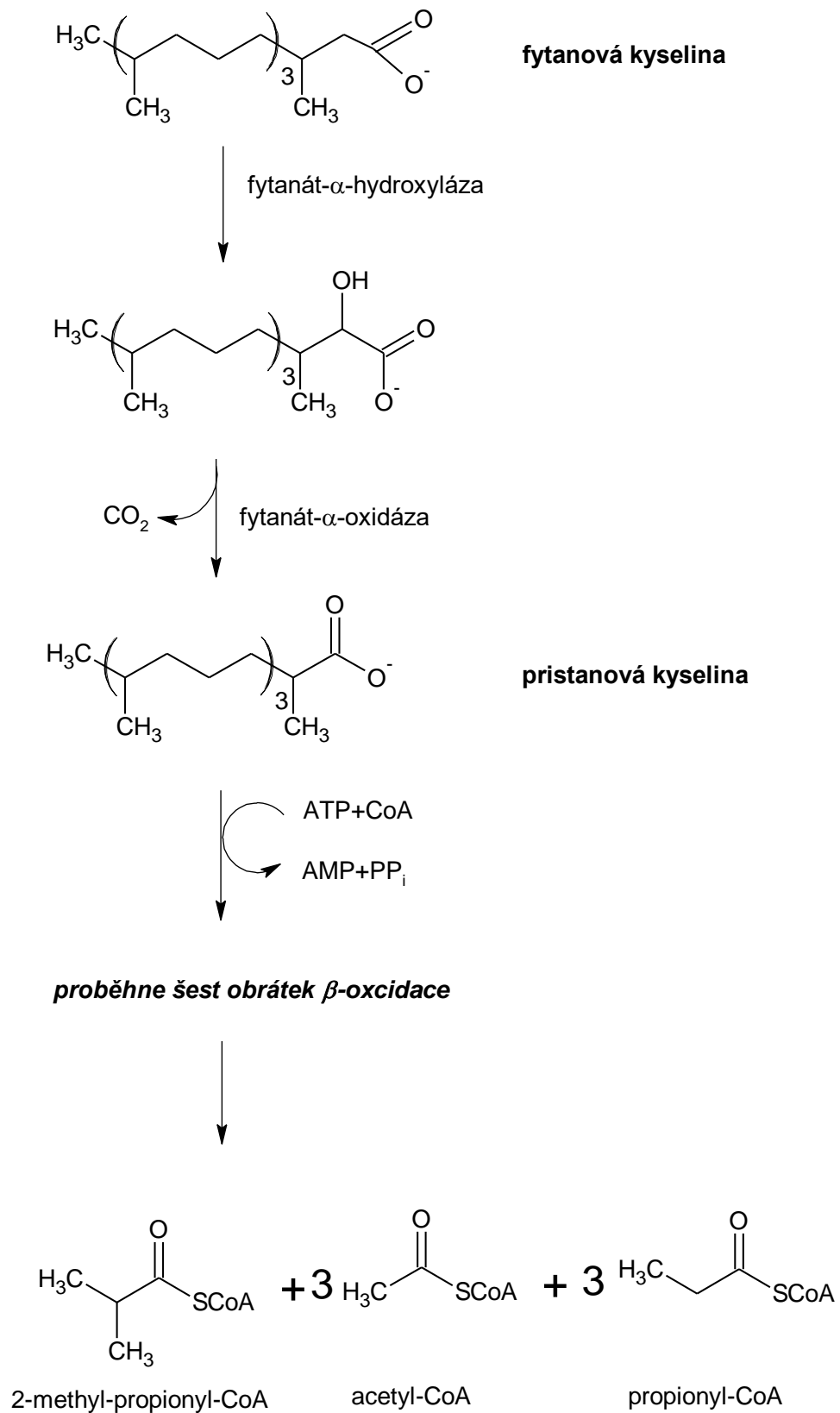
1. Dvojná vazba mezi uhlíky dva a tři představuje problém při třetí obrátce  $\beta$ -oxidace, kdy enoyl-CoA obsahuje dvojnou vazbu cis-. Tento produkt není vhodným substrátem pro enoyl-CoA-hydratázu. To řeší enzym enoyl-CoA-izomeráza, která mění cis- na stabilnější trans- izomer, který je už normálním substrátem pro enoyl-CoA-hydratázu.
2. Další problém nastává při páté obrátce  $\beta$ -oxidace a to v podobě dvojně vazby na sudém uhlíku, což vede ke vzniku 2,4-dienoyl-CoA, který není vhodný pro enoyl-CoA-hydratázu. Problém řeší enzym 2,4-dienoyl-CoA-reduktáza, která  $\Delta^4$ -dvojnou vazbu redukuje. Vzniká *trans*-3-enoyl-CoA, který musí být izomerován na *trans*-2-enoyl-CoA enzymem 3,2-enoyl-CoA-izomerázou. [2]

#### 4.3.4 Oxidace rozvětvených mastných kyselin

B-oxidace je inhibována alkylovou skupinou na druhém uhlíku mastné kyseliny. Příkladem takové mastné kyseliny je fytanová kyselina. Běžnou složkou potravy, vyskytuje se například v mléčných výrobcích.

B-oxidace těchto kyselin je usnadňována  $\alpha$ -oxidací, jak je vidět i na obrázku č. 7:

1. Na  $\alpha$  uhlíku mastné kyseliny proběhne hydroxylace.
2. Výsledný produkt může být následně oxidačně dekarboxylován za vzniku nové mastné kyseliny s volným beta uhlíkem.
3. Po šesti obrátkách  $\beta$ -oxidace vznikají tři propionyl-CoA, tři acetyl-CoA a jeden 2-methyl-propionyl-CoA (který je přeměněn na succinyl-CoA). [2]



**Obrázek 7:** Degradace fytanové kyseliny

#### 4.3.5 Oxidace s lichým počtem uhlíků

Většina mastných kyselin biologického původu má sudý počet uhlíků to znamená, že v poslední obrátce  $\beta$ -oxidace jsou převáděny beze zbytku na acetyl-CoA. Některé rostliny a mořské organismy však umí syntetizovat mastné kyseliny s lichým počtem uhlíků. I když se jich v těle vyskytuje málo, tělo musí mít prostředek na jejich odbourání:

1. V poslední obrátce  $\beta$ -oxidace vzniká propionyl-CoA.
2. Propionyl-CoA je karboxylován za katalýzy propionyl-CoA-karboxylázy na methylmalonyl-CoA.
3. Převedení methylmalonyl-CoA na sukcinyl-CoA pak katalyzuje methylmalonyl-CoA-mutáza.
4. Sukcinyl-CoA je odbouráván prostřednictvím citrátového cyklu. [2]

#### 4.4 Regulace oxidace mastných kyselin

V klidovém stavu tělo spotřebovává glykogen a triacylglyceroly. Tyto primární zdroje energie ale při hladovění nebo zvýšené tělesné námaze rychle docházejí. To má za následek snížení hladiny glukózy v krvi. Následně dochází ke změně hormonální rovnováhy.

To vede k dlouhodobému zvýšení hladin enzymů oxidace mastných kyselin. Ta je z velké části regulována hladinou mastných kyselin v krvi. Hladina mastných kyselin je zase regulována rychlostí hydrolýzy triacylglycerolů v tukové tkáni a to enzymem hormon senzitivní lipázou.

##### 4.4.1 Aktivace oxidace mastných kyselin

Adrenalin, noradrenalin a glukagon způsobí zvýšení hladiny cAMP (cyklický adenosinmonofosfát) v tukové tkáni. Ten aktivuje cAMP-dependentní proteinkinázu, která zvýší hladinu fosforylace citlivých enzymů. Fosforylace aktivuje hormon senzitivní lipázu a zároveň stimuluje lipolýzu v tukové tkáni zvýšením hladiny mastných kyselin v krvi. To aktivuje  $\beta$ -oxidaci v jiných tkáních, jako jsou játra nebo svaly. V játrech tento proces pokračuje produkcí ketonových látek. Ty jsou uvolňovány opět do krevního oběhu, aby mohly být využity, jako alternativní zdroj energie místo glukózy periferními tkáněmi.

Tím, že cAMP-dependentní proteinkináza aktivuje celý tento proces, zároveň inhibuje acetyl-CoA-karboxylázu.

## 5 Metabolomika

Metabolomika je termín používaný pro analýzu velkého souboru nízkomolekulárních látek, které se v daném čase nacházejí v biologickém vzorku. Takovému vzorku se říká metabolom.

Z hlediska pracovního postupu metabolomika zahrnuje:

1. Odběr a přípravu vzorku
2. Analýzu vzorku
3. Zpracování dat a jejich interpretaci
4. Archivaci a revizi dat

V současnosti je metabolomika rychle se rozvíjejícím odvětvím se širokým uplatněním, a to především v biologii a lékařství.

Významným faktorem je kvalita přípravy vzorků. Při nesprávně připraveném vzorku může být analýza nejmodernější, ale vždy se naměří data, která nejsou validní.

Zkoumané analyty se extrahují z nejrůznějších komplexních matric (plná krev, moč atd.). Smyslem extrakce těchto analytů je převést biologický materiál na takovou formu, která bude kompatibilní s použitou analytickou technikou. Zároveň se snažíme o separaci všech složek vzorku, které by mohly při analýze interferovat (např. proteiny, soli).

Důležitým biologickým materiálem jsou potom kultivované buňky. Metabolom biotekutiny (krev, moč, aj.) je totiž ovlivňován faktory, jako jsou věk, nemoc nebo např. strava pacienta. Tento vliv je z velké míry eliminován tím, že jsou buňky kultivovány v přísně definovaném prostředí.

Dalším důležitým bodem je tzv. metabolické zhášení. Metabolity jsou velmi nestabilní a metabolické reakce jsou v porovnání se syntézou makromolekul nebo jejich degradací velmi rychlé. Aby nedošlo k jejich rozpadu, je nutné tento proces včas zastavit právě tímto postupem. Musí být proveden tak, aby buňka nezareagovala na zastavení metabolismu změnou koncentrace sledovaných metabolitů, nebo jejich ztrácením při porušení membrány.

Následuje extrakce metabolitů z biologického materiálu. Cílem je extrahovat všechny typy látek v jednom extrakčním kroku. Protože jsou ale tyto látky velmi rozdílné a každá má jiné vlastnosti, se zatím nepodařilo takový postup vymyslet. Musí se tedy volit kompromisní řešení.

Pro analýzu intracelulárního obsahu se volí narušení buněčné stěny a následná extrakce organickými rozpouštědly (chloroform, ...).

Tato analýza se neobejde bez účinných separačních technik. V této oblasti našli využití především chromatografické a elektroforetické metody. Nejčastějším detektorem je hmotnostní spektrometr, jehož výhodou je identifikace a citlivá kvantifikace jednotlivých metabolitů. Dalšími způsoby měření jsou techniky nukleární magnetické rezonance a méně používané metody přímého nástřiku do hmotnostního spektrometru nebo infračervená a Ramanova spektroskopie. [28]

### 5.1 Stanovení mastných kyselin pomocí plynové chromatografie

Stanovení profilu mastných kyselin se provádí např. za účelem posouzení ukládání mastných kyselin v metabolicky aktivních tkáních v rámci biomedicínského výzkumu.

První volbou pro toto stanovení je plynová chromatografie. Jedná se o separační metodu, jejíž hlavní výhodou je možnost stanovení širokého spektra látek od těch toxických až po metabolomiku.

Postup stanovení je následující:

Vzorek tkáně je v první řadě lyofilizován za účelem zbavení vody v tkáních. Následuje extrakce celkových lipidů. Na konci tohoto procesu se stanovuje celkový obsah lipidů gravimetricky.

Po gravimetrickém stanovení byl vzorek vyextrahovaných celkových lipidů převeden do varné baňky se zábrusem. K němu byl přidán roztok vnitřního standardu. Následně byla směs zahřívána ve vodní lázni při 65 °C pod zpětným chladičem. Po 15 min byl přidán methanolvý roztok fluoridu boritého a směs byla pod zpětným chladičem zahřívána dalších 5 min při 65 °C. Po uplynutí této doby byla směs ochlazená na laboratorní teplotu. Následně byl přidán isooktan a nasycený roztok chloridu sodného a směs byla třepána 10 min. Z horní organické vrstvy byl odebrán 1 ml roztoku do lahvičky na vzorky o objemu 2 ml pro chromatografickou analýzu. [29], [30]

### 5.2 Stanovení mastných kyselin pomocí kapalinové chromatografie

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie je v současnosti nejvíce používanou separační technikou. Může být využita k separaci velkého množství rozmanitých látek, a to jak hydrofilních, tak i hydrofobních.

Může být zaměřena na různé skupiny látek, což umožňuje právě složení separační kolony. Nevýhodou konvenční vysokoúčinné kapalinové chromatografie je poměrně nízká účinnost. Proto byla vyvinuta ultraúčinná kapalinová chromatografie, která separaci provádí pod vysokým tlakem, řádově GPa.

Ve spojení s hmotnostními analyzátory umožňuje efektivní analýzu metabolomů. [28]

### 5.3 Kombinované techniky stanovení mastných kyselin

Při stanovení lipidů občas dochází k problémům díky jejich rozmanitému složení. Vzorky obsahují mnoho odlišných analytů s rozdílnými fyzikálně chemickými vlastnostmi. Proto použití retenčního času jako nezávislé proměnné není praktické z důvodu zkreslení výsledků. Kombinované techniky proto představují možnost zlepšení analýzy těchto vzorků.

Používají se dvě kombinace:

- Plynová chromatografie s hmotnostním spektrometrem
- Kapalinová chromatografie s hmotnostním spektrometrem [31]

Hmotnostní spektrometr využívá separační techniku, která je založena na interakci nabitých částic s elektrickým nebo magnetickým polem ve vakuu. I když existuje několik technických řešení tohoto přístroje, všechny mají společné tři části:

- Iontový zdroj – nezbytná součást každého hmotnostního spektrometru, neboť zde dochází k přeměně analytů na ionty v plynné fázi.
- Analyzátor – v dnešní době je nejpoužívanějším analyzátozem kvadrupól, díky své nižší pořizovací ceně. Separace je založena na poměru mezi rychlostí pohybu iontů a  $m/z$  (hmotnost k náboji iontů).
- Detektor částic – ty rozdělujeme do dvou skupin:
  - Detektory zaznamenávají všechny ionty bez ohledu na velikosti  $m/z$ . Jsou založeny na přímém měření elektrického proudu, který vzniká při srážce iontu s dynodou. Signál je následně zesilován pomocí násobičů. Obvykle se používají elektronové násobiče, které amplifikují elektrony pomocí sady dynod.
  - Detektory jsou schopny zaznamenat ionty i ve vztahu k velikosti  $m/z$ . Ionty jsou zde detekovány jako komplexní „proudový obraz“ s různými hodnotami  $m/z$ . To je umožněno díky indukci proudu v důsledku pohybu iontů v hmotnostním analyzátoru. Následně je signál zpracován tzv. Fourierovou transformací. [32]

Kombinace plynového chromatografu s hmotnostním spektrometrem v některých případech vyžaduje převedení stanovovaných látek na jejich deriváty před zplyněním vzorku. Mastné kyseliny se převádějí na methyl estery.

Kombinace vysokoúčinné kapalinové chromatografie s hmotnostním spektrometrem je zase vhodná pro stanovování triacylglycerolů. [31]



## 6 Závěr

V této bakalářské práci byly shrnuty nabyté poznatky o mastných kyselinách i jejich hlavní funkce v organismu. Dále se práce zabývala jejich metabolismem a degradací v buňkách. Pro lepší názornost bylo zvoleno grafické znázornění těchto biochemických pochodů.

V neposlední řadě byla věnována stanovení mastných kyselin, protože je důležité pro posuzování poruch jejich  $\beta$ -oxidace. Následky těchto poruch jsou velice závažné, a přitom ještě neexistuje kauzální léčba. V dnešní době je ale snaha do screeningu novorozenců zahrnout co možná nejvíce těchto chorob, protože včasná diagnóza následně zvyšuje kvalitu života nemocného.

## Seznam obrázků

Obrázek 1: Cis- a trans- izomery. ....	13
Obrázek 2: Využití mastných kyselin tkáněmi .....	25
Obrázek 3: Lipoproteiny .....	27
Obrázek 4: Aktivace mastné kyseliny .....	29
Obrázek 5: Transport acyl-CoA do mitochondrie .....	30
Obrázek 6: Oxidace mastné kyseliny.....	32
Obrázek 7: Degradace fytanové kyseliny .....	35

## Seznam tabulek

Tabulka 1: Přehled mastných kyselin .....	16
---	----

## Seznam zkratk

AA – kyselina arachidonová
aj. – a jiné
atd. – a tak dále
cAMP – cyklický adenosinmonofosfát
CNS – centrální nervová soustava
EPA – kyselina eikosapentaenová
FFA – volné mastné kyseliny
HDL – high density lipoprotein
HSL – hormon senzitivní lipáza
IDL – intermediate density lipoprotein
k. – kyselina
LCT – mastné kyseliny s dlouhým řetězcem
LDL – low density lipoprotein
LPL – lipoproteinová lipáza
MCT – mastné kyseliny se středně dlouhým řetězcem
MK – mastná kyselina
MUFA – mononenasyčené mastné kyseliny
Např. – například
PUFA – polynenasycené mastné kyseliny
SCT – mastné kyseliny s krátkým řetězcem

TAG – triacylglycerolů

VLDL very low density lipoprotein

## 7 Citovaná literatura

1. KOOLMAN, Jan a Klaus-Heinrich RÖHM. *Barevný atlas biochemie*. Praha: Grada, 2012. ISBN 978-80-247-2977-0.
2. VOET, Donald a Judith G. VOET. *Biochemie*. Praha: Victoria Publishing, 1995. ISBN 80-856-0544-9.
3. TVRZICKÁ, Eva. Mastné kyseliny: 1. Výskyt a biologický význam. *Časopis lékařů českých*. 2009, **148**(1), 16-24.
4. Societas Medicinae Generalis Bohemica. Co jsou nasycené. *Nasycené škodí* [online]. 2012 [cit. 2016-03-16]. Dostupné z: <http://www.nasyceneskodi.cz/co-jsou-nasycene/>
5. BRÁT, Jiří. Nenasycené mastné kyseliny. *Postgraduální medicína*. 2013, **2013**(9)
6. PANICO, Robert. *Průvodce názvoslovím organických sloučenin podle IUPAC: doporučení 1993 (publikované i dosud nepublikované změny k Názvosloví organické chemie, vydání 1979)*. Praha: Academia, 2000. ISBN 80-200-0724-5.
7. WILHELM, Zdeněk. Mastné kyseliny  $\omega$ -3; od teorie po klinickou praxi. *Medicína pro praxi*. 2013, **10**(2), 72-76.
8. SLIMÁKOVÁ, Margit. Transmastné kyseliny. *Encyklopedie*. [online]. [cit. 2017-05-18]. Dostupné z: <http://www.margit.cz/encyklopedie/trans-mastne-kyseliny/>
9. KOOLMAN, Jan. a Klaus-Heinrich RÖHM. *Color atlas of biochemistry*. 2. vydání New York: Thieme, 2005. Thieme flexibook. ISBN 15-889-0247-1.
10. SLIMÁKOVÁ, Margit. Kyselina linolová. *Encyklopedie* [online]. 2012 [cit. 2016-04-16]. Dostupné z: <http://www.margit.cz/encyklopedie/kyselina-linolova/>
11. DOBROTA, Dušan a kol. *Lékařská biochemie: vysokoškolská učebnice*. Martin: Osveta, 2012. ISBN 978-808-0632-939.
12. GROFOVÁ, Zuzana. Mastné kyseliny. *Medicína pro praxi*. 2010, **10**(7).
13. SIMOPOULOS, Artemis P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacoter: Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS*. 2002, **52**(8), 365-379.

14. DEVLIN, Thomas M. *Textbook of biochemistry: with clinical correlations*. 7. edice Hoboken: John Wiley, 2011. ISBN 978-0-470-28173-4.
15. PARK, Jin Hyoung, Soo Min NOH, Ju Rang WOO, Jong Won KIM a Gyun Min LEE. Valeric acid induces cell cycle arrest at G1 phase in CHO cell cultures and improves recombinant antibody productivity. *Biotechnology Journal*. 2016, **11**(4), 487-496
16. MERCOLA, Joseph. Coconut Oil: This Cooking Oil Is a Powerful Virus-Destroyer and Antibiotic.... *Mercola: Take Control of Your Health*. 2010, **22**(8)
17. ŽÁK, Aleš a kol. *Ateroskleróza: nové pohledy*. Praha: Grada, 2011. ISBN 80-247-3052-9.
18. TVRZICKÁ, Eva. Mastné kyseliny: 2. Fyziologický a klinický význam. *Časopis lékařů českých*. 2009, **148**(3), 116-123.
19. LAVRÍKOVÁ, Petra a Josef FONTANA. *Metabolismus svalové tkáně: Funkce buněk a lidského těla* [online]. [cit. 2017-05-18]. Dostupné z: <http://fblt.cz/skripta/iv-pohybova-soustava/7-metabolismus-svalove-tkane/>
20. SKOLNIK, Heidi a Andrea CHERNUS. *Výživa pro maximální sportovní výkon*. Praha: Grada Publishing, 2012. ISBN 978-80-247-7797-9.
21. Jak snížit hladinu kyseliny mléčné ve svalech. *Wikipedia* [online]. [cit. 2017-03-21]. Dostupné z: <http://cs.wikipedia.com/Jak-sn%C3%AD%C5%BEit-hladinu-kyseliny-ml%C3%A9%C4%8Dn%C3%A9-ve-svalech>
22. ZIMA, Tomáš. *Laboratorní diagnostika*. Praha: Galén, 2002. ISBN 80-726-2201-3.
23. VÍTKOVÁ, Michaela a Jan POLÁK. Endokinní funkce tukové tkáně v etiopatogenezi inzulinové resistence. *Interní medicína pro praxi*. 2006, **6**(10), 443-446.
24. NOVOTNÁ, Jana. Metabolické funkce jater. *Operativa: komplexní informace o operacích všeho druhu* [online]. 2014 [cit. 2017-03-22]. Dostupné z: <http://operativa.cz/metabolicke-funkce-jater/>
25. MANDAL, Ananya. Lipid Metabolism. *News medical life sciences* [online]. [cit. 2016-03-23]. Dostupné z: <http://www.news-medical.net/life-sciences/Lipid-Metabolism.aspx>
26. SVACHINA, Štěpán. *Medidatabaze.cz: Lipoproteiny - metabolismus* [online]. Triton, 2007 [cit. 2016-03-24]. Dostupné z: <http://www.medicabaze.cz/index.php?sec=welcome>

27. MURRAY, Robert K. *Harperova Biochemie*. 23. vyd., 2. čes. vyd., v H. Praha: H, 1998. Lange medical book. ISBN 80-857-8738-5.
28. WOJOTOWICZ, Petr. Techniky metabolomiky v biomedicíně. *Chemické listy*. 2013, **2013**(107), 3-11.
29. SETHOM, Mohamed Marouane. Plasma fatty acids profile and estimated elongase and desaturases activities in Tunisian patients with the metabolic syndrome. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 2011, **85**(2011), 3-4.
30. KOMPRDA, Tomáš. Chromatografické stanovení polynenasycených mastných kyselin ve vybraných živočišných tkáních. *Chemické listy*. 2015, **109**(2015), 140-146.
31. CERNOWNIAK, Magdalena. The use of chromatographic techniques for the separation and the identification of insect lipids. *Journal of Chromatography B*. 2013, **2013**(937), 67-78.
32. FRIEDECKÝ, David. a Karel LEMR. Úvod do hmotnostní spektrometrie. *Klinická biochemie a metabolismus*. 2012, **41**(20), 152-157.
33. ZEMAN, Jiří. Mitochondriální poruchy energetického metabolismu. *Postgraduální medicína*. 2002, **5**(3).
34. PTÁČEK, Radek a Petr BARTŮNĚK. *Etické problémy medicíny na prahu 21. století*. Praha: Grada, 2014. Edice celoživotního vzdělávání ČLK. ISBN 978-80-247-5471-0.
35. HONZÍK, Tomáš. Klinické příznaky dědičných metabolických poruch u dětí. *Pediatric pro praxi*. 2011, **5**(12).
36. Metabolické nemoci. *Národní sdružení PKU a jiných DMP, z.s.* [online]. 2009-2017 [cit. 2016-05-31]. Dostupné z: <http://www.nspku.cz/nemoci/nemoci.html>