

**Univerzita Karlova v Praze**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory  
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



**Denisa Čejková**

Peroxisomy a jejich úloha v energetickém metabolismu srdce

Peroxisomes and their role in the heart muscle metabolism

Bakalářská práce

Vedoucí závěrečné práce: Mgr. David Kolář

Praha, 2017

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 24. 8. 2017

.....  
Denisa Čejková

Děkuji vedoucímu mé bakalářské práce Mgr. Davidu Kolářovi za jeho podnětné rady a trpělivý přístup. Dále pak děkuji všem mým blízkým, kteří mě podporovali.

## ABSTRAKT

Peroxisomy jsou malé eukaryotické organely, známé zejména pro svou schopnost vytvářet a degradovat peroxid vodíku. Jejich enzymy však zastávají mnoho dalších významných funkcí, podílí se na beta-oxidaci mastných kyselin s velmi dlouhým nebo větveným řetězcem, prostřednictvím alfa-oxidace umožňují zpracování molekul, které nemohou být degradovány v beta-oxidačním cyklu, také se účastní počátečních kroků syntézy éterických lipidů nebo formování žlučových kyselin. Výše zmíněné aspekty činí peroxizomy potenciálně zajímavými pro jejich možný vliv na metabolismus srdce, který je založen především na oxidativním zpracování mastných kyselin, avšak dosud o této problematice není mnoho známo. Práce se zaměřuje jednak na vznik a funkce samotných peroxizomů, ale také srdeční metabolismus společně s možnou rolí peroxizomů v něm.

## ABSTRACT

Peroxisomes are small eucaryotic organelles, mainly known for their ability to create and break down hydrogen peroxide. However their enzymes play other significant roles, they participate in beta-oxidation of fatty acids with very long or branched chains, through alpha-oxidation they enable to process molecules that cannot go through beta-oxidation cycle, they also participate in early steps of synthesis of ether-lipid or bile acids. Above mentioned aspects make peroxisomes potentially interesting for their possible influence on heart muscle metabolism, that is dependent on oxidative degradation of fatty acids, although not very much is known about this issue. The thesis focuses on biogenesis and function of peroxisomes, but also on their possible role in heart muscle metabolism.

## Obsah

ABSTRAKT .....	4
ABSTRACT .....	4
CÍLE PRÁCE .....	6
1. Úvod.....	7
2. Funkce peroxizomů.....	13
3. Energetický metabolismus srdce.....	21
4. Peroxizomy v myokardu .....	24
ZÁVĚR.....	28

## CÍLE PRÁCE

Účelem této práce je shrnout poznatky peroxizomech, jejich funkcích a možném vlivu na energetický metabolismus kardiomyocytů.

## 1. Úvod

### 1.1. Peroxizomy

**Peroxizomy** jsou kulovité organely s průměrem v rozmezí 0,1 – 1  $\mu\text{m}$ . Jsou obaleny pouze jednoduchou membránou a vyskytují se téměř ve všech eukaryotických buňkách. Sdílejí společné znaky s dalšími buněčnými organelami, zejména s mitochondriemi a lysozomy, ale na rozdíl od mitochondrií neobsahují vlastní DNA, od lysozomů se pak liší schopností samostatného dělení. Peroxizomy se zapojují do rozmanitých metabolických drah, jsou však primárně známé pro svou schopnost degradovat peroxid vodíku. Některé organismy obsahují struktury podobné peroxizomům, ovšem tato tělíška obvykle zastávají úzce specializované funkce. Jsou to například **glyoxyzomy** dozrávajících semen skočce obecného, ve kterých probíhá glyoxalátový cyklus (Breidenbach, Kahn, & Beevers, 1968), nebo **glykozomy** trypanosom, které poskytují vhodné prostředí pro glykolýzu (Opperdoes & Borst, 1977). Prokaryota zpravidla nemají peroxizomy ani jiné organely. Zajímavou výjimku představují tzv. ANAMMOX bakterie (z angl. Anaerobic Ammonium Oxidation) obsahující jednoduché cytoplasmatické kompartmenty pojmenované **anammozomy**, které zřejmě slouží pro výrobu energie prostřednictvím anaerobní oxidace dusíkatých látek (Van Niftrik et al., 2008, 2010).

První zmínka o peroxizomech se objevuje v disertační práci švédského studenta J. Rhodina (převzato z Bernhard & Rouiller 1956), který prostřednictvím elektronového mikroskopu pozoroval struktury uvnitř buněk renálních tubulů myši, jež označil jako mikrotělíska. Jejich biochemické odlišení od jiných organel, primárně lysozomů, však provedl až belgický biolog Christian de Duve ve společné práci s Pierrem Baudhuinem (Baudhuin, Beaufay, & De Duve, 1965). Právě de Duve později shrnul tehdejší poznatky o mikrotělískách a navrhl přesnější pojmenování peroxizomy, jelikož tyto drobné organely obsahují enzymy schopné vytvářet nebo degradovat peroxid vodíku (De Duve & Baudhuin, 1966). Ačkoli zpočátku panoval mezi vědci názor, že savčí peroxizomy představují poněkud redundantní organelu, další výzkumy potvrdily jejich nezanedbatelnou metabolickou úlohu. Vedle zjištění, že Zellwegerův syndrom obvykle provází, mimo jiné, i absence peroxizomů (Goldfischer et al., 1973), přispělo k širšímu porozumění významu těchto organel především odhalení, že se podílejí na  $\beta$ -oxidaci mastných kyselin s velmi dlouhým řetězcem (Lazarow, 1978; Singh, Moser, Goldfischer, & Moser, 1984), dále na počátečních krocích biosyntézy éterických lipidů, (Burke &

Hajra, 1979) nebo na formování žlučových kyselin (Kase, Björkhem, & Pedersen, 1983). Mezi zkoumaná témata z posledních 20 let patří např. možnost regulace metabolismu lipidů přes ligandy PPAR receptorů (Krey et al., 1997), sdílení molekulárního mechanismu štěpení organel s mitochondriemi (Itoyama et al., 2013) nebo morfologické změny membrány provázející biogenezi peroxizomů (Yoshida, Niwa, Honsho, Itoyama, & Fujiki, 2015).

## 1.2. Biogeneze peroxizomů

Peroxisomy se vyznačují velice dynamickou strukturou. Jejich velikost, tvar, počet i chemické složení enzymů se může výrazně lišit v závislosti na specifických potřebách organismu, přičemž tyto aspekty jsou dále ovlivněny působením některých látek, např. hypolipidemických agens (Reddy & Krishnakantha, 1975; Svoboda & Azarnoff, 1966), nebo v důsledku přítomného onemocnění (Goldfischer et al., 1973; Poll-The et al., 1988). Proteiny, které zodpovídají za biogenezi peroxizomů a zajišťují jejich správnou funkci, se nazývají **peroxiny** a jsou kódovány výlučně jadernými **PEX geny**. Existuje více jak 30 typů těchto genů, přičemž nejméně 14 z nich bylo identifikováno i u člověka. Peroxiny lze roztrždit do 3 hlavních kategorií, a to podle jejich funkcí – proteiny, které se účastní importu proteinů, dále proteiny, které se podílí na formování membrán a nakonec proteiny, které regulují dělení organel (Tabulka 1). Dosavadní výzkumy předkládají dvě alternativy, jakým způsobem mohou peroxizomy v savčích buňkách

Funkční kategorie	Peroxin	Funkce proteinu
Protein import do matrix	<b>PEX1, PEX6</b>	AAA-ATPáza, recyklace receptorů, podpora fúze preperox. váčků
	<b>PEX2, PEX 10, PEX12</b>	tvorba RING komplexu, ubiquitinace receptoru
	PEX4	ubiquitin-konjugacíni enzym, ubiquitinace receptoru
	<b>PEX5</b>	receptor pro PTS1, společně s PEX14 formuje cargo-translokační kanál
	<b>PEX7</b>	receptor pro PTS2
	PEX8	pomoc při skládání importomeru, uvolnění transportovaného proteinu
	<b>PEX13, PEX14, PEX17, PEX33</b>	tvorba "docking" komplexu pro PEX5 a PEX7
	PEX15, <b>PEX26/PEX9</b>	ukotvení ATPáz PEX1 a PEX6
	PEX18 (~PEX21), PEX20	koreceptory PEX7
	PEX22	ukotvení PEX4 v membráně
Biogeneze peroxizomálních membrán	<b>PEX3</b>	tvorba "docking" komplexu pro PEX19
	<b>PEX16</b>	asociace PMPs v ER
	<b>PEX19</b>	volný chaperon, receptor pro mPTS
Regulace počtu a velikosti organel	<b>PEX11*</b>	elongace membrány, asociace děličích faktorů, aktivace GTPázy
	PEX25*	elongace a remodelace membrány
	PEX27*	negativní regulace štěpení
	PEX34	pozitivní regulace štěpení
	PEX23 (~PEX30)	regulace de novo vznikajících peroxizomů
	PEX24 (~PEX28), PEX29, PEX31, PEX32	komplex retikulonů, tvorba kontaktních míst na ER subdoménách



vznikat, a to buď prostřednictvím i) *růstu a dělení* již existujících organel nebo ii) *de novo*.

**Tabulka 1. Přehled kvasinkových PEX genů, včetně identifikovaných lidských variant (tučně).** Funkční kategorie jsou barevně odlišeny, poslední je rozdělena na 2 části, kde zelená značí peroxiny důležité zejména pro růst a dělení, žlutá pak pro vznik *de novo*. \*Peroxyiny patří do společné rodiny, mající více izoform v rámci jednoho organismu. ~Homologické geny. ER, endoplasmatic reticulum; PEX, peroxine; PMPs, peroxizomal membrane proteins; PTS(1,2), peroxisomal target signal; mPTS, membrane PTS (převzato a upraveno z Smith & Aitchison, 2013; Yuan, Veenhuis, & van der Klei, 2016).

### 1.3. Biogeneze dělením

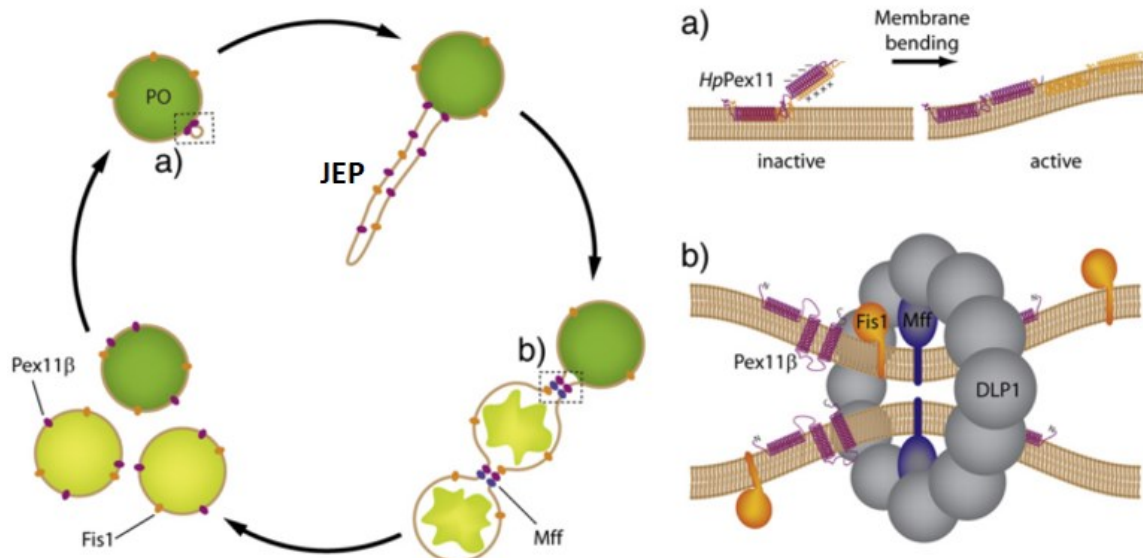
Biogeneze savčích peroxizomů skrze růst a dělení je iniciována membránovým peroxinem **PEX11pβ** (Delille et al., 2010; J. Koch et al., 2010; Michael Schrader et al., 1998). Izercí N-terminální části  $\alpha$ -helixu Pex11pβ dojde k morfologickým změnám, které posléze stimulují elongaci peroxizomů – membrána peroxizomu se vychlípí, prodlužuje a dochází ke vzniku tubulárních výčnělků, které tvoří tzv. JEP struktury (z angl. Juxtaposed Elongated Peroxisomes, Obr. 1) (J. Koch et al., 2010; Opaliński, Veenhuis, & Van Der Klei, 2011; Yoshida et al., 2015). Dále se ukazuje, že PEX11pβ prostřednictvím působení dokosahexaenové kyseliny (DHA) oligomerizuje a na prodlužující se membráně vytváří charakteristické, na PEX11pβ bohaté oblasti, z nichž některé patrně označují místa pro pozdější konstrikci a odštěpení dceřiných organel (Delille et al., 2010; Itoyama et al., 2012). Samotné dělení však vyžaduje přítomnost dalších faktorů, které peroxizomy sdílí společně s mitochondriemi. **DLP1**<sup>1</sup> patří do skupiny proteinů s GTPázovou aktivitou podobných dynaminu a vyskytuje se převážně volně v cytoplasmě. Dokáže však vytvářet organizované polymerní struktury, které jsou schopné obklopit zúžená místa vychlípěné membrány a díky hydrolýze GTP mechanicky odštěpit nově vznikající organelu (Fröhlich et al., 2013; A. Koch et al., 2003; Li & Gould, 2003; Macdonald et al., 2014; Smirnova, Griparic, Shurland, & Blied, 2001).

Studie ukazují, že protein **Mff** (Mitochondrial fission factor) dokáže sám asociovat oligomery DLP1 k vnější mitochondriální membráně a podobné výsledky byly zaznamenány i u peroxizomů, kde tento faktor zřejmě funguje jako adaptorový protein umožňující interakci membránového Pex11pβ a cytosolického DLP1 (Itoyama et al.,

---

<sup>1</sup> V literatuře je DLP1 jinak nazývaný také jako Drp1, popř. homolog Dnm1 u kvasinek.

2013; Otera et al., 2010). Výzkumy dále přináší poznatky o tom, že Mff je lokalizován do konstričních míst na elongované membráně a ko-exprese jeho genu společně s genem



PEX11 $\beta$  vede k proliferaci organel, což podporuje hypotézu, že Mff představuje faktor nezbytný pro dělení savčích peroxizomů (Itoyama et al., 2013).

**Obr. 1. Model růstu a dělení peroxizomů v savčích buňkách.** (a) Remodelace membrány skrz inzerci  $\alpha$ -helixu proteinu Pex11p $\beta$  do jednoho listu fosfolipidové dvojvrstvy. (b) Asociace faktorů nezbytných pro dělení do konstričních míst na membráně a jejich pravděpodobné interakce. Pex11 $\beta$ , peroxin11 $\beta$ ; HpPex11, peroxin11 z kvasinky *H. polymorpha*; Mff, mitochondrial fission factor; Fis1, mitochondrial fission 1 protein; DLP1, dynamin-like protein 1, JEP, juxtaposed elongated peroxisomes (převzato a upraveno z Schrader, Bonekamp and Islinger, 2012).

**hFis1/Fis1** (human Mitochondrial fission 1 protein) se jeví jako další potenciální faktor ovlivňující štěpení peroxizomů a mitochondrií, přestože jeho role není ještě přesně definována. Je známo, že exprese genu Fis1 zvyšuje proliferaci mitochondrií (Yoon, Krueger, Oswald, Mcniven, & Mcniven, 2003) a starší studie dále uvádějí, že současně podporuje i dělení peroxizomů, přičemž jeho umlčení vede ke vzniku elongovaných peroxizomů i mitochondrií (Kobayashi, Tanaka, & Fujiki, 2007; A. Koch, Yoon, Bonekamp, McNiven, & Schrader, 2005). Novější studie však předkládají poněkud odlišná pozorování, kde FIS1-knockdown buňky vykazují nezměněnou peroxizomální morfologii oproti elongovaným peroxizomům u DLP1/MFF-knockdown buněk (Otera et al., 2010). Dále pak bylo zjištěno, že přítomnost Fis1 RNAi neměla vliv na asociaci DLP1 k membráně ani na interakci mezi DLP1 a PEX11p $\beta$  (Itoyama et al., 2013; Otera et al.,

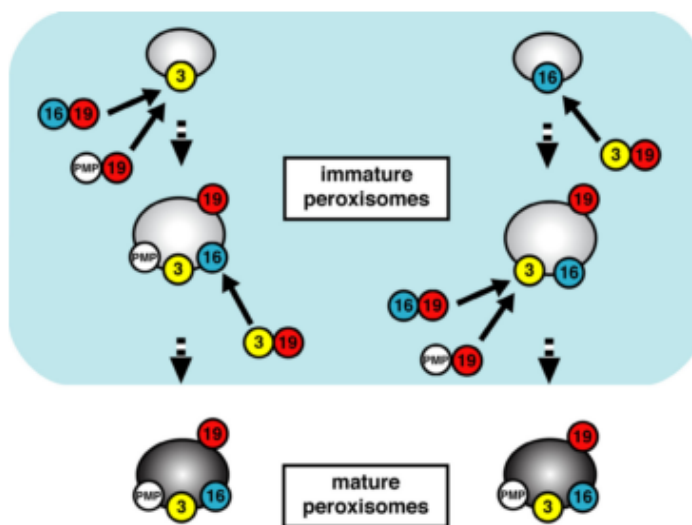
2010). Stále však platí, že hFis1 je integrální protein peroxizomální membrány, u kterého byla identifikována schopnost vytvořit ternární komplex společně PEX11p $\beta$  a DLP1 (Kobayashi et al., 2007). Z výše zmíněných poznatků lze tedy usoudit, že Fis1 se může nějakým způsobem podílet na dělení peroxizomů, avšak pravděpodobně pouze v menší míře jako regulační faktor.

#### 1.4. Biogeneze de novo

Peroxisomy mohou také vznikat de novo skrze fúzi tzv. **pre-peroxizomálních váček**, které se odštěpují ze speciálních domén endoplasmatického retikula, což bylo prokázáno na kvasinkových buňkách (Van Der Zand, Gent, Braakman, & Tabak, 2012). Podle této studie lze pre-peroxizomální váčky rozdělit do 2 odlišných tříd podle proteinů obsažených v membráně; i) „**docking komplex**“ je tvořený peroxiny PEX13p, PEX14p a PEX17p a ii) „**RING finger komplex**“ se skládá z PEX2p, PEX10p a PEX12p. Každý z těchto celků tvoří jednu polovinu peroxizomálního translokonu, a teprve až po heterotypickém splynutí váček díky činnosti ATPáz PEX1p a PEX6p dojde k vytvoření kompletního funkčního kanálu, který slouží pro import dalších proteinů (Titorenko, Chan, & Rachubinski, 2000; Van Der Zand et al., 2012).

Prozatím není zcela objasněno, zda popsany princip biogeneze probíhá stejně i u savčích buněk, ovšem v dendritických buňkách myši již byly pozorovány speciální membránové domény na ER, bohaté na proteiny PEX13p a PMP70, kde pre-peroxizomální váčky vznikají (Geuze et al., 2003). Dále byly identifikovány 3 hlavní faktory zodpovědné za formování membrány peroxizomů, a to peroxiny **PEX3p, PEX16p a PEX19p**. Savčí PEX16p je ko-translačně transportován do membrány ER, kde pomáhá asociovat další potřebné PMPs (z angl. Peroxisomal membrane proteins), a současně slouží jako naváděcí receptor pro PEX3p (Peter K. Kim, Mullen, Schumann, & Lippincott-Schwartz, 2006; Matsuzaki & Fujiki, 2008; Toro et al., 2009). PEX3p je posléze integrován do membrány, kde funguje jako kotva pro PEX19p. Tento peroxin funguje jako solubilní chaperon, který rozpoznává speciální signální sekvenci, tzv. mPTS, (z angl. membrane Peroxisomal targeting signal) nově vznikajících PMPs a společně s PEX3p usnadňuje jejich inkorporaci do membrány (Fang, Morrell, Jones, & Gould, 2004; Rottensteiner et al., 2004; Toro et al., 2009). Mechanismus třídění proteinů a pučení váček dosud není znám, ovšem studie naznačují, že by rozřazení mohlo probíhat

na základě odlišných primárních receptorů v membráně vznikajícího váčku, které by



k sobě přitahovaly další PMP (Obr. 2).

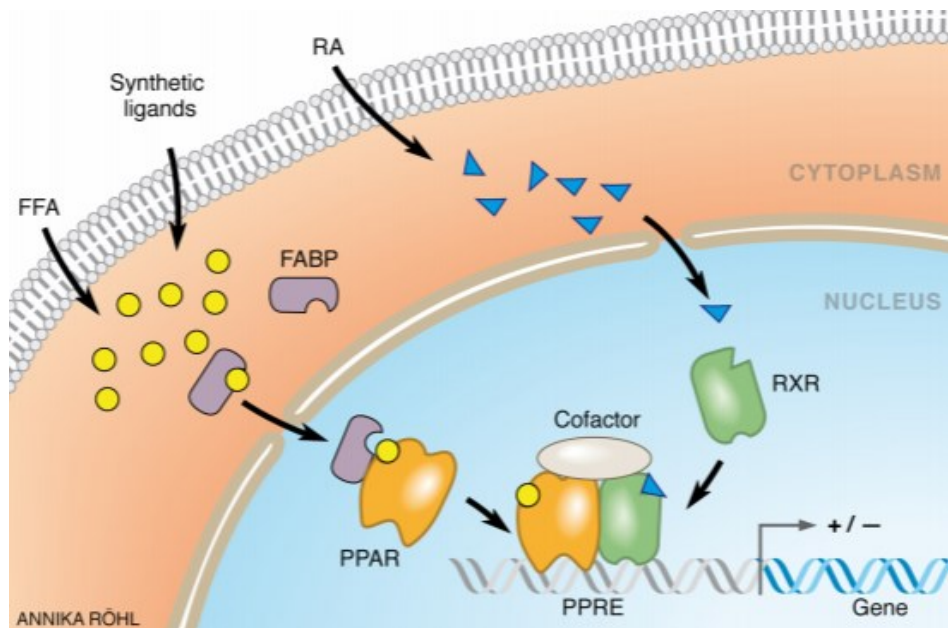
Obr. 2. **Model de novo biogeneze peroxizomů.** Čísla označují peroxiny, tedy PEX3p, PEX16p a PEX19p; PMP, peroxizomální membránové proteiny (převzato z Matsuzaki & Fujiki, 2008).

### 1.5. Regulace proliferace a pexofágie

Expresí PEX genů, které zodpovídají za proliferaci peroxizomů, je řízena jadernými **PPAR receptory** (z angl. Peroxisome proliferator-activated receptor). Rodina těchto receptorů obsahuje 3 hlavní izoformy, kterými jsou alfa, beta/delta a gamma (Tyagi, Gupta, Saini, Kaushal, & Sharma, 2011). PPARs tvoří heterodimery s retinoidními receptory (RXR), díky čemuž vzniká aktivovaný komplex, který se následně váže na specifické úseky DNA, zvané **PPRE** (Peroxisome proliferator response element, Obr. 3) (Aldridge, Tugwood, & Green, 1995; S A Kliewer, Umesono, Noonan, Heyman, & Evans, 1992). Zde pak působí jako transkripční faktory, které zpravidla stimulují proliferaci peroxizomů. PPAR receptory jsou ovšem zajímavé i z hlediska citlivosti na různé ligandy, které dokáží modifikovat jejich transkripční aktivitu a tím ovlivnit i některé metabolické dráhy. Mezi takové molekuly patří především poly-nenasycené mastné kyseliny (PUFA, Trombetta et al., 2007), prostaglandiny (Steven A. Kliewer et al., 1995) nebo hypolipidemická farmaka (Reddy & Krishnakantha, 1975; Svoboda & Azarnoff, 1966).

Tato okolnost však současně přináší riziko nekontrolované proliferace, a proto peroxizomy disponují mechanismy, skrz které lze jejich počet regulovat. Snížení přebytečného množství peroxizomů zajišťuje děj nazývaný **pexofágie**. Při tomto

procesu jsou peroxizomy pohlceny vakuolou, kde jsou posléze degradovány přítomnými hydrolytickými enzymy. Pexofágie u savců může být řízena přes 2 různé peroxiny –



PEX3p a PEX14p. PEX3p-degradační dráha vyžaduje současné navázání ubiquitinu a proteinu LC3 (Microtubule-associated proteins light chain 3) (Peter Kijun Kim, Hailey, Mullen, & Lippincott-Schwartz, 2008), oproti tomu PEX-14p interaguje s LC3 přímo (Jiang, Hara-Kuge, Yamashita, & Fujiki, 2015). Zmíněné studie poukazují na zapojení dalších adaptorových proteinů, mezi než patří např. p62 a NBR1.

Obr. 3. **Struktura a funkce PPAR.** Receptory PPAR (Peroxisome proliferator-activated receptor) a RXR (Retinoid X receptor) tvoří heterodimer, společně se váží na PPRE (Peroxisome proliferator response element) oblast DNA a regulují transkripci genů. Proces může být dále pozitivně i negativně modifikován skrze kofaktory. PPAR váže ligandy přirozené, jako FFA (Free fatty acids) i syntetické, RXR jsou aktivovány přes RA (9-cis-retinoic acid). FABP (Fatty acid binding protein) může pomáhat s transportem FFA na PPAR (převzato z Ehrenborg & Krook, 2009)

## 2. Funkce peroxizomů

Peroxisomy jsou známé především pro svou jedinečnou schopnost vytvářet i rozkládat  $H_2O_2$  (Baudhuin et al., 1965), to ovšem zdaleka nevystihuje jejich skutečný potenciál. Peroxisomy obsahují nejméně 50 různých enzymů, které se podílí zejména na metabolismu lipidů. Ten zahrnuje na jedné straně katabolické dráhy, mezi které se řadí peroxizomální beta-oxidace hlavně velmi dlouhých mastných kyselin (VLCFA, Singh et al., 1984), nebo specializovanější alfa-oxidace větvených mastných kyselin (BCFA,

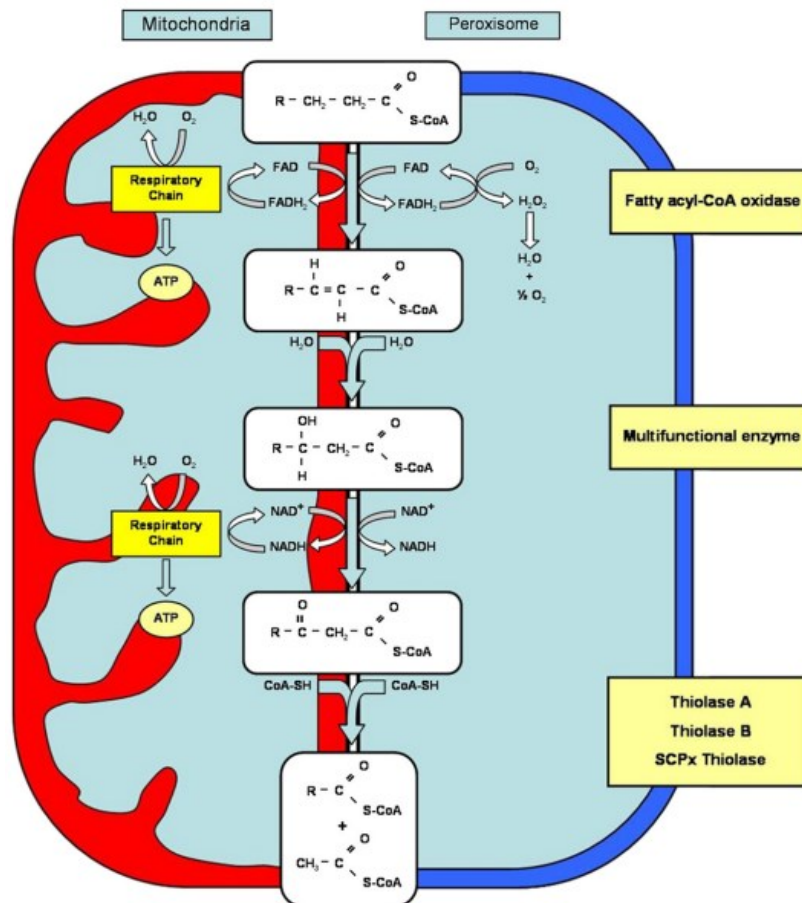
Verhoeven et al., 1998), ale na straně druhé sem patří také reakce anabolické, jako je syntéza étherických lipidů (Burke & Hajra, 1979) nebo žlučových kyselin (Kase et al., 1983). Výše zmíněné procesy běžně generují volné kyslíkové radikály (ROS) jako vedlejší produkt svých biochemických interakcí, což s sebou přináší riziko spojené narušením struktury makromolekul a rozvojem některých onemocnění, např. diabetu (Elsner, Gehrman, & Lenzen, 2011). Avšak ROS mohou také sloužit jako sekundární posilové a účastnit se protizánětlivých a jiných imunitních reakcí (Dixit et al., 2010; Zmijewski et al., 2009), apoptózy (Hasegawa et al., 2010), a dokonce by mohly fungovat i jako komunikační molekuly mezi peroxizomy a mitochondriemi (Peeters et al., 2015). Z výše uvedených informací tedy zcela jasně vyplývá, že peroxizomy představují v mnoha ohledech organely nezbytné pro správnou funkci buněk.

### 2.1. Beta-oxidace

Beta-oxidace představuje proces odbourávání řetězců mastných kyselin založený na principu postupného odštěpování 2-uhlíkatých molekul a jejich přeměnění až na konečný produkt acetyl-CoA, který je posléze využit v Krebsově cyklu pro tvorbu energie (shrnuto ve Wanders, 2004). Beta-oxidace probíhá v podstatě ve všech eukaryotických organismech, přičemž u rostlin a hub se odehrává výlučně v peroxizomech (Richmond & Bleecker, 1999), kdežto u savců, včetně člověka, zajišťují degradaci mastných kyselin z velké části i mitochondrie (Reddy et al., 1986; Verhoeven et al., 1998). Důvodem pro participaci různých organel je substrátová specifita jejich enzymů, jelikož mitochondrie přijímají mastné kyseliny s krátkým, středně dlouhým, případně dlouhým řetězcem (maximálně nejspíš C20, Ikeda, Okamura-Ikeda, & Tanaka, 1985), zatímco peroxizomy zpracovávají zejména velmi dlouhé řetězce mastných kyselin (VLCFA, nejčastěji C22 a více), vyšší nenasycené mastné kyseliny (PUFA), dále mastné kyseliny s větveným řetězcem (pristanová kyselina), dlouhé dikarboxylové kyseliny nebo intermediáty žlučových kyselin (DHCA a THCA) (Hiltunen, Karki, Hassinen, & Osmundsen, 1986; Singh et al., 1984; Vanhove et al., 1993). Aby mohly tyto mastné kyseliny vstoupit do lumen peroxizomů, musí být nejprve přeměněny prostřednictvím různých acyl-CoA-syntetáz na odpovídající estery, které jsou posléze přepraveny přes membránový ABC transportér (van Roermund et al., 2008).

Obecný mechanismus beta-oxidace se skládá ze čtyř navazujících kroků: 1) dehydrogenace 2) hydratace 3) dehydrogenace 4) thiolytické štěpení (Obr. 4). U





lidských peroxizomů je první dehydrogenace katalyzována acyl-CoA oxidázou, přesněji ACOX1, specifickou pro velmi dlouhé řetězce mastných kyselin, popř. ACOX2, která preferuje větvené mastné kyseliny a intermediáty žlučových kyselin (Vanhove et al., 1993). Do této reakce zasahuje také kofaktor  $FAD^+$ , který se redukuje na  $FADH_2$ . Aby mohl být  $FADH_2$  opětovně využit, je nutné jej reoxidovat. Zatímco mitochondrie využívají spřažení  $FADH_2$  s elektronovým transportním řetězcem (ETC) za účelem produkce ATP, v peroxizomech reaguje  $FADH_2$  s molekulárním kyslíkem a tvoří  $H_2O_2$ , který je nato rozložen katalázou na **Obr. 4. Obecné schéma beta-oxidace acyl-CoA esteru v mitochondriích (červeně) a peroxizomech (modře)**. Reakční průběh je pro obě orgány stejný, beta-oxidační dráha se liší pouze ve způsobu regenerace kofaktorů.  $FAD/FADH_2$ , flavinadenindinucleotide;  $NAD/NADH$ , nikotinamidadenindinucleotide; CoASH, Coenzym A (převzato z Fidaleo, 2010).

vodu a kyslík. Oba dva následující kroky, tedy hydratace a druhá dehydrogenace, jsou katalyzovány jedním ze dvojice tzv. bifunkčních proteinů, konkrétně LBP a DBP, oproti mitochondriím, kde je pro každou reakci určen jiný enzym. Z výzkumů plyne, že DBP je pravděpodobně hlavním enzymem zodpovědným za oxidaci VLCFAs, pristanové kyseliny, DHCA a THCA (Baes et al., 2000). Podle dostupných poznatků není LBP

nepostradatelným faktorem reakční dráhy, jeho ztráta nenarušila schopnost beta-oxidace, ačkoliv studie poukazují na možnou souvislost LBP s oxidací dikarboxylových kyselin (Ferdinandusse, Denis, Van Roermund, Wanders, & Dacremont, 2004). Posledním krokem je thylitické štěpení, při kterém vzniká acetyl-CoA a zkrácený acylový zbytek mastné kyseliny. Lidské peroxizomy obsahují nejméně 2 thiolázy, a to ACAA1 a SCPx (Seedorf, Brysch, Engel, Schrage, & Assmann, 1994; Schram et al., 1987). Zatímco ACAA1 reaguje pouze s nevětvenými řetězci, SCPx katalyzuje oxidaci větvených substrátů, jako je kyselina prystanová, případně DHCA a THCA (Seedorf et al., 1998). Vedle již zmíněných proteinů mohou do beta-oxidace zasahovat i doplňkové enzymy, např. enoyl-CoA isomeráza, nutná pro konformační změnu dvojných vazeb nenasycených mastných kyselin z polohy *cis* do *trans* nebo 2-methylacyl-CoA racemáza, která zodpovídá za přeměnu izomerů z (2R)-methyl na odpovídající 2(S)-methyl formu mastné kyseliny (Amery, Franssen, De Nys, Mannaerts, & Van Veldhoven, 2000; Schmitz & Conzelmann, 1997).

Tyto 4 reakční kroky se cyklicky opakují do té doby, než jsou zpracovány všechny uhlíky mastné kyseliny, nebo, jak je tomu v případě peroxizomů, je řetězec zkrácen definovaným počtem beta-oxidačních smyček a následně transportován k finální degradaci do mitochondrií. Substráty mohou do mitochondrií vstupovat buď volně v protonované formě (platí pro krátké řetězce) nebo navázané na karnitin, přičemž sprzęžení s karnitinem lze dosáhnout již v peroxizomech díky enzymům CROT a CRAT (Farrell, Fiol, Reddy, & Bieber, 1984; Jakobs & Wanders, 1995).

## 2.2. Alfa-oxidace

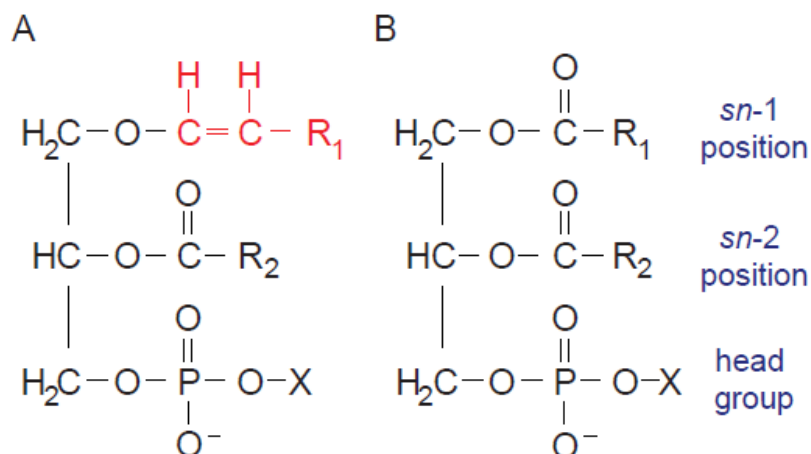
Do buněčného metabolismu vstupují i větvené mastné kyseliny, které jsou methylované na třetím uhlíku, což brání jejich úspěšné degradaci v beta-oxidačním cyklu (Croes, Casteels, & Van Veldhoven, 1996; Verhoeven et al., 1998). Aby mohly být takové molekuly metabolicky zpracovány, musí být nejprve přeměněny na 2-methylovou formu. To zajišťuje alfa-oxidace a typickou molekulou, která zmíněnou degradační dráhou prochází, je fytanová kyselina. Nejprve je třeba fytanovou kyselinu aktivovat, a to vytvořením jejího CoA-esteru. Není ještě zcela objasněno, kde se tento děj odehrává, ovšem existují dva možné modely. Je známo, že very-long-chain acyl-CoA syntetáza (VLCS) dokáže vytvořit CoA-ester přímo v peroxizomu (Steinberg, Wang, Kim, Mihalik, & Watkins, 1999), ale stejnou reakci katalyzuje i long-chain acyl-CoA syntetáza (LCS)



mimo peroxizom, načež je CoA-ester fyтанové kyseliny přepraven přes membránový ABC transportér (Watkins, Howard, Gould, Avigan, & Mihalik, 1996). Následná činnost enzymů fyтанoyl-CoA 2-hydroxylázy (PHYH) a 2-hydroxyfyтанoyl-CoA lyázy (HACL) způsobí odštěpení jednoho uhlíku ve formě formyl-CoA z původní molekuly, což vede ke vzniku pristanalu. Ten je posléze oxidován blíže nespecifikovanou aldehyddehydrogenázou (Jansen et al., 2001) na kyselinu pristanovou, jejíž CoA-ester již může být degradován beta-oxidací. Pristanoyl-CoA podstoupí 3 oxidační cykly a výsledný metabolit je posléze transportován do mitochondrií ke konečnému zpracování (Verhoeven et al., 1998).

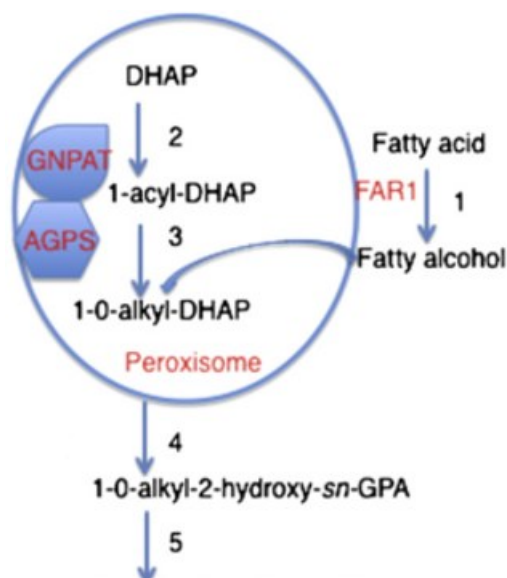
### 2.3. Syntéza plasmalogenů

Plasmalogeny patří do skupiny éterických fosfolipidů s velmi charakteristickou strukturou (Obr. 5). Na glycerolovou kostru je přes vinyl-éterickou vazbu připojen v pozici sn-1 mastný alkohol (nejčastěji s řetězcem C16:0, C18:0, C18:1), v pozici sn-2 je pak navázána poly-nenasycená mastná kyselina, běžně dokosahexaenová (DHA) nebo arachidonová (AA), třetí uhlík nese polární skupinu, většinou ethanolamin (EtA) nebo cholin (Ch), která je na připojena přes fosfátový zbytek (shrnutí v Braverman & Moser, 2012). Odhaduje se, že 20 % všech fosfolipidů v lidském těle tvoří právě plasmalogeny, přičemž největší zastoupení mají v nervové tkáni, srdeční svalovině a buňkách imunitního systému (Farooqui, Rapoport, & Horrocks, 1997; MacDonald & Sprecher, 1989; Moser et al., 2011). Srdce savců obsahuje zhruba 35-41% plasmenylcholinu a 43-59% plasmenylethanolaminu v poměru k ostatním fosfolipidům (Arthur, Mock, Zaborniak, & Choy, 1985; Moser et al., 2011). Plasmalogeny vykazují díky své struktuře specifické chemicko-fyzikální vlastnosti a patrně tím ovlivňují membránové děje jako např. endocytózu či sekreci váčků, protože jejich zvýšené poměrné zastoupení mění fluiditu membrány a usnadňuje fúzi lipidových vrstev. Ovšem vedle strukturní úlohy mohou plasmalogeny a jejich metabolity zastávat i funkci zásobáren poly-nenasycených mastných kyselin, antioxidantů nebo mediátorů signálních kaskád.



**Obr. 5. Chemická struktura plasmalogenů (A) a běžných glycerolipidů (B) s vyznačenou vinyl-éterickou vazbou v pozici sn-1 (červeně).** R<sub>1</sub> a R<sub>2</sub> reprezentují postranní řetězce navázané na kostru glycerolu, X představuje polární skupinu (převzato z Moser et al., 2011).

Syntéza plasmalogenů je několika fázový děj, jehož první 2 kroky se odehrávají v peroxizomech, přesněji na vnitřní straně membrány. Enzymy, které katalyzují tyto reakce, spolu s velkou pravděpodobností fyzicky interagují, což patrně zvyšuje efektivitu celého procesu (Biermann, Just, Wanders, & Van Den Bosch, 1999). V prvním bodě probíhá acylace molekuly DHAP v pozici sn-1 katalyzovaná proteinem dihydroxyaceton-P-acyltransferázou (DAPAT/GNPAT). Ve druhém pak následuje výměna acylového zbytku za alkylový řetězec (mastný alkohol) pomocí enzymu alkyl-dihydroxyaceton-P-syntázy (ADAPS/AGPS) a zároveň zde dochází ke vzniku typické etherické vazby (Biermann et al., 1999; de Vet et al., 1999). Na vnější straně membrány je přítomna reduktáza FAR1 (popř. méně rozšířená a více selektivní FAR2), která za pomoci NADPH transformuje CoA estery mastných kyselin na alkoholy, které jsou posléze přepraveny do matrix peroxizomu a využívány právě enzymem AGPS (James et al., 1997). Následující děj, který zahrnuje vytvoření 1-0-alkyl-2-hydroxy-sn-G3P, může být lokalizován jak na membránu jak peroxizomů, tak ER, avšak zbylé reakční kroky probíhají už výlučně v ER (shrnuto Brites, Waterham, & Wanders, 2004).



**Obr. 6. Schéma počátečních kroků syntézy plasmalogenů.** DHAP, Dihydroxyacetone phosphate; GNPAT, glycerone phosphate; O-acyltransferase; AGPS, alkylglycerone phosphate synthase; FAR1, fatty alcohol reductase 1.

#### 2.4. Redoxní metabolismus buněk

Oxidačně-redukční reakce, jejichž princip spočívá v přenosu elektronů od donoru na akceptor, představují přirozenou součást metabolických pochodů. Tyto děje mimo jiné generují tzv. reaktivní formy kyslíku (ROS), případně dusíku (RNS), dále označované jen ROS, mezi které se řadí mnoho biologicky významných látek, např. superoxidy ( $O_2^-$ ), peroxid vodíku, hydroxylový radikál nebo oxid dusnatý (shrnutí v Fransen, Nordgren, Wang, & Apanasets, 2012). Zmíněné molekuly se mohou uplatňovat v signálních drahách, např. při expresi genů, buněčné proliferaci a diferenciaci, apoptóze, zánětlivých reakcích nebo přímo jako látky zabíjející bakterie. Ovšem na druhé straně se ukazuje, že hromadění ROS v buňce zvyšuje míru oxidačního stresu, jelikož tyto látky ochotně reagují s makromolekulami lipidů, proteinů či DNA, čímž mohou narušovat integritu buňky a v celkovém důsledku vést až k závažným zdravotním problémům. Z toho důvodu si živočichové i rostliny vyvinuly účinné obranné mechanismy, které pomáhají udržovat homeostázu redoxního prostředí a zajistit tak správné fungování buněk (Michiels, Raes, Toussaint, & Remacle, 1994).

Peroxisomy jsou jedním z míst vzniku RONS, zejména  $H_2O_2$ . Pravděpodobně nejdůležitějším peroxizomálním zdrojem jsou acyl-CoA oxidázy, které se uplatňují při beta-oxidaci MK (Reddy et al., 1986). Dalším enzymem je např. flavoproteinová oxidáza D-aminokyselin, exprimovaná zejména v játrech, ledvinách a mozku, která reaguje

s neutrálními nebo bazickými D-izomery (Usuda, Yokota, Hashimoto, & Nagata, 1986). Podstatnou roli hraje i xantinoxidáza, o jejíž lokalizaci do peroxizomů či cytosolu, případně obou kompartmentů, existují rozporuplné závěry (Angermüller, Bruder & Fahimi, 1987; Ichikawa, Nishino, & Ichikawa, 1992). Nicméně je známo, že daný enzym katalyzuje poslední krok degradace purinů, tedy přeměnu hypoxantinu a xantinu na ureu, a může existovat ve 2 formách – jako NAD<sup>+</sup> dependentní dehydrogenáza (D-forma) nebo jako O<sub>2</sub><sup>-</sup> dependentní oxidáza (O-forma). Za určitých podmínek, třeba vlivem proteolýzy nebo ischemie, může být D-forma transformována na O-formu, která produkuje peroxid vodíku a superoxidový aniont (Nishino, Okamoto, Eger, Pai, & Nishino, 2008). Jiným příkladem může být NO syntáza, která vykazuje monomerní i dimerní strukturu. Zdá se, že monomerní forma je lokalizována převážně do peroxizomů (Loughran et al., 2005), naopak v cytosolu jsou přítomné zejména dimery s určitým podílem monomerů (Wang & Marsden, 1995). Studie naznačují, že pokud je NO syntáza monomer nebo není-li dostupný vhodný substrát, dokáže tento enzym také vytvářet superoxidový aniont. Z hlediska savců je významným zdrojem ROS ještě urikáza (urát-oxidáza), detekovaná pouze v játrech a ledvinách, která se ovšem díky genové mutaci nevyskytuje v buňkách primátů a člověka (Angermüller & Fahimi, 1986). K celkové produkci ROS v buňce přispívají kromě dalších peroxizomálních enzymů také mitochondrie v rámci ETC (Chen, Vazquez, Moghaddas, Hoppel, & Lesnefsky, 2003), retikulární enzymy Ero1 a PDI při tvorbě disulfidických můstků nebo činnost NADPH oxidáz endoteliálních buněk (Opperdoes & Borst, 1977).

Peroxisomy však disponují mnoha proteiny, které pomáhají ROS metabolizovat, a tím i redukovat oxidační stres. Nejznámějším a nejvíce zastoupeným enzymem je kataláza, homotetramer s hemovou prostetickou skupinou, která dokáže rozložit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> skrz katalytickou ( $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ ) nebo peroxidační ( $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{AH}_2 \rightarrow \text{A} + 2 \text{H}_2\text{O}$ ) reakci (Keilin, D., Hartree, 1954). Donorem protonů (AH<sub>2</sub>) pro peroxidační reakci bývají často ethanol, methanol, formiát a nitrit. Kataláza může vykazovat i oxidační aktivitu, kdy využívá molekulární kyslík za nepřítomnosti H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Michael Schrader & Fahimi, 2004) Dalším příkladem je superoxid dismutáza 1 (SOD1), která přeměňuje superoxidový radikál na méně reaktivní H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, který je posléze zpracován již zmíněnou katalázou. Jsou známy 2 intracelulární typy dismutázy, a to peroxizomální Cu,ZnSOD1 a mitochondriální MnSOD1, přičemž se spekuluje o její možné kolokalizaci do peroxizomů. Jiným antioxidantem je peroxiredoxin 5, přítomný také v mitochondriích, cytosolu a

v menší míře i v jádře, který je schopen redukovat  $H_2O_2$ , ale i hydroperoxydy a peroxinitrit. Pro správnou funkci enzymu jsou nezbytné 2 cysteinové zbytky v aktivním místě, jejichž thiolová skupina slouží jako redukční činidlo při odbourávání RONS. V rámci peroxizomů zatím nejsou zcela přesně definovány funkce glutathion-S-transferázy kappa a epoxid-hydrolázy 2, avšak předpokládá se, že jejich účel souvisí s činností, kterou vykonávají v jiných buněčných kompartmentech. O GSTK1 je známo, že se účastní detoxifikace peroxidovaných lipidů a xenobiotik, EPHX2 dokáže odbourávat epoxidy (cyklické étery), pravděpodobně odvozené od cholesterolu, prostaglandinů nebo polynenasycených MK (shrnutí v Fransen et al., 2012).

### 3. Energetický metabolismus srdce

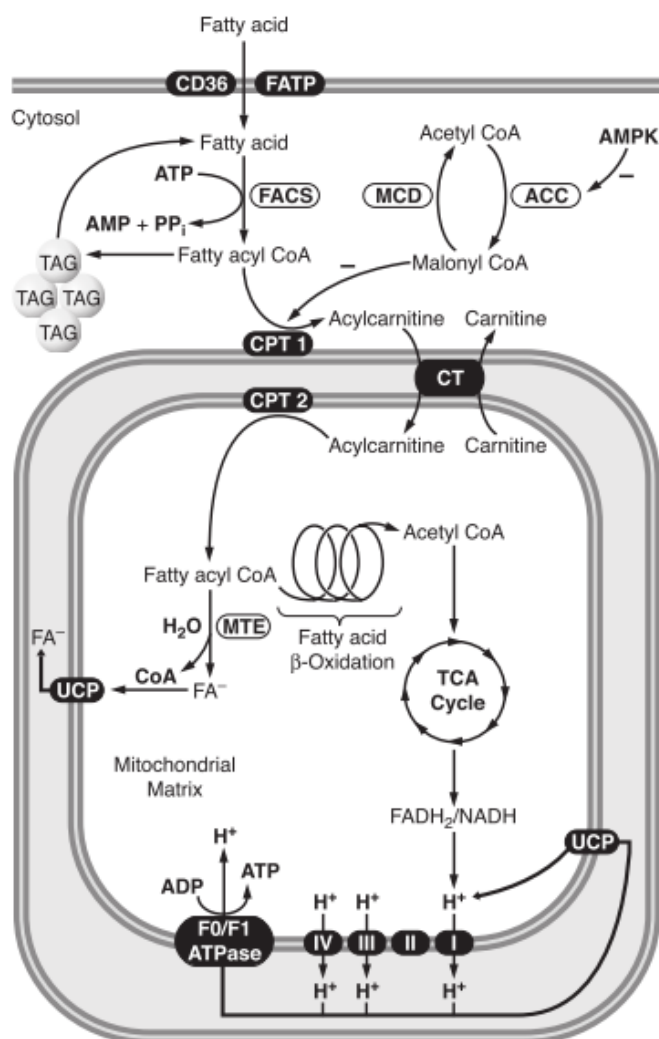
Srdce běžně pracuje za aerobních podmínek a ke svalové kontrakci vyžaduje přítomnost ATP, které je třeba neustále doplňovat. Kardiomyocyty na rozdíl od kosterních svalů obsahují vysoký podíl mitochondrií, jelikož až 95% veškerého ATP je produkováno oxidativní fosforylací (Stanley, Recchia, & Lopaschuk, 2005). Nejhojnějším a upřednostňovaným substrátem využívaným myokardem pro tvorbu energie jsou mastné kyseliny, které tvoří 60-90% produkovaného acetyl-CoA, zbylých 10-40% připadá pyruvátu, který je odvozen víceméně stejnoměrně z glykolýzy a oxidace laktátu (Lopaschuk, Ussher, Folmes, Jaswal, & Stanley, 2010; Wisneski et al., 1985). Acetyl-CoA se účastní Krebsova cyklu v matrix mitochondrií, kde jsou díky sérii cyklicky se opakujících přeměn generovány redukované koenzymy NADH a  $FADH_2$ . Obě molekuly jsou přenášeny k vnitřní membráně mitochondrií a využity komplexy elektron transportního řetězce pro vytvoření intermembránového elektrochemického gradientu nutného pro správnou funkci  $F_0F_1$ -ATP syntázy. Dalšími limitujícími faktory, které ovlivňují míru oxidativní fosforylace, jsou dále ADP, kyslík a Pi.

#### 3.1. Zpracování mastných kyselin

Mastné kyseliny se do kardiomyocytu dostávají buďto prostou difúzí nebo přes membránové přenašeče, mezi které patří např. proteiny FABP<sub>PM</sub>, FAT/CD36 a rodina FATP, zejména FATP6 exprimovaný predominantně v srdci (Binas, Danneberg, McWhir, Mullins, & Clark, 1999; Gimeno et al., 2003). Následně jsou převedeny cytosolickými acyl-CoA-syntetázami na odpovídající estery, které jsou buď využity na syntézu TAG nebo degradovány v beta-oxidačním cyklu, což závisí na momentální potřebě buněk. Jelikož na rozdíl od peroxizomů je mitochondriální membrána pro CoA estery takřka

nepropustná, tak se na její vnější straně nachází protein karnitin-palmitoyl transferáza I (CPTI), který katalyzuje výměnu CoA za karnitin a vzniklý acyl-karnitin přenáší do intermembránového prostoru. Transportér začleněný do vnitřní mitochondriální membrány, pojmenovaný karnitin/acylkarnitin translokáza (CACT), zprostředkovává transfer acyl-karnitinu do matrix mitochondrií výměnou za volný karnitin, který putuje do cytosolu. V matrix následně protein karnitin-palmitoyl transferáza II (CPTII) katalyzuje výměnu karnitinu zpět za CoA za vzniku příslušného aktivovaného acyl-CoA esteru (Murthy & Pande, 1984, 1987; Wanders, 2004). Dále jsou mastné kyseliny degradovány v beta-oxidačním cyklu, jehož mechanismus, jak již bylo naznačeno v kapitole o peroxizomálních funkcích, je v obou organelách stejný a v konečném důsledku vede ke vzniku acetyl-CoA, který slouží jako substrát pro Krebsův cyklus (Obr. 6)

Zpracování mastných kyselin za účelem tvorby energie je podmíněno několika faktory. Míra vstřebávání a oxidace substrátů je primárně ovlivněna koncentrací neesterifikovaných mastných kyselin v plasmě (Wisneski, Gertz, Neese, & Mayr, 1987). Jejich hladina může kolísat v závislosti na podmínkách; např. po jídle se množství volných mastných kyselin v plasmě snižuje, naopak hladovění, ischémie nebo diabetes jejich podíl zvyšují (Denton & Randle, 1967; Lamb et al., 2008). Jiným významným metabolickým regulátorem je malonyl-CoA, jelikož inhibuje činnost proteinu CPT1, který řídí transport mastných kyselin do intermembránového prostoru mitochondrií (Murthy & Pande, 1987; Saggerson & Carpenter, 1981). Malonyl-CoA vzniká v cytosolu z acetyl-CoA činností acetyl-CoA karboxylázy (ACC) a je rozkládán malonyl-CoA dekarboxylázou (MCD). ACC je navíc závislá na působení 5'-AMP-aktivované protein kinázy (AMPK), která hraje významnou úlohu při udržování rovnováhy srdečního metabolismu prostřednictvím fosforylace různých enzymů. Právě AMPK mimo jiné inhibuje činnost ACC, čímž podporuje oxidaci mastných kyselin (Kudo, Barr, Barr, Desai, & Lopaschuk, 1995; Winder et al., 1997). Beta-oxidační cyklus být může sám o sobě stimulován či utlumen skrz substrátovou citlivost vlastních enzymů, kdy poměr oxidovaných a redukovaných stavů  $NAD^+/NADH$  nebo acetyl-CoA/Co-A funguje jako zpětnovazebný signál (Lopaschuk et al., 2010).



**Obr. 7. Schéma metabolických dějů, kterými prochází mastné kyseliny (převzato z Stanley et al., 2005)**

### 3.2. Zpracování glukózy

Vstup glukózy do kardiomyocytů je podmíněn transmembránovým glukózovým gradientem a obsahem glukózových transportéru v sarkolemě, zejména GLUT4 a v menší míře i GLUT1 (Kraegen et al., 1993). Inkorporace GLUT 4 z intracelulárních vezikulů do membrány je stimulována inzulinem, aktivací AMPK, dále při zvýšené fyzické zátěži nebo ischémii. (Quon et al., 1994; Russell, Bergeron, Shulman, & Young, 1999; Sun, Nguyen, DeGrado, Schwaiger, & Brosius, 1994). Jakmile je glukóza přenesena do cytosolu, je fosforylována hexokinázou na glukózu-6-P. Tento meziprodukt představuje spojnicí několika metabolických drah a může být využit k tvorbě zásobních látek (glykogenu) nebo pro získání energie skrze glykolytické štěpení. Konečným produktem glykolýzy je pyruvát, s energetickým ziskem 2 molekul ATP, který může být buďto anaerobně přeměněn na laktát nebo je dále transportován do matrix

mitochondrie přes monokarboxylový přenašeč (MCT) či mitochondriální pyruvátový přenašeč (MPC). Zde je posléze přeměněn pomocí pyruvát dehydrogenázy (PDH) na acetyl-CoA, který je směřován do Krebsova cyklu k oxidaci (shrnutí ve Stanley et al., 2005).

V celé této reakční kaskádě existuje několik míst, která slouží jako regulační centra metabolismu. Klíčovým regulačním proteinem glykolýzy je enzym přítomný ve druhém kroku glykolýzy, a to 6-fosfofrukto-1-kináza (PFK-1). PFK-1 katalyzuje fosforylaci fruktózy-6-P na fruktózu-1,6-bisP za spotřeby ATP. Reakci inhibuje ATP,  $H^+$  a citrát, naopak ADP, AMP,  $P_i$  a fruktóza-2,6-bisP mají stimulační účinek. PDH je součástí regulačního komplexu ještě s 2 dalšími enzymy, PDH-kinázou (PDK) a PDH-fosfatázou (shrnutí ve Stanley et al., 2005). V srdci se predominantně vyskytuje PDK4, jejíž exprese je zvýšena v důsledku hladovění, diabetu nebo ischemie přes aktivaci receptoru PPAR $\alpha$ . Zatímco kináza skrz fosforylaci inaktivuje PDH, fosfatáza ji zpětnou defosforylací aktivuje. Činnost komplexu však ovlivňují další faktory, kinázu inhibuje pyruvát a snížený podíl acetyl CoA/CoA and NADH/NAD $^+$ , působení fosfatázy se zvyšuje za přítomnosti hořečnatých a vápenatých iontů.

### 3.3. Využití zdrojů energie

Využití určitého zdroje energie závisí na aktuální dostupnosti jednotlivých substrátů v kardiomyocytu a energetickém požadavku myokardu. Enzymy i substráty degradačních drah mastných kyselin a karbohydrátů se však dále navzájem ovlivňují. Beta-oxidace mastných kyselin zvyšuje poměr acetyl-CoA/CoA and NADH/NAD $^+$ , čímž aktivuje PDH kinázu a glykolýza je inhibována (shrnutí Lopaschuk et al., 2010) V důsledku štěpení mastných kyselin a zásobení Krebsova cyklu molekulami acetyl-CoA je produkováno i více citrátu, který tlumí činnost PFK-1 a tím i rozklad karbohydrátů. Naopak zvýšená koncentrace acetyl-CoA odvozeného z glykolýzy působí na thiolázu a inhibuje beta-oxidaci mastných kyselin. Acetyl-CoA může být také spřažen s karnitinem a transportován ven z mitochondrie. V cytosolu je acyl-karnitin zpětně přeměněn na acetyl-CoA, který slouží jako substrát pro ACC, což následně vede ke zvýšené produkci malonyl-CoA, jenž inhibuje karnitinový transportér mastných kyselin CPT1.

## 4. Peroxizomy v myokardu

Peroxizomy srdeční tkáně jsou obvykle oválné, menší (0,2–0,5  $\mu m$ ) orgány, často lokalizované v blízkosti mitochondrií, sarkoplazmatického retikula, T-tubulů a



lipidových kapének, přičemž experimentální důkaz, že cytoplasma kardiomyocytů obsahuje peroxizomy, byl poprvé předložen už před 40 lety (Herzog & Fahimi, 1974). Ovšem dosud není zcela přesně definováno, kterých metabolických drah se srdeční peroxizomy účastní a jaký dopad mohou mít jejich funkce na fyziologii myokardu. Je obecně známo, že peroxizomy kardiomyocytů se podílejí na beta-oxidaci mastných kyselin, nicméně prozatím není stanoveno, kolik procent z jejich celkového metabolismu v srdci zajišťují. V porovnání s buňkami jiných tkání, např. hepatocyty, je aktivita beta-oxidačních enzymů v myokardu výrazně nižší (Kvannes, Eikhom, & Flatmark, 1994). Pozoruhodné zjištění přinesla studie, která zkoumala beta-oxidaci v krysím srdci. Z výsledků vyplývá, že i více než 50 % acetyl-CoA odvozeného od peroxizomální degradace mastných kyselin slouží k syntéze malonyl-CoA, přičemž procentuální podíl se úměrně zvýšil při oxidaci delších řetězců. Jelikož malonyl-CoA kontroluje vstup mastných kyselin do matrix, je možné usoudit, že produkty peroxizomální beta-oxidace mohou ovlivňovat metabolické pochody v mitochondriích (Reszko et al., 2004). Novější studie ukazují, že peroxizomy mohou mít i kardioprotektivní význam, jelikož za patologických podmínek se kardiomyocytech hromadí velké množství LFCA, jejichž degradace přetěžuje mitochondrie. V tu chvíli pomáhá peroxizomální beta-oxidace odbourávat nadbytečné mastné kyseliny a přispívá k udržování fyziologických podmínek (Liepinsh et al., 2013).

Metabolismus mastných kyselin může být modifikován přes PPAR receptory, které jsou aktivovány rozmanitými substráty. Mezi izoformy exprimované v myokardu patří PPAR $\alpha$  a PPAR $\beta/\delta$ , naopak PPAR $\gamma$  se nachází především v tukové tkáni (Braissant, Fougère, Scotto, Dauça, & Wahli, 1996). Transgenní myši, u kterých byl exprimován PPAR $\alpha$ , vykazovaly zvýšený import a oxidaci mastných kyselin, naopak nižší využití glukózy. Zjistilo se, že daný receptor reguluje činnost PDK4 (Huang, Wu, Bowker-Kinley, & Harris, 2002) a lze tedy předpokládat, že modifikuje poměr využití beta-oxidační a glykolytické dráhy v energetickém metabolismu srdce. Změny vyvolané expresí PPAR $\alpha$  se navíc velmi podobají podmínkám při diabetickém stavu a uvažuje se, že uvedený receptor by dále mohl mít význam pro regulaci inzulinové rezistence (Duncan, Fong, Medeiros, Finck, & Kelly, 2007; Finck et al., 2002; Park et al., 2005). Exprese PPAR $\beta/\delta$  také zvyšuje činnost beta-oxidačních enzymů, a to i v případě neonatálních kardiomyocytů. Receptor může dále stimulovat expresi katálazy, čímž inhibuje H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-dependentní apoptózu. Z těchto poznatků lze usuzovat, že by PPAR $\beta/\delta$  mohl plnit

regulační úlohu při ochraně buňky před oxidačním stresem (Cheng et al., 2004; Pesant et al., 2006).

Porucha alfa-oxidační dráhy také může vyvolat vážné změny ve fyziologii srdce. Mutace, která je zodpovědná za Refsumovu nemoc, způsobuje hromadění kyseliny fytanové v tkáních a krevní plasmě, nejčastěji kvůli nefunkčnosti peroxizomálního enzymu fytanoyl-CoA 2-hydroxylázy (PHYH) (Grings et al., 2012). U pacientů trpících tímto onemocněním se může mimo jiné vyskytovat tachykardie, nepravidelný tlukot srdce, systolický šelest, zvětšená srdeční tkáň a srdeční nedostatečnost, která je nejčastější příčinou smrti pacientů (Koh et al., 2001). Podstata propuknutí choroby dosud není známá, uvažuje se však, že hromadění kyseliny fytanové může narušit dýchací řetězec v mitochondriích a schopnost zvládat zvýšený oxidační stres (Grings et al., 2012).

Mutace PEX genů mohou kromě defektů v biogenezi peroxizomů ovlivňovat i činnost jiných organel. PEX5 zodpovídá za import proteinů do peroxizomální matrix a vyřazení jeho funkce se projevuje jako Zellwegerův syndrom. (Baumgart et al., 2001). Studie zaměřená na morfologickou analýzu srdeční tkáně u PEX5-deficientních myší ukázala, že přítomné mitochondrie vykazovaly modifikovanou strukturu krist, nezvyklé rozložení komplexů ECT, zejména cytochrom c oxidázy, a zvýšený výskyt MnSOD1, pravděpodobně způsobený nadměrnou produkcí RONS. Předpokládá se, že takové změny mohou negativně ovlivňovat energetický metabolismus mitochondrií a zvyšovat oxidační stres, který se projevuje vážnými zdravotními problémy

V kardiomyocytech probíhá velké množství redoxních reakcí, což sebou nese riziko spojené se zvýšenou produkcí RONS. Akumulace těchto reaktivních forem může poškozovat strukturu makromolekul a narušovat redoxní rovnováhu. Primární obranou před zvýšenou koncentrací RONS mohou být plasmalogeny, které jsou v srdci významně zastoupeny. Tyto lipidy obvykle nesou dlouhé nenasycené mastné řetězce, které jsou k hlavní glycerolové kostře připojeny přes vinyl-esterovou vazbu. Právě tato chemická struktura činí plasmalogeny mnohem náchylnější vůči oxidaci než klasické fosfolipidy. Z těchto poznatků se usuzuje, že plasmalogeny působí v buňkách jako antioxidanty, protože přednostně vylučují RONS a snižují tak riziko rozvoje patologických stavů (Reiss, Beyer, & Engelmann, 1997; Zoeller et al., 1999). Další, a patrně nejdůležitější, kardioprotektivní funkcí peroxizomu je odbourávání reaktivních molekul v tkáních.

V srdci má mezi peroxizomálními enzymy výjimečné postavení kataláza, která se zde pravděpodobně přejímá funkci alkohol-dehydrogenázy. Experimentální studie demonstrovala, že působení ethanolu snižuje maximální rozsah a rychlost kontraktility u kardiomyocytů, snižuje iontový aktivační signál a modifikuje sensitivitu myofilament vůči  $\text{Ca}^{2+}$  iontům (Guarnieri & Lakatta, 1990; Zhang et al., 2003). Vápenaté kationty jsou nezbytné pro uvolnění aktivního místa na aktinovém vlákně, a proto by hromadění ethanolu v myokardu vedlo k závažnému fyziologickému rozvratu. Kataláza je však schopná vychytávat a rozložit molekuly ethanolu, čímž pomáhá i udržení homeostázy.

## ZÁVĚR

Energetický metabolismus srdce se opírá především o oxidaci mastných kyselin, v menší míře pak také o glykolytickou dráhu. Tuto funkci zajišťují zejména mitochondrie, jelikož až téměř 95% vznikajícího ATP je odvozeno od činnosti elektronového transportního řetězce. Peroxizomy však dokáží metabolizovat i molekuly, které do mitochondriálního beta-oxidačního cyklu vstoupit nemohou, a následně je transportovat do mitochondrií k jejich úplné degradaci. Není sice dosud zcela známo, kolik takto předzpracovaných mastných kyselin mitochondrie dále degradují, je však možné se domnívat, že by peroxizomy mohly hrát roli jako záložní zdroj energie, pokud se mitochondriím nedostávají něžně preferované substráty nebo jsou nějakým způsobem poškozené. Navíc, podle výše citované studie (Reszko et al., 2004) značná část acetyl-CoA odvozeného od peroxizomální beta-oxidace dále slouží jako substrát pro tvorbu malonyl-CoA, klíčového regulátoru beta-oxidační dráhy. Proto lze uvažovat i o jejich regulační úloze v rámci metabolismu lipidů.

Zmíněné metabolické procesy probíhají v převážně aerobním prostředí, což s sebou nese riziko tvorby ROS jako vedlejšího produktu oxidačních reakcí. Peroxizomální kataláza má nezastupitelnou úlohu, jelikož zodpovídá za přeměnu ROS na méně reaktivní molekuly, a zároveň v srdci částečně přijímá úlohu alkohol-dehydrogenázy. Mimo další enzymy může existovat ještě další možnost, jak srdce chránit před nepříznivými vlivy. Plasmalogeny, které jsou v srdci zastoupeny ve velké míře, jsou mnohem citlivější vůči působení volných radikálů než jiné lipidy, a proto mohou sloužit jako ochrana před poškozením jiných důležitých struktur. Vzhledem k tomu, že se peroxizomy účastní prvních kroků syntézy plasmalogenů, mohou být pro srdce zcela zásadní.

## SEZNAM LITERATURY

- Aldridge, T. C., Tugwood, J. D., & Green, S. (1995). Identification and characterization of DNA elements implicated in the regulation of CYP4A1 transcription. *The Biochemical Journal*, 306, 473–9. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1136542&tool=pmcentrez&endertype=abstract>
- Amery, L., Fransen, M., De Nys, K., Mannaerts, G. P., & Van Veldhoven, P. P. (2000). Mitochondrial and peroxisomal targeting of 2-methylacyl-CoA racemase in humans. *Journal of Lipid Research*, 41(11), 1752–9. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11060344>
- Angermuller, S., & Fahimi, H. D. (1986). Ultrastructural cytochemical localization of uricase in peroxisomes of rat liver. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 34(2), 159–165.
- Arthur, G., Mock, T., Zaborniak, C., & Choy, P. C. (1985). The distribution and acyl composition of plasmalogens in Guinea pig heart. *Lipids*, 20(10), 693–698. <https://doi.org/10.1007/BF02534389>
- Baes, M., Huyghe, S., Carmeliet, P., Declercq, P. E., Collen, D., Mannaerts, G. P., & Van Veldhoven, P. P. (2000). Inactivation of the peroxisomal multifunctional protein-2 in mice impedes the degradation of not only 2-methyl-branched fatty acids and bile acid intermediates but also of very long chain fatty acids. *Journal of Biological Chemistry*, 275(21), 16329–16336. <https://doi.org/10.1074/jbc.M001994200>
- Baudhuin, P., Beaufay, H., & De Duve, C. (1965). Combined biochemical and morphological study of particulate fractions from rat liver. Analysis of preparations enriched in lysosomes or in particles containing urate oxidase, D-amino acid oxidase, and catalase. *Journal of Cell Biology*, 26(1), 219–243.
- Baumgart, E., Vanhorebeek, I., Grabenbauer, M., Borgers, M., Declercq, P. E., Fahimi, H. D., & Baes, M. (2001). Mitochondrial alterations caused by defective peroxisomal biogenesis in a mouse model for Zellweger syndrome (PEX5 knockout mouse). *The American Journal of Pathology*, 159(4), 1477–94. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)62534-5](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)62534-5)
- Bernhard, W., & Rouiller, C. (1956). Microbodies and the problem of mitochondrial regeneration in liver cells. *The Journal of Biophysical and Biochemical Cytology*, 2(4 Suppl), 355–60.
- Biermann, J., Just, W. W., Wanders, R. J. A., & Van Den Bosch, H. (1999). Alkyl-dihydroxyacetone phosphate synthase and dihydroxyacetone phosphate acyltransferase form a protein

- complex in peroxisomes. *European Journal of Biochemistry*, 261(2), 492–499.  
<https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1999.00295.x>
- Binas, B., Danneberg, H., McWhir, J., Mullins, L., & Clark, a J. (1999). Requirement for the heart-type fatty acid binding protein in cardiac fatty acid utilization. *Faseb J*, 13(8), 805–812.  
Retrieved from [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=10224224%5Cnhttp://www.fasebj.org/content/13/8/805.full.pdf](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10224224%5Cnhttp://www.fasebj.org/content/13/8/805.full.pdf)
- Braissant, O., Foufelle, F., Scotto, C., Dauça, M., & Wahli, W. (1996). Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): tissue distribution of PPAR-alpha, -beta, and -gamma in the adult rat. *Endocrinology*, 137(1), 354–66.  
<https://doi.org/10.1210/endo.137.1.8536636>
- Braverman, N. E., & Moser, A. B. (2012). Functions of plasmalogen lipids in health and disease. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*. Elsevier B.V.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2012.05.008>
- Breidenbach, R. W., Kahn, A., & Beevers, H. (1968). Characterization of glyoxysomes from castor bean endosperm. *Plant Physiology*, 43(5), 705–13. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16656830>
- Brites, P., Waterham, H. R., & Wanders, R. J. A. (2004). Functions and biosynthesis of plasmalogens in health and disease. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1636(2–3), 219–231. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2003.12.010>
- Burke, L., & Hajra, A. K. (1979). Subcellular Phosphate Localization Acyltransferase of Acyl Coenzyme A: Dihydroxyacetone in Rat Liver Peroxisomes ( Microbodies )\*. *The Journal of Biological Chemistry*, 254(21), 10896–10900. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/500614>
- Croes, K., Casteels, M., De Hoffmann, E., Mannaerts, G. P., & Van Veldhoven, P. P. (1996). alpha-Oxidation of 3-methyl-substituted fatty acids in rat liver. Production of formic acid instead of CO<sub>2</sub>, cofactor requirements, subcellular localization and formation of a 2-hydroxy-3-methylacyl-CoA intermediate. *European Journal of Biochemistry / FEBS*, 240(3), 674–83.  
<https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1996.0674h.x>
- De Duve, C., & Baudhuin, P. (1966). Peroxisomes (microbodies and related particles). *Physiological Reviews*, 46(2), 323–357.
- de Vet, E. C., Ijlst, L., Oostheim, W., Dekker, C., Moser, H. W., van Den Bosch, H., & Wanders, R. J.

- (1999). Ether lipid biosynthesis: alkyl-dihydroxyacetonephosphate synthase protein deficiency leads to reduced dihydroxyacetonephosphate acyltransferase activities. *Journal of Lipid Research*, *40*, 1998–2003.
- Delille, H. K., Agricola, B., Guimaraes, S. C., Borta, H., Lüers, G. H., Fransen, M., & Schrader, M. (2010). Pex11beta-mediated growth and division of mammalian peroxisomes follows a maturation pathway. *Journal of Cell Science*, *123*(Pt 16), 275027–62. <https://doi.org/10.1242/jcs.062109>
- Denton, R. M., & Randle, P. J. (1967). Concentrations of glycerides and phospholipids in rat heart and gastrocnemius muscles. Effects of alloxan-diabetes and perfusion. *The Biochemical Journal*, *104*(2), 416–22. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1270602&tool=pmcentrez&endertype=abstract>
- Dixit, E., Boulant, S., Zhang, Y., Lee, A. S. Y., Odendall, C., Shum, B., ... Kagan, J. C. (2010). Peroxisomes Are Signaling Platforms for Antiviral Innate Immunity. *Cell*, *141*(4), 668–681. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.04.018>
- Duncan, J. G., Fong, J. L., Medeiros, D. M., Finck, B. N., & Kelly, D. P. (2007). Insulin-resistant heart exhibits a mitochondrial biogenic response driven by the peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$ /PGC-1 $\alpha$  gene regulatory pathway. *Circulation*, *115*(7), 909–917. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.662296>
- Ehrenborg, E. W. a, & Krook, A. (2009). Regulation of Skeletal Muscle Physiology and Metabolism by Peroxisome Proliferator-Activated Receptor. *Pharmacological Reviews*, *61*(3), 373–393. <https://doi.org/10.1124/pr.109.001560.373>
- Elsner, M., Gehrman, W., & Lenzen, S. (2011). Peroxisome-generated hydrogen peroxide as important mediator of lipotoxicity in insulin-producing cells. *Diabetes*, *60*(1), 200–208. <https://doi.org/10.2337/db09-1401>
- Fang, Y., Morrell, J. C., Jones, J. M., & Gould, S. J. (2004). PEX3 functions as a PEX19 docking factor in the import of class I peroxisomal membrane proteins. *Journal of Cell Biology*, *164*(6), 863–875. <https://doi.org/10.1083/jcb.200311131>
- Farooqui, A. A., Rapoport, S. I., & Horrocks, L. A. (1997). Membrane phospholipid alterations in Alzheimer's disease: Deficiency of ethanolamine plasmalogens. *Neurochemical Research*, *22*(4), 523–527. <https://doi.org/10.1023/a:1027380331807>
- Farrell, S. O., Fiol, C. J., Reddy, J. K., & Bieber, L. L. (1984). Properties of purified carnitine

- acyltransferases of mouse liver peroxisomes. *Journal of Biological Chemistry*, 259(21), 13089–13095.
- Ferdinandusse, S., Denis, S., Van Roermund, C. W. T., Wanders, R. J. A., & Dacremont, G. (2004). Identification of the peroxisomal beta-oxidation enzymes involved in the degradation of long-chain dicarboxylic acids. *Journal of Lipid Research*, 45(6), 1104–11. <https://doi.org/10.1194/jlr.M300512-JLR200>
- Finck, B. N., Lehman, J. J., Leone, T. C., Welch, M. J., Bennett, M. J., Kovacs, A., ... Kelly, D. P. (2002). The cardiac phenotype induced by PPAR $\alpha$  overexpression mimics that caused by diabetes mellitus. *Journal of Clinical Investigation*, 109(1), 121–130. <https://doi.org/10.1172/JCI200214080>
- Fransen, M., Nordgren, M., Wang, B., & Apanasets, O. (2012). Role of peroxisomes in ROS/RNS-metabolism: implications for human disease. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1822(9), 1363–73. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2011.12.001>
- Fröhlich, C., Grabiger, S., Schwefel, D., Faelber, K., Rosenbaum, E., Mears, J., ... Daumke, O. (2013). Structural insights into oligomerization and mitochondrial remodelling of dynamin 1-like protein. *The EMBO Journal*, 32(9), 1280–92. <https://doi.org/10.1038/emboj.2013.74>
- Geuze, H. J., Murk, J. L., Stroobants, A. K., Griffith, J. M., Kleijmeer, M. J., Koster, A. J., ... Tabak, H. F. (2003). Involvement of the endoplasmic reticulum in peroxisome formation. *Molecular Biology of the Cell*, 14(7), 2900–7. <https://doi.org/10.1091/mbc.E02-11-0734>
- Gimeno, R. E., Ortegon, A. M., Patel, S., Punreddy, S., Ge, P., Sun, Y., ... Stahl, A. (2003). Characterization of a heart-specific fatty acid transport protein. *Journal of Biological Chemistry*, 278(18), 16039–16044. <https://doi.org/10.1074/jbc.M211412200>
- Goldfischer, S., Moore, C. L., Johnson, a B., Spiro, a J., Valsamis, M. P., Wisniewski, H. K., ... Gartner, L. M. (1973). Peroxisomal and mitochondrial defects in the cerebro-hepato-renal syndrome. *Science (New York, N.Y.)*, 182(107), 62–64. <https://doi.org/10.1126/science.182.4107.62>
- Grings, M., Tonin, A. M., Knebel, L. A., Zanatta, A., Moura, A. P., Filho, C. S. D., ... Leipnitz, G. (2012). Phytanic acid disturbs mitochondrial homeostasis in heart of young rats: a possible pathomechanism of cardiomyopathy in Refsum disease. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 366(1–2), 335–43. <https://doi.org/10.1007/s11010-012-1311-1>
- Guarnieri, T., & Lakatta, E. G. (1990). Mechanism of myocardial contractile depression by clinical concentrations of ethanol. A study in ferret papillary muscles. *The Journal of Clinical*



*Investigation*, 85(5), 1462–7. <https://doi.org/10.1172/JCI114592>

- Hasegawa, K., Wakino, S., Yoshioka, K., Tatematsu, S., Hara, Y., Minakuchi, H., ... Itoh, H. (2010). Kidney-specific overexpression of Sirt1 protects against acute kidney injury by retaining peroxisome function. *Journal of Biological Chemistry*, 285(17), 13045–13056. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.067728>
- Herzog, V., & Fahimi, H. D. (1974). Microbodies (peroxisomes) containing catalase in myocardium: morphological and biochemical evidence. *Science (New York, N.Y.)*, 185(4147), 271–3. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4833829>
- Hiltunen, J. K., Karki, T., Hassinen, I. E., & Osmundsen, H. (1986). B-oxidation of Polyunsaturated Fatty Acids by Rat Liver Peroxisomes. *The Journal of Biological Chemistry*, 261(35), 16484–16493. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2877988>  
[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=2877988](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2877988)
- Huang, B., Wu, P., Bowker-Kinley, M. M., & Harris, R. a. (2002). Regulation of pyruvate dehydrogenase kinase expression by peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  ligands, glucocorticoids, and insulin. *Diabetes*, 51(2), 276–283.
- Chen, Q., Vazquez, E. J., Moghaddas, S., Hoppel, C. L., & Lesnefsky, E. J. (2003). Production of reactive oxygen species by mitochondria: Central role of complex III. *Journal of Biological Chemistry*, 278(38), 36027–36031. <https://doi.org/10.1074/jbc.M304854200>
- Cheng, L., Ding, G., Qin, Q., Xiao, Y., Woods, D., Chen, Y. E., & Yang, Q. (2004). Peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  activates fatty acid oxidation in cultured neonatal and adult cardiomyocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 313(2), 277–286. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2003.11.127>
- Ichikawa, M., Nishino, T., & Ichikawa, a. (1992). Subcellular localization of xanthine oxidase in rat hepatocytes: high-resolution immunoelectron microscopic study combined with biochemical analysis. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry: Official Journal of the Histochemistry Society*, 40(8), 1097–103. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1619276>
- Ikeda, Y., Okamura-Ikeda, K., & Tanaka, K. (1985). Purification and characterization of short-chain, medium-chain, and long-chain acyl-CoA dehydrogenases from rat liver mitochondria. Isolation of the holo- and apoenzymes and conversion of the apoenzyme to the holoenzyme. *Journal of Biological Chemistry*, 260(2), 1311–1325. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1979.tb13051.x>

- Itoyama, A., Honsho, M., Abe, Y., Moser, A., Yoshida, Y., & Fujiki, Y. (2012). Docosahexaenoic acid mediates peroxisomal elongation, a prerequisite for peroxisome division. *Journal of Cell Science*, 125(Pt 3), 589–602. <https://doi.org/10.1242/jcs.087452>
- Itoyama, A., Michiyuki, S., Honsho, M., Yamamoto, T., Moser, A., Yoshida, Y., & Fujiki, Y. (2013). Mff functions with Pex11p $\beta$  and DLP1 in peroxisomal fission. *Biology Open*, 2(10), 998–1006. <https://doi.org/10.1242/bio.20135298>
- Jakobs, B. S., & Wanders, R. J. (1995). Fatty acid beta-oxidation in peroxisomes and mitochondria: the first, unequivocal evidence for the involvement of carnitine in shuttling propionyl-CoA from peroxisomes to mitochondria. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1995.2232>
- James, P. F., Lake, A. C., Hajra, A. K., Larkins, L. K., Robinson, M., Buchanan, F. G., & Zoeller, R. A. (1997). An animal cell mutant with a deficiency in acyl/alkyl-dihydroxyacetone- phosphate reductase activity. Effects on the biosynthesis of ether-linked and diacyl glycerolipids. *Journal of Biological Chemistry*, 272(38), 23540–23546. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.38.23540>
- Jansen, G. A. a, van den Brink, D. M. M., Ofman, R., Draghici, O., Dacremont, G., & Wanders, R. J. A. J. (2001). Identification of Pristanal Dehydrogenase Activity in Peroxisomes: Conclusive Evidence That the Complete Phytanic Acid  $\alpha$ -Oxidation Pathway Is Localized in Peroxisomes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 283(3), 674–679. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2001.4835>
- Jiang, L., Hara-Kuge, S., Yamashita, S. I., & Fujiki, Y. (2015). Peroxin Pex14p is the key component for coordinated autophagic degradation of mammalian peroxisomes by direct binding to LC3-II. *Genes to Cells*, 20(1), 36–49. <https://doi.org/10.1111/gtc.12198>
- Kase, F., Björkhem, I., & Pedersen, J. I. (1983). Formation of cholic acid from 3 alpha, 7 alpha, 12 alpha-trihydroxy-5 beta-cholestanoic acid by rat liver peroxisomes. *Journal of Lipid Research*, 24(12), 1560–7. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6668450>
- Keilin, D., Hartree, E. F. (1954). Catalase , Peroxidase and Metmyoglobin as Catalysts. *Biochem J*, 60(1903), 310–325.
- Kim, P. K., Hailey, D. W., Mullen, R. T., & Lippincott-Schwartz, J. (2008). Ubiquitin signals autophagic degradation of cytosolic proteins and peroxisomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(52), 20567–74. <https://doi.org/10.1073/pnas.0810611105>

- Kim, P. K., Mullen, R. T., Schumann, U., & Lippincott-Schwartz, J. (2006). The origin and maintenance of mammalian peroxisomes involves a de novo PEX16-dependent pathway from the ER. *Journal of Cell Biology*, 173(4), 521–532. <https://doi.org/10.1083/jcb.200601036>
- Kliwer, S. A., Lenhard, J. M., Willson, T. M., Patel, I., Morris, D. C., & Lehmann, J. M. (1995). A prostaglandin J2 metabolite binds peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  and promotes adipocyte differentiation. *Cell*, 83(5), 813–819. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(95\)90194-9](https://doi.org/10.1016/0092-8674(95)90194-9)
- Kliwer, S. A., Umesono, K., Noonan, D. J., Heyman, R. A., & Evans, R. M. (1992). Convergence of 9-cis retinoic acid and peroxisome proliferator signalling pathways through heterodimer formation of their receptors. *Nature*, 358(6389), 771–4. <https://doi.org/10.1038/358771a0>
- Kobayashi, S., Tanaka, A., & Fujiki, Y. (2007). Fis1, DLP1, and Pex11p coordinately regulate peroxisome morphogenesis. *Experimental Cell Research*, 313(8), 1675–1686. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2007.02.028>
- Koh, J. T., Choi, H. H., Ahn, K. Y., Kim, J. U., Kim, J. H., Chun, J. Y., ... Kim, K. K. (2001). Cardiac Characteristics of Transgenic Mice Overexpressing Refsum Disease Gene-Associated Protein within the Heart. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 286(5), 1107–16. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2001.5510>
- Koch, A., Thiemann, M., Grabenbauer, M., Yoon, Y., McNiven, M. A., & Schrader, M. (2003). Dynamin-like protein 1 is involved in peroxisomal fission. *Journal of Biological Chemistry*, 278(10), 8597–8605. <https://doi.org/10.1074/jbc.M211761200>
- Koch, A., Yoon, Y., Bonekamp, N. A., McNiven, M. A., & Schrader, M. (2005). A role for Fis1 in both mitochondrial and peroxisomal fission in mammalian cells. *Molecular Biology of the Cell*, 16(11), 5077–86. <https://doi.org/10.1091/mbc.E05-02-0159>
- Koch, J., Pranjic, K., Huber, A., Ellinger, A., Hartig, A., Kragler, F., & Brocard, C. (2010). PEX11 family members are membrane elongation factors that coordinate peroxisome proliferation and maintenance. *Journal of Cell Science*, 123(Pt 19), 3389–3400. <https://doi.org/10.1242/jcs.064907>
- Kraegen, E. W., Sowden, J. a, Halstead, M. B., Clark, P. W., Rodnick, K. J., Chisholm, D. J., & James, D. E. (1993). Glucose transporters and in vivo glucose uptake in skeletal and cardiac muscle: fasting, insulin stimulation and immunoisolation studies of GLUT1 and GLUT4. *The Biochemical Journal*, 295 ( Pt 1(1993), 287–293.

- Krey, G., Braissant, O., L'Horset, F., Kalkhoven, E., Perroud, M., Parker, M. G., & Wahli, W. (1997). Fatty acids, eicosanoids, and hypolipidemic agents identified as ligands of peroxisome proliferator-activated receptors by coactivator-dependent receptor ligand assay. *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)*, *11*(6), 779–91. <https://doi.org/10.1210/mend.11.6.0007>
- Kudo, N., Barr, A. J., Barr, R. L., Desai, S., & Lopaschuk, G. D. (1995). High rates of fatty acid oxidation during reperfusion of ischemic hearts are associated with a decrease in malonyl-CoA levels due to an increase in 5'-AMP-activated protein kinase inhibition of acetyl-CoA carboxylase. *Journal of Biological Chemistry*. <https://doi.org/10.1074/jbc.270.29.17513>
- Kvannes, J., Eikhom, T. S., & Flatmark, T. (1994). The peroxisomal  $\alpha$ -oxidation enzyme system of rat heart. Basal level and effect of the peroxisome proliferator clofibrate. *BBA - General Subjects*, *1201*(2), 203–216. [https://doi.org/10.1016/0304-4165\(94\)90042-6](https://doi.org/10.1016/0304-4165(94)90042-6)
- Lamb, H. J. H. J., Smit, J. W. J. W., van der Meer, R. W. R. W., Hammer, S. S., Doornbos, J. J., de Roos, A. A., & Romijn, J. A. J. A. (2008). Metabolic MRI of myocardial and hepatic triglyceride content in response to nutritional interventions. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, *11*(5), 573–579. <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e32830a98e3>
- Lazarow, P. B. (1978). Rat liver peroxisomes catalyze the beta-oxidation of fatty acids. *Journal of Biological Chemistry*, *253*(5), 1522–1528.
- Li, X., & Gould, S. J. (2003). The dynamin-like GTPase DLP1 is essential for peroxisome division and is recruited to peroxisomes in part by PEX11. *Journal of Biological Chemistry*, *278*(19), 17012–17020. <https://doi.org/10.1074/jbc.M212031200>
- Liepinsh, E., Skapare, E., Kuka, J., Makrecka, M., Cirule, H., Vavers, E., ... Dambrova, M. (2013). Activated peroxisomal fatty acid metabolism improves cardiac recovery in ischemia-reperfusion. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, *386*(6), 541–550. <https://doi.org/10.1007/s00210-013-0849-0>
- Lopaschuk, G. D., Ussher, J. R., Folmes, C. D. L., Jaswal, J. S., & Stanley, W. C. (2010). Myocardial fatty acid metabolism in health and disease. *Physiological Reviews*, *90*(1), 207–258. <https://doi.org/10.1152/physrev.00015.2009>
- Loughran, P. A., Stolz, D. B., Vodovotz, Y., Watkins, S. C., Simmons, R. L., & Billiar, T. R. (2005). Monomeric inducible nitric oxide synthase localizes to peroxisomes in hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *102*(39), 13837–13842. <https://doi.org/10.1073/pnas.0503926102>
- MacDonald, J. I. S., & Sprecher, H. (1989). Distribution of arachidonic acid in choline- and ethanolamine-containing phosphoglycerides in subfractionated human neutrophils. *Journal*

*of Biological Chemistry*, 264(30), 17718–17726.

- Macdonald, P. J., Stepanyants, N., Mehrotra, N., Mears, J. A., Qi, X., Sesaki, H., & Ramachandran, R. (2014). A dimeric equilibrium intermediate nucleates Drp1 reassembly on mitochondrial membranes for fission. *Molecular Biology of the Cell*, 25, 1905–1915. <https://doi.org/10.1091/mbc.E14-02-0728>
- Matsuzaki, T., & Fujiki, Y. (2008). The peroxisomal membrane protein import receptor Pex3p is directly transported to peroxisomes by a novel Pex19p- and Pex16p-dependent pathway. *Journal of Cell Biology*, 183(7), 1275–1286. <https://doi.org/10.1083/jcb.200806062>
- Michiels, C., Raes, M., Toussaint, O., & Remacle, J. (1994). Importance of se-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, 17(3), 235–248. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(94\)90079-5](https://doi.org/10.1016/0891-5849(94)90079-5)
- Moser, A. B., Steinberg, S. J., Watkins, P. A., Moser, H. W., Ramaswamy, K., Siegmund, K. D., ... Hacia, J. G. (2011). Human and great ape red blood cells differ in plasmalogen levels and composition. *Lipids in Health and Disease*, 10(1), 101. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-10-101>
- Murthy, M. S., & Pande, S. V. (1984). Mechanism of carnitine acylcarnitine translocase-catalyzed import of acylcarnitines into mitochondria. *The Journal of Biological Chemistry*, 259(14), 9082–9. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6430896>
- Murthy, M. S., & Pande, S. V. (1987). Malonyl-CoA binding site and the overt carnitine palmitoyltransferase activity reside on the opposite sides of the outer mitochondrial membrane. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 84(2), 378–82. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=304210&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Nishino, T., Okamoto, K., Eger, B. T., Pai, E. F., & Nishino, T. (2008). Mammalian xanthine oxidoreductase - Mechanism of transition from xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase. *FEBS Journal*, 275(13), 3278–3289. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2008.06489.x>
- Opaliński, Ł., Veenhuis, M., & Van Der Klei, I. J. (2011). Peroxisomes: Membrane events accompanying peroxisome proliferation. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 43(6), 847–851. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2011.03.006>
- Opperdoes, F. R., & Borst, P. (1977). Localization of nine glycolytic enzymes in a microbody-like

- organelle in *Trypanosoma brucei*: The glycosome. *FEBS Letters*, *80*(2), 360–364. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(77\)80476-6](https://doi.org/10.1016/0014-5793(77)80476-6)
- Otera, H., Wang, C., Cleland, M. M., Setoguchi, K., Yokota, S., Youle, R. J., & Mihara, K. (2010). Mff is an essential factor for mitochondrial recruitment of Drp1 during mitochondrial fission in mammalian cells. *Journal of Cell Biology*, *191*(6), 1141–1158. <https://doi.org/10.1083/jcb.201007152>
- Park, S. Y., Cho, Y. R., Finck, B. N., Kim, H. J., Higashimori, T., Hong, E. G., ... Kim, J. K. (2005). Cardiac-Specific Overexpression of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\alpha$  Causes Insulin Resistance in Heart and Liver. *Diabetes*, *54*(9), 2514–2524. <https://doi.org/54/9/2514> [pii]
- Peeters, A., Shinde, A. B., Dirkx, R., Smet, J., De Bock, K., Espeel, M., ... Baes, M. (2015). Mitochondria in peroxisome-deficient hepatocytes exhibit impaired respiration, depleted DNA, and PGC-1 $\alpha$  independent proliferation. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, *1853*(2), 285–298. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2014.11.017>
- Pesant, M., Sueur, S., Dutartre, P., Tallandier, M., Grimaldi, P. A., Rochette, L., & Connat, J. L. (2006). Peroxisome proliferator-activated receptor  $\delta$  (PPAR $\delta$ ) activation protects H9c2 cardiomyoblasts from oxidative stress-induced apoptosis. *Cardiovascular Research*, *69*(2), 440–449. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2005.10.019>
- Poll-The, B. T., Roels, F., Ogier, H., Scotto, J., Vamecq, J., Schutgens, R. B., ... Schram, A. W. (1988). A new peroxisomal disorder with enlarged peroxisomes and a specific deficiency of acyl-CoA oxidase (pseudo-neonatal adrenoleukodystrophy). *American Journal of Human Genetics*, *42*(3), 422–34. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1715143&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Quon, M. J., Butte, A. J., Zarnowski, M. J., Sesti, G., Cushman, S. W., & Taylor, S. I. (1994). Insulin-Receptor Substrate-1 Mediates the Stimulatory Effect of Insulin on Glut4 Translocation in Transfected Rat Adipose-Cells. *Journal of Biological Chemistry*, *269*(45), 27920–27924.
- Reddy, J. K., Goel, S. K., Nemali, M. R., Carrino, J. J., Laffler, T. G., Reddy, M. K., ... Lalwani, N. D. (1986). Transcription regulation of peroxisomal fatty acyl-CoA oxidase and enoyl-CoA hydratase/3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase in rat liver by peroxisome proliferators. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *83*(6), 1747–51. <https://doi.org/10.1073/pnas.83.6.1747>
- Reddy, J. K., & Krishnakantha, T. P. (1975). Hepatic peroxisome proliferation: induction by two

- novel compounds structurally unrelated to clofibrate. *Science (New York, N.Y.)*, 190(4216), 787–9. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1198095>
- Reiss, D., Beyer, K., & Engelmann, B. (1997). Delayed oxidative degradation of polyunsaturated diacyl phospholipids in the presence of plasmalogen phospholipids in vitro. *The Biochemical Journal*, 323 ( Pt 3, 807–814.
- Reszko, A. E., Kasumov, T., David, F., Jobbins, K. A., Thomas, K. R., Hoppel, C. L., ... Des Rosiers, C. (2004). Peroxisomal Fatty Acid Oxidation Is a Substantial Source of the Acetyl Moiety of Malonyl-CoA in Rat Heart. *Journal of Biological Chemistry*, 279(19), 19574–19579. <https://doi.org/10.1074/jbc.M400162200>
- Richmond, T. A., & Bleecker, A. B. (1999). A defect in beta-oxidation causes abnormal inflorescence development in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 11(10), 1911–24. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10521521>
- Rottensteiner, H., Kramer, A., Lorenzen, S., Stein, K., Landgraf, C., Volkmer-Engert, R., & Erdmann, R. (2004). Peroxisomal membrane proteins contain common Pex19p-binding sites that are an integral part of their targeting signals. *Molecular Biology of the Cell*, 15(7), 3406–17. <https://doi.org/10.1091/mbc.E04-03-0188>
- Russell, R. R., Bergeron, R., Shulman, G. I., & Young, L. H. (1999). Translocation of myocardial GLUT-4 and increased glucose uptake through activation of AMPK by AICAR. *The American Journal of Physiology*, 277(2 Pt 2), H643–H649.
- Saggerson, E. D., & Carpenter, C. A. (1981). Carnitine palmitoyltransferase and carnitine octanoyltransferase activities in liver, kidney cortex, adipocyte, lactating mammary gland, skeletal muscle and heart. *FEBS Letters*, 129(2), 229–32. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(81\)80171-8](https://doi.org/10.1016/0014-5793(81)80171-8)
- Seedorf, U., Brysch, P., Engel, T., Schrage, K., & Assmann, G. (1994). Sterol carrier protein X is peroxisomal 3-oxoacyl coenzyme A thiolase with intrinsic sterol carrier and lipid transfer activity. *Journal of Biological Chemistry*, 269(33), 21277–21283.
- Seedorf, U., Raabe, M., Ellinghaus, P., Kannenberg, F., Fobker, M., Engel, T., ... Assmann, G. (1998). Defective peroxisomal catabolism of branched fatty acyl coenzyme A in mice lacking the sterol carrier gene function. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 12, 1189–1201. <https://doi.org/10.1101/gad.12.8.1189>
- Schmitz, W., & Conzelmann, E. (1997). Stereochemistry of peroxisomal and mitochondrial beta-oxidation of alpha-methylacyl-CoAs. *European Journal of Biochemistry / FEBS*, 244(2), 434–

440. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1997.00434.x>

- Schrader, M., Bonekamp, N. A., & Islinger, M. (2012). Fission and proliferation of peroxisomes. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2011.12.014>
- Schrader, M., & Fahimi, H. D. (2004). Mammalian peroxisomes and reactive oxygen species. *Histochemistry and Cell Biology*. <https://doi.org/10.1007/s00418-004-0673-1>
- Schrader, M., Reuber, B. E., Morrell, J. C., Jimenez-Sanchez, G., Obie, C., Stroh, T. A., ... Gould, S. J. (1998). Expression of PEX11?? mediates peroxisome proliferation in the absence of extracellular stimuli. *Journal of Biological Chemistry*, 273(45), 29607–29614. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.45.29607>
- Schram, A. W., Goldfischer, S., van Roermund, C. W., Brouwer-Kelder, E. M., Collins, J., Hashimoto, T., ... Tager, J. M. (1987). Human peroxisomal 3-oxoacyl-coenzyme A thiolase deficiency. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 84(8), 2494–2496. <https://doi.org/10.1073/pnas.84.8.2494>
- Singh, I., Moser, A. E., Goldfischer, S., & Moser, H. W. (1984). Lignoceric acid is oxidized in the peroxisome: implications for the Zellweger cerebro-hepato-renal syndrome and adrenoleukodystrophy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 81(13), 4203–7. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6588384>
- Smirnova, E., Griparic, L., Shurland, D.-L., & Blik, A. M. van der. (2001). Dynamin-related Protein Drp1 Is Required for Mitochondrial Division in Mammalian Cells. *Molecular Biology of the Cell*, 12(8), 2245–2256. <https://doi.org/10.1091/mbc.12.8.2245>
- Smith, J. J., & Aitchison, J. D. (2013). Peroxisomes take shape. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 14(12), 803–17. <https://doi.org/10.1038/nrm3700>
- Stanley, W. C., Recchia, F. a, & Lopaschuk, G. D. (2005). Myocardial substrate metabolism in the normal and failing heart. *Physiological Reviews*, 85(3), 1093–1129. <https://doi.org/10.1152/physrev.00006.2004>
- Steinberg, S. J., Wang, S. J., Kim, D. G., Mihalik, S. J., & Watkins, P. A. (1999). Human Very-Long-Chain Acyl-CoA Synthetase: Cloning, Topography, and Relevance to Branched-Chain Fatty Acid Metabolism. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 257(2), 615–621. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1999.0510>
- Sun, D., Nguyen, N., DeGrado, T. R., Schwaiger, M., & Brosius, F. C. (1994). Ischemia induces



- translocation of the insulin-responsive glucose transporter GLUT4 to the plasma membrane of cardiac myocytes. *Circulation*, 89(2), 793–8. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.89.2.793>
- Svoboda, D. J., & Azarnoff, D. L. (1966). Response of hepatic microbodies to a hypolipidemic agent, ethyl chlorophenoxyisobutyrate (CPIB). *The Journal of Cell Biology*, 30(2), 442–50. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2107000/pdf/442.pdf>
- Titorenko, V. I., Chan, H., & Rachubinski, R. A. (2000). Fusion of small peroxisomal vesicles in vitro reconstructs an early step in the in vivo multistep peroxisome assembly pathway of *Yarrowia lipolytica*. *Journal of Cell Biology*, 148(1), 29–43. <https://doi.org/10.1083/jcb.148.1.29>
- Toro, A. A., Araya, C. A., Córdova, G. J., Arredondo, C. A., Cárdenas, H. G., Moreno, R. E., ... Santos, M. J. (2009). Pex3p-dependent peroxisomal biogenesis initiates in the endoplasmic reticulum of human fibroblasts. *Journal of Cellular Biochemistry*, 107(6), 1083–1096. <https://doi.org/10.1002/jcb.22210>
- Trombetta, A., Maggiora, M., Martinasso, G., Cotogni, P., Canuto, R. A., & Muzio, G. (2007). Arachidonic and docosahexaenoic acids reduce the growth of A549 human lung-tumor cells increasing lipid peroxidation and PPARs. *Chemico-Biological Interactions*, 165(3), 239–50. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2006.12.014>
- Tyagi, S., Gupta, P., Saini, A. S., Kaushal, C., & Sharma, S. (2011). The peroxisome proliferator-activated receptor: A family of nuclear receptors role in various diseases. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 2(4), 236–40. <https://doi.org/10.4103/2231-4040.90879>
- Usuda, N., Yokota, S., Hashimoto, T., & Nagata, T. (1986). Immunocytochemical localization of D-amino acid oxidase in the central clear matrix of rat kidney peroxisomes. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry: Official Journal of the Histochemistry Society*, 34(12), 1709–1718. <https://doi.org/10.1177/34.12.2878022>
- Van Der Zand, A., Gent, J., Braakman, I., & Tabak, H. F. (2012). Biochemically distinct vesicles from the endoplasmic reticulum fuse to form peroxisomes. *Cell*, 149(2), 397–409. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.01.054>
- Van Niftrik, L., Geerts, W. J. C., Van Donselaar, E. G., Humbel, B. M., Webb, R. I., Fuerst, J. A., ... Strous, M. (2008). Linking ultrastructure and function in four genera of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria: Cell plan, glycogen storage, and localization of cytochrome c proteins. *Journal of Bacteriology*, 190(2), 708–717. <https://doi.org/10.1128/JB.01449-07>

- Van Niftrik, L., Van Helden, M., Kirchen, S., Van Donselaar, E. G., Harhangi, H. R., Webb, R. I., ... Strous, M. (2010). Intracellular localization of membrane-bound ATPases in the compartmentalized anammox bacterium "Candidatus Kuenenia stuttgartiensis." *Molecular Microbiology*, 77(3), 701–715. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2010.07242.x>
- van Roermund, C. W. T., Visser, W. F., IJlst, L., van Cruchten, A., Boek, M., Kulik, W., ... Wanders, R. J. A. (2008). The human peroxisomal ABC half transporter ALDP functions as a homodimer and accepts acyl-CoA esters. *The FASEB Journal*, 22(12), 4201–4208. <https://doi.org/10.1096/fj.08-110866>
- Vanhove, G. F., Van Veldhoven, P. P., Fransen, M., Denis, S., Eyssen, H. J., Wanders, R. J. A., & Mannaerts, G. P. (1993). The CoA esters of 2-methyl-branched chain fatty acids and of the bile acid intermediates Di- and trihydroxycoprostanic acids are oxidized by one single peroxisomal branched chain Acyl-CoA oxidase in human liver and kidney. *Journal of Biological Chemistry*, 268(14), 10335–10344.
- Verhoeven, N. M., Roe, D. S., Kok, R. M., Wanders, R. J., Jakobs, C., & Roe, C. R. (1998). Phytanic acid and pristanic acid are oxidized by sequential peroxisomal and mitochondrial reactions in cultured fibroblasts. *Journal of Lipid Research*, 39(1), 66–74. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9469587>
- Wanders, R. J. A. (2004). Peroxisomes, lipid metabolism, and peroxisomal disorders. *Molecular Genetics and Metabolism*. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2004.08.016>
- Wang, Y., & Marsden, P. A. (1995). Nitric oxide synthases: biochemical and molecular regulation. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 4(1), 12–22. <https://doi.org/10.1097/00041552-199501000-00003>
- Watkins, P. A., Howard, A. E., Gould, S. J., Avigan, J., & Mihalik, S. J. (1996). Phytanic acid activation in rat liver peroxisomes is catalyzed by long-chain acyl-CoA synthetase. *J Lipid Res*, 37(11), 2288–2295. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8978480>
- Winder, W. W., Wilson, H. A., Hardie, D. G., Rasmussen, B. B., Hutber, C. A., Call, G. B., ... Zhou, B. (1997). Phosphorylation of rat muscle acetyl-CoA carboxylase by AMP-activated protein kinase and protein kinase A. *Journal of Applied Physiology*, 82(1), 219–25. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9029219>
- Wisneski, J. A., Gertz, E. W., Neese, R. A., Gruenke, L. D., Morris, D. L., & Craig, J. C. (1985). Metabolic fate of extracted glucose in normal human myocardium. *Journal of Clinical Investigation*, 76(5), 1819–1827. <https://doi.org/10.1172/JCI112174>

- Wisneski, J. A., Gertz, E. W., Neese, R. A., & Mayr, M. (1987). Myocardial metabolism of free fatty acids. Studies with <sup>14</sup>C-labeled substrates in humans. *Journal of Clinical Investigation*, *79*(2), 359–366. <https://doi.org/10.1172/JCI112820>
- Yoon, Y., Krueger, E. W., Oswald, B. J., Mcniven, A., & Mcniven, M. a. (2003). 01 The Mitochondrial Protein hFis1 Regulates Mitochondrial Fission in Mammalian Cells through an Interaction with the Dynamin-Like Protein DLP1 The Mitochondrial Protein hFis1 Regulates Mitochondrial Fission in Mammalian Cells through an Interaction with . *Molecular and Cellular Biology*, *23*(15), 5409–5420. <https://doi.org/10.1128/MCB.23.15.5409>
- Yoshida, Y., Niwa, H., Honsho, M., Itoyama, A., & Fujiki, Y. (2015). Pex11 mediates peroxisomal proliferation by promoting deformation of the lipid membrane. *Biology Open*, *4*(6), 710–721. <https://doi.org/10.1242/bio.201410801>
- Yuan, W., Veenhuis, M., & van der Klei, I. J. (2016). The birth of yeast peroxisomes. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, *1863*(5), 902–910. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2015.09.008>
- Zhang, X., Klein, A. L., Alberle, N. S., Norby, F. L., Ren, B. H., Duan, J., & Ren, J. (2003). Cardiac-specific overexpression of catalase rescues ventricular myocytes from ethanol-induced cardiac contractile defect. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, *35*(6), 645–652. [https://doi.org/10.1016/S0022-2828\(03\)00080-4](https://doi.org/10.1016/S0022-2828(03)00080-4)
- Zmijewski, J. W., Lorne, E., Zhao, X., Tsuruta, Y., Sha, Y., Liu, G., & Abraham, E. (2009). Antiinflammatory effects of hydrogen peroxide in neutrophil activation and acute lung injury. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *179*(8), 694–704. <https://doi.org/10.1164/rccm.200806-8510C>
- Zoeller, R. A., Lake, A. C., Nagan, N., Gaposchkin, D. P., Legner, M. A., & Lieberthal, W. (1999). Plasmalogens as endogenous antioxidants: somatic cell mutants reveal the importance of the vinyl ether. *The Biochemical Journal*, *338* ( Pt 3, 769–76. <https://doi.org/10.1042/bj3380769>