

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Katedra fyziologie

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Jiří Funda

**Fyziologický význam prázdného metabolického cyklu mezi lipolýzou a reesterifikací
mastných kyselin v bílé tukové tkáni**

**Physiological relevance of futile cycling based on lipolysis and fatty acid re-esterification in
white adipose tissue**

Bakalářská práce

Vedoucí závěrečné práce

RNDr. Pavel Flachs, Ph.D.

Praha, 2015

Prohlášení:

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

V Příbrami, 9. 5. 2015

.....

Jiří Funda

Poděkování

Tímto bych chtěl poděkovat svému školiteli panu RNDr. Pavlu Flachsovi Ph.D., který si i přes svoji pracovní vytíženost našel čas pomoci mi při tvorbě této práce. Bez jeho cenných rad a připomínek by práce nevznikla v podobě, v jaké ji předkládám. Rád bych také poděkoval mé rodině a blízkým, kteří mi byli oporou a přinášeli podnětné připomínky.

Abstrakt ČJ

Práce se věnuje otázce prázdného metabolického cyklování, konkrétně cyklu, který zahrnuje lipolýzu a reesterifikaci mastných kyselin a probíhá v bílé tukové tkáni. Tento cyklus zastává v organismu řadu podstatných funkcí, reguluje důležité dráhy metabolismu lipidů a má určitý vliv i na celkový energetický metabolismus organismu.

První část práce se zabývá obecnými vlastnostmi prázdných metabolických cyklů a uvádí příklady úloh, které hrají v organismu. V následující části jsou detailně popsány jednotlivé kroky tvořící prázdný cyklus lipolýza/reesterifikace. Značná část se zabývá regulací aktivity prázdného cyklu. Tímto způsobem lze umocnit dopad prázdného cyklování na procesy, které jsou jím ovlivňovány.

Fyziologický význam prázdného metabolického cyklu mezi lipolýzou a reesterifikací mastných kyselin v bílé tukové tkáni byl popsán v mnoha studiích, jejichž výsledky jsou v této práci uvedeny za účelem poskytnutí uceleného náhledu na funkci této soustavy ve fyziologii savců.

Klíčová slova

prázdný metabolický cyklus, lipolýza, reesterifikace, mastné kyseliny, tuková tkáň

Abstrakt AJ

The thesis deals with the task of futile metabolic cycling, mainly on the cycle including lipolysis and fatty acid re-esterification, which takes place in white adipose tissue. This cycle plays some essential roles in organism, including regulation of important metabolic pathways in lipid metabolism and also exhibit certain influence on the whole body energy metabolism.

First part of the thesis is focused on general properties of futile metabolic cycles and shows some examples of their functions in organism. Next part presents detail view on single steps making the whole lipolysis/re-esterification cycle. Considerable part deals with the ways of regulation of futile cycle activity. This approach may increase an impact of futile cycling on processes under its influence.

Physiological relevance of futile metabolic cycle based on lipolysis and fatty acid re-esterification in white adipose tissue was described in numerous studies. This thesis shows their results for a purpose to provide a summary of functions of this system in physiology of mammals.

Key words

futile metabolic cycle, lipolysis, re-esterification, fatty acids, adipose tissue

Obsah

1	Úvod	1
2	Prázdné metabolické cykly	2
2.1	Obecné vlastnosti prázdných metabolických cyklů	2
2.1.1	Terminologie	2
2.1.2	Fyziologický význam	2
3	Prázdný metabolický cyklus lipolýza/reesterifikace mastných kyselin v bílé tukové tkáni	7
3.1	Úloha tukové tkáně v organismu	7
3.2	Metabolismus lipidů	8
3.2.1	Lipolýza triacylglycerolů	8
3.2.2	β -oxidace	10
3.2.3	Syntéza mastných kyselin	11
3.2.4	Esterifikace mastných kyselin	12
3.3	Regulace cyklu lipolýza/reesterifikace v bílé tukové tkáni	13
3.3.1	Stimulace lipolýzy	13
3.3.2	Stimulace reesterifikace	14
3.3.3	Další způsoby stimulace prázdného cyklování	15
3.4	Fyziologický význam cyklu lipolýza/reesterifikace v bílé tukové tkáni	17
4	Závěr	21
	Seznam literatury	23

Seznam zkratek

ACP	přenašeč acylových skupin
ADP	adenosindifosfát
AMP	adenosinmonofosfát
ATGL	triacylglycerolová lipáza
ATP	adenosintrifosfát
cAMP	cyklický adenosinmonofosfát
CoA	koenzym A
CPT1	karnitin-palmitoyltransferáza I
ER	endoplazmatické retikulum
FAD	flavinadeninukleotid oxidovaná forma
FADH ₂	flavinadeninukleotid redukovaná forma
FAS	syntáza mastných kyselin
FAT/CD36	translokáza mastných kyselin CD36
FBP	fruktóza-1,6-bisfosfatáza
GDP	guanosindifosfát
GTP	guanosintrifosfát
HSL	hormon-senzitivní lipáza
MGL	monoacylglycerolová lipáza
mRNA	mediátor/messenger ribonukleová kyselina
NAD	nikotinamidadeninukleotid oxidovaná forma
NADH	nikotinamidadeninukleotid redukovaná forma
NAD-ICDH	nikotinamidadeninukleotid asociovaná isocitrátdehydrogenáza
NADP	nikotinamidadeninukleotidfosfát oxidovaná forma
NADPH	nikotinamidadeninukleotidfosfát redukovaná forma
NADP-ICDH	nikotinamidadeninukleotidfosfát asociovaná isocitrátdehydrogenáza
PEPCK	fosfoenolpyruvátcarboxykináza
PFK	fosfofruktokináza
PKA	proteinkináza A
PPAR	receptory aktivované proliferátory peroxizomů
SERCA	vápníková ATPáza sarko/endoplazmatického retikula
TZD	thiazolidinediony

1 Úvod

Prázdne metabolické cykly byly popsány téměř před půl stoletím. Povaha těchto soustav znesnadňovala porozumění jejich významu ve fyziologii organismu. V současnosti je však známo, že prázdne metabolické cykly díky své zvláštní povaze zajišťují řadu specifických funkcí. Prázdne cyklování obecně spotřebovává metabolickou energii, která je přitom uvolňována ve formě tepla. Takto zprostředkovaná termogeneze není jen vedlejším efektem, ale v mnoha případech přímo hlavním záměrem. Ve většině případů slouží prázdne metabolické cykly k zajištění optimální regulace metabolické dráhy, či jiných pochodů s touto dráhou souvisejících. Podstatná je rovněž schopnost těchto soustav integrovat různé metabolické pochody.

Cílem této práce je nejprve stručně popsat mechanismus prázdného metabolického cyklování a na několika typických příkladech zdokumentovat jaké úkoly prázdne cykly plní v organismu. Hlavní část práce je zaměřena na prázdný metabolický cyklus mezi lipolýzou a reesterifikací mastných kyselin v bílé tukové tkáni. Řada studií naznačuje, že tento cyklus má potenciál bránit rozvoji obezity a s ní asociovaných metabolických poruch. Jsou zde popsány základní dráhy metabolismu lipidů, které zmíněný cyklus vytvářejí, popřípadě jsou jím ovlivňovány. Klíčová kapitola je věnována fyziologickému významu prázdného cyklu lipolýza/reesterifikace při zajišťování netřesové termogeneze a regulaci metabolických drah či koncentrace substrátů v krevním oběhu. Diskutován je také vliv prázdného cyklování v bílé tukové tkáni na celkový energetický metabolismus organismu.

2 Prázdne metabolické cykly

2.1 Obecné vlastnosti prázdných metabolických cyklů

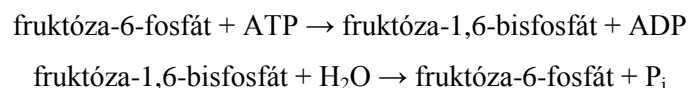
2.1.1 Terminologie

Termínem *prázdny metabolický cyklus* bývá označována soustava proti sobě působících reakcí, které probíhají současně. Tyto reakce bývají poháněny hydrolýzou energeticky bohatých molekul, jako je například ATP, a každá reakce je katalyzována odlišným enzymem. Soustava je často označována také jako *substrátový cyklus*, neboť dochází k cyklickým přeměnám mezi substráty a produkty. Dalšími používanými názvy jsou *jalový cyklus* a *plýtvavý cyklus*, což reflektuje skutečnost, že energie vynaložená na syntézu produktu je v protisměrné reakci vyplývána degradací zpět na výchozí látku.

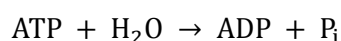
2.1.2 Fyziologický význam

Daný děj lze nazývat prázdným metabolickým cyklem, pokud splňuje určité podmínky. Základní vlastností je spotřeba energie, která ovšem ve výsledku nevede k žádné anabolické či katabolické transformaci chemické sloučeniny (Newsholme & Crabtree, 1976). Na rozdíl od běžných metabolických cyklů, jejichž prototypem je Krebsův cyklus, mají tyto soustavy zejména regulační úlohu. V nejjednodušším případě se skládají ze dvou reakcí, které jsou si navzájem antagonistické a katalyzují je dva enzymy. Jsou však známy i cykly, které zahrnují více než pět reakcí a vystupuje v nich i šest enzymů (Rohwer & Botha, 2001).

Energie pocházející z makroergní sloučeniny bývá uvolněna ve formě tepla, což může být následně využito. Příkladem je prázdný cyklus, který probíhá v létacích svalech čmeláků. Uvedený cyklus byl v sedmdesátých letech dvacátého století prvním popsáním zástupcem z této třídy metabolických pochodů (Newsholme & B. Crabtree, 1970). První z reakcí v této soustavě je fosforylace fruktóza-6-fosfátu katalyzovaná fosfofruktokinázou (PFK) za vzniku fruktóza-1,6-bisfosfátu. Protichůdnou reakcí je defosforylace fruktóza-1,6-bisfosfátu katalyzovaná fruktóza-1,6-bisfosfatázou (FBP). Soustavu lze znázornit následujícími rovnicemi:



Spojením obou rovnic se získá celková reakce hydrolýzy ATP:



Zmíněný cyklus probíhá v tkáních mnoha živočišných druhů, například v potkaních játrech či v kosterním svalu člověka (Clark & Bloxham, 1974). V druhém případě se uplatňuje mechanismus

alosterické inhibice. FBP je inhibována AMP, což vede ke snížení její katalytické účinnosti. AMP naopak aktivuje PFK tím, že zvyšuje její afinitu k substrátu (fruktóza-6-fosfát). Zjištění, že aktivátory enzymu dopředné reakce fungují jako inhibitory reakce zpětné a naopak, dalo vzniknout předpokladu, že v daný okamžik může být funkční pouze jeden z těchto enzymů. V současnosti je známo, že v této soustavě obě reakce probíhají s významnou rychlostí současně, což je pro prázdné metabolické cykly charakteristické. U cyklu, který se vyskytuje v létacích svalech čmeláků, k inhibici FBP pomocí AMP vůbec nedochází (Newsholme et al., 1972). Tím je umožněna neustálá produkce tepla v letové fázi, což tomuto hmyzu dovoluje létat při nízkých teplotách.

Jak již bylo zmíněno, prázdné cykly mají úlohu zejména v regulaci metabolických pochodů. Tok metabolitů určitou metabolickou dráhou se značí J a je roven rychlosti dopředné reakce (v_f) zmenšené o rychlost reakce zpětné (v_r):

$$J = v_f - v_r$$

Hodnota J je v ustáleném stavu¹ dána klíčovým (rychlost určujícím) stupněm metabolické dráhy. Tento stupeň je charakteristický tím, že je mnohem pomalejší než ostatní reakční stupně v dané dráze. Reakce v klíčovém stupni se vyznačuje nízkou až zanedbatelnou hodnotou v_r a probíhá tedy daleko od rovnovážného stavu². Dále zde platí zákonitost, že změna toku se rovná změně rychlosti dopředné reakce:

$$\Delta J = \Delta v_f$$

Zvětší-li se tok klíčovou reakcí, nárůst musí být přenesen na následující reakční stupeň dráhy prostřednictvím zvětšení v_f . V enzymové kinetice platí, že rychlost katalyzované reakce je ovlivněna koncentrací substrátu³ $[S]$. Přenos změny toku je tedy uskutečňován změnami v koncentraci substrátu, které jsou způsobeny změnou v_f v předchozím reakčním stupni. Po dosažení všech zmíněných proměnných dojdeme k rovnici, která uvádí do vztahu závislost změny toku klíčovým stupněm dráhy se změnou koncentrace substrátu:

$$\frac{\Delta J}{J} = \left(\frac{\Delta[S]}{[S]} \right) \cdot \frac{v_f}{(v_f - v_r)}$$

Velikost podílu $v_f / (v_f - v_r)$ udává, jak daleko se reakce nachází od rovnovážného stavu. U nerovnovážné reakce není $\Delta J/J$ příliš závislá na $\Delta[S]/[S]$, a proto má-li být například zdvojnásobena hodnota toku, musí být zdvojnásobena i koncentrace substrátu. V organizmech nastávají situace, kdy je potřeba navýšit tok až o několik řádů, k takovým změnám v koncentraci substrátu však nedochází.

¹V živých organizmech je udržován ustálený stav (homeostáza). V rovnovážném stavu je hodnota J nulová, neboť v_f a v_r se rovnají. Dosažení rovnovážného stavu znamená pro organismus smrt.

²Viz poznámka č. 1.

³ Rovnice Michaelise-Mentenové $v = \frac{V \cdot S}{K_m + S}$ (v = rychlost reakce, V = maximální rychlost reakce, K_m = Michaelisova konstanta, S = koncentrace substrátu)

Proto musí být zapojeny další regulační mechanismy, mezi které patří právě prázdné cyklování. U prázdného cyklu představují v_f a v_r rychlosti dvou protichůdných nerovnovážných reakcí, které jsou katalyzovány dvěma různými enzymy, tudíž se obě mohou nezávisle měnit. Zapojení takové soustavy umožňuje mnohem citlivější regulaci toku v závislosti na změnách koncentrace substrátu (Voet & Voet, 2011).

Jako příklad regulace prázdným cyklem lze použít zmíněný cyklus PFK/FBP (glykolýza/glukoneogeneze), konkrétně varianta, kde dochází k allosterické inhibici AMP. Hodnota toku může být navýšena téměř o dva řády a zároveň zde existuje citlivá modulace toku vlivem inhibice obou enzymů různými inhibitory jinými než AMP. Z výsledků měření metabolického toku *in vivo* lze učinit předpoklad, že zvýšením koncentrace AMP dochází ke zvýšení aktivity PFK(v_f) z 10% až na 90% maximální hodnoty. Současně dochází ke snížení aktivity FBP (v_r) z 90% na 10%. Dále bylo experimentálně prokázáno, že maximální aktivita PFK ve svalu je desetinásobně vyšší než aktivita FBP (Newsholme & B. Crabtree, 1970). Dosadíme-li za aktivitu PFK 100, bude maximální aktivita FBP rovna 10 a ve dvou situacích, které odpovídají mezním koncentracím AMP, získáme následující hodnoty J.

$$\text{při vysoké koncentraci AMP: } J = v_f - v_r = 90 - 1 = 89$$

$$\text{při nízké koncentraci AMP: } J = v_f - v_r = 10 - 9 = 1$$

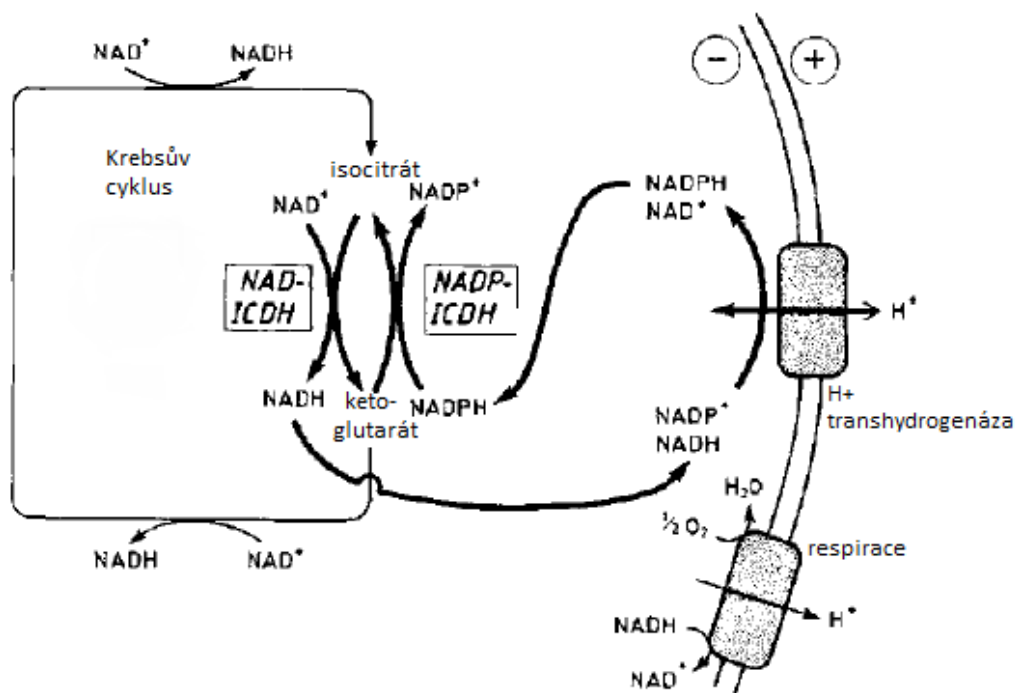
Bez prázdného cyklu představuje rozdíl mezních koncentrací AMP přibližně devítinásobný rozdíl toku. V tomto případě je rozdíl $J_{\text{vysoké AMP}}/J_{\text{nízké AMP}}$ téměř devadesátinásobný (89/1).

Kromě úlohy v termogenezi a regulaci metabolického toku lze prázdné cykly využít také jako pufovací (nárazníkový, buffering) mechanismus. Tyto mechanismy slouží jako nástroj regulace koncentrací iontů v buněčných kompartmentech i v mezibuněčném prostoru. U vyšších obratlovců se vyskytuje například bikarbonátový pufovací systém, který je nezbytný pro regulaci pH v intersticiální tekutině (Breton, 2001). Jeden z prázdných metabolických cyklů s touto funkcí je cyklus vápenatých iontů (Ca^{2+}). Stěžejní úlohu v něm zastává enzym SERCA (sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase), který za spotřeby ATP pumpuje vápenaté ionty proti jejich koncentračnímu gradientu z cytosolu do endoplazmatického retikula (ER). Při podráždění ryanodinových receptorů naopak dochází k výtoku vápenatých iontů do cytosolu, neboť tyto receptory ovládají vápenaté kanály v membráně retikula (Brillantes et al., 1994). Cyklus standardně probíhá při svalové kontrakci, kdy jsou ryanodinové receptory aktivovány mediátorem a po vylití do cytosolu navrácí SERCA buňku do původního stavu napumpováním iontů zpátky přes membránu. Konstitutivní aktivita cyklu byla popsána u některých druhů ryb, kde neustálé pumpování iontů za spotřeby ATP slouží k termogenezi v určitých tkáních (Block, 1994).

Jako pufovací systém se cyklus může chovat v případě, kdy v buňce dochází k nežádoucím oscilacím v koncentraci vápníku. Nejprve se navážou dva vápenaté ionty do míst na cytosolické straně pumpy a po hydrolyze ATP následuje konformační změna a ionty se přesouvají do

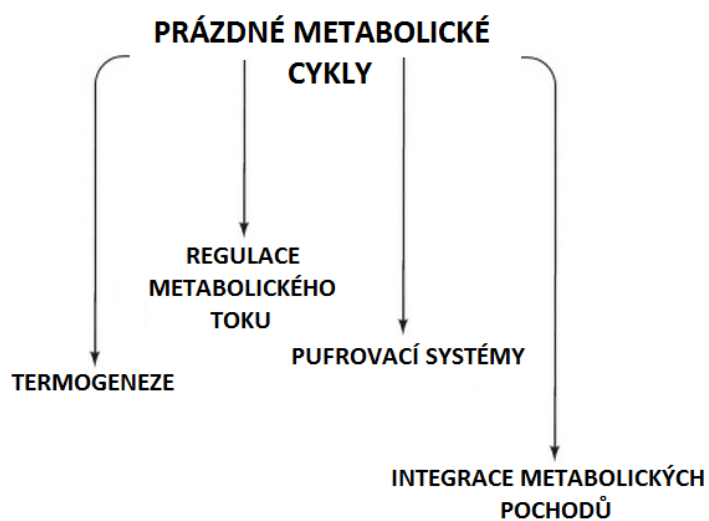
retikulární části, kde se nakonec od enzymu odpoutají, ale mohou zůstat i dlouhodobě navázaný. Ionty vázané k SERCA pumpě nenáleží mezi vápenaté ionty rozpuštěné v cytosolu ani v ER a jsou tedy pohlceny tímto nárazníkem. Funkce mechanismu byla popsána u matematických modelů, jež vykazovaly signifikantní snížení citlivosti k vápníkovým oscilacím při použití SERCA pumpy s touto pufovací aktivitou (Higgins, Cannell, & Sneyd, 2006).

Prázdné metabolické cykly mohou zastávat úlohu i při integraci různých metabolických drah. Jako příklad prázdného cyklu s touto funkcí zde poslouží cyklus zahrnující H^+ -transhydrogenázu a dva typy isocitrátdehydrogenázy (NADP-ICDH a NAD-ICDH). Reakce NAD-asociované isocitrátdehydrogenázy probíhá ve směru citrátového cyklu, zatímco reakce NADP-asociované isocitrátdehydrogenázy běží v opačném směru. NAD-ICDH katalyzuje redukcí koenzymu NAD do formy NADH, která společně s oxidovanou formou koenzymu NADP funguje jako substrát H^+ -transhydrogenázy. Reakce transhydrogenázy je poháněna energií transmembránového gradientu protonů a jejím produktem je redukovaný koenzym NADPH, který slouží jako substrát v reakci NADP-ICDH (viz obr. č.1).



Obr. č. 1, schéma prázdného cyklu H^+ -transhydrogenázy/NAD-ICDH/NADP-ICDH, upraveno z (Sazanov & Jackson, 1994).

Dochází zde k ustanovení rovnováhy v koncentraci redukovaných a oxidovaných forem koenzymů. Hlavní úlohou této soustavy je propojení citrátového cyklu a oxidativní fosforylace (Sazanov & Jackson, 1994).



Obr. č. 2, schéma různých funkcí prázdného metabolického cyklování.

Uvedené příklady potvrzují, že prázdné metabolické cykly mají značný fyziologický význam a nejedná se tedy o pouhé plýtvání energií.

3 Prázdný metabolický cyklus lipolýza/reesterifikace mastných kyselin v bílé tukové tkáni

3.1 Úloha tukové tkáně v organismu

Lipidy jsou estery vícesytných alkoholů a mastných kyselin. Jejich společnou vlastností je hydrofobie způsobená dlouhými uhlovodíkovými řetězci mastných kyselin. V organismu se vyskytují v různých formách, z nichž pro metabolické pochody jsou zvláště významné triacylglyceroly. Ostatní druhy lipidů slouží jako stavební prvky biologických membrán (glycerofosfolipidy a sfingolipidy), popřípadě jako prekurzory hormonů (cholesterol), (Alberts et al., 2002).

Triacylglyceroly jsou tvořeny třemi mastnými kyselinami navázanými na molekulu glycerolu. V organismu mají význam jako hlavní zásobárna metabolické energie. K tomuto účelu jsou využívány adipocyty, což jsou specializované buňky obsahující kromě běžných organel (jádro, mitochondrie, ER, atd.) vakuoly s triacylglyceroly (tukové kapénky), jež mohou vyplňovat naprostou většinu jejich cytosolu. Vyjma adipocytů se v tukové tkáni vyskytují další buňky, které bývají souhrnně označovány jako stromato-vaskulární frakce a mají funkci zejména vyživující a podpůrnou. Mezi tyto buňky patří preadipocyty, endoteliální buňky, fibroblasty (buňky vazivové tkáně) a buňky imunitního systému (T a B lymfocyty, žírné buňky a makrofágy). Adipocyty lze dělit podle množství tukových kapének na multilokulární, tvořící hnědý tuk a unilokulární, které vytvářejí bílý tuk. Barva hnědé tukové tkáně je dána velkým množstvím mitochondrií obsahujících hnědavě zbarvené cytochromy (Lüllmann-Rauch, 2012). Hnědý tuk slouží jako orgán zajišťující termogenezi, což je možné díky rozpřahujícím proteinům, které ruší protonový gradient na mitochondriálních membránách, a tím dochází k uvolňování energie ve formě tepla (Nedergaard et al., 2001). Termogeneze zprostředkovaná rozpřahujícími proteiny je nezbytná pro drobné savce (např. myši) a pro mláďata mnoha větších savců včetně člověka. Savci vybavení hnědým tukem mají tuto tkáň zejména na zádech v oblasti mezi lopatkami.

Již bylo uvedeno, že hlavní funkce bílého tuku je ukládat metabolickou energii ve formě triacylglycerolů. Ačkoliv termogenetická schopnost unilokulárních adipocytů není tak významná jako u hnědého tuku, nelze ji zcela zanedbat (Ukropec et al., 2006). Vrstvy bílého tuku uložené v podkoží navíc působí jako tepelná izolace, což je zvláště významné u živočichů žijících ve studených oblastech (tulení, tučňáci).

V lidském těle se nachází dva hlavní typy bílé tukové tkáně. Prvním z nich je podkožní tuková tkáň a druhým typem je útrobní, viscerální tuková tkáň. Viscerální tuk zastává úlohu v mechanické ochraně vnitřních orgánů. Krev z této tukové tkáně je portálním oběhem přiváděna do jater, což při nadměrné akumulaci viscerálního tuku (abdominální obezita) vede k řadě zdravotních rizik (Bjørndal et al., 2011). Vyšší zastoupení viscerální tukové tkáně v poměru k podkožní například pozitivně

koreluje s výskytem inzulínové rezistence (Goodpaster, Krishnaswami, & Resnick, 2003). Oba typy bílé tukové tkáně jsou dále členěny na jednotlivá tuková depa. U podkožního tuku jsou významná gluteofemorální (hýždě a stehna) a abdominální (břicho) depa, zatímco viscerální tuk se dělí na depo omentální (u žaludku), mezenterické (u střev), retroperitoneální (obklopující ledviny), perikardiální (u srdce) a další. Poslední jmenované hraje roli při vyživování srdečního svalu volnými mastnými kyselinami. Studie však naznačují, že zvětšení perikardiálního depa značně přispívá ke vzniku koronární aterosklerózy (Prati et al., 2003).

Úloha tukové tkáně jako endokrinního orgánu byla dlouho neznámá. Hormony produkované adipocyty se nazývají adipokiny a jsou uvolňovány do krevního řečiště ve formě proteinů. V organismu regulují řadu metabolických drah a ovlivňují funkci pohlavních hormonů, zánětlivé procesy i interakce s imunitním systémem. Prvním objeveným adipokinem je leptin, který patří zároveň k fyziologicky nejvýznamnějším. Působení leptinu je esenciální pro správný pohlavní vývoj a podílí se na udržování energetické homeostázy (mimo jiné má vliv na příjem potravy a zvyšuje jaterní glukoneogenezi), (Brabant et al., 2000). Dalším významným hormonem, produkovaným tukovou tkání, je adiponektin. Jeho působením na specifické receptory dochází k aktivaci signálních kaskád, jež ve výsledku vedou například ke zvýšení oxidace mastných kyselin ve svalové tkáni, či k stimulaci produkce interleukinů. Mezi důležité adipokiny patří také interleukin-6, tumor necrosis factor α a mnohé další. V tukové tkáni je vysoce exprimována aromatáza, což je enzym, který katalyzuje syntézu estrogenů z androgenů (Nimrod & Ryan, 1975).

Tuková tkáň je tedy důležitý multifunkční orgán, který kromě skladování energie plní v organismu množství specifických úkolů.

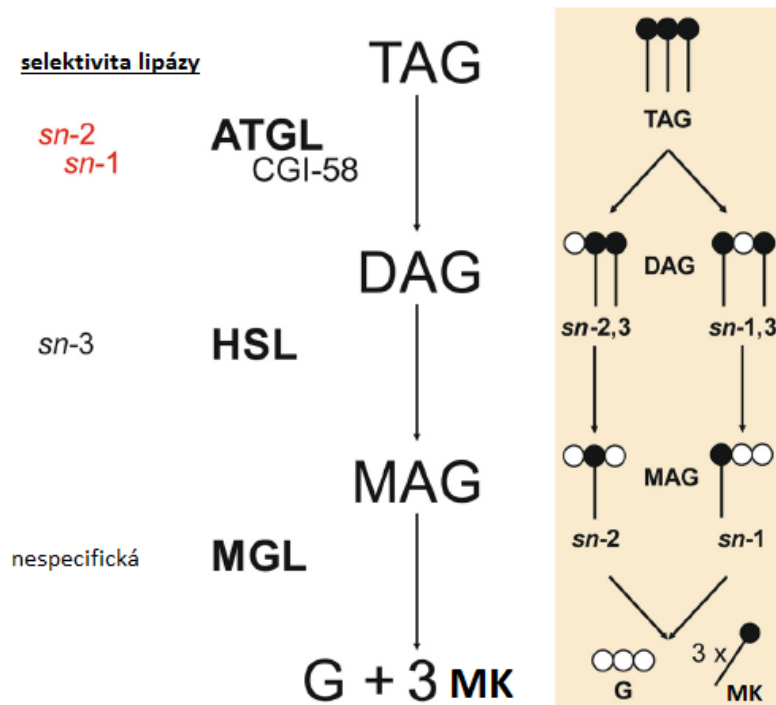
3.2 Metabolismus lipidů

3.2.1 Lipolýza triacylglycerolů

V předchozí kapitole bylo zmíněno, že triacylglyceroly jsou pro metabolické pochody nejvýznamnější skupinou lipidů. Lipolýza je katabolický proces, při kterém jsou molekuly triacylglycerolů štěpeny za vzniku glycerolu a třech molekul mastných kyselin. Jednotlivé složky mohou být následně oxidovány za vzniku metabolické energie ve formě ATP a redukovaných koenzymů (NADH, FADH₂), (Voet & Voet, 2011).

Lipolýza probíhá buď při trávení triacylglycerolů přijatých v potravě, nebo při hydrolýze tukových kapének v adipocytech, kdy organismus potřebuje využít uloženou energii. Stěžejními enzymy jsou zde lipázy. Ty lze dělit podle místa jejich působení, neboť některé lipázy jsou specifické pro určité buněčné kompartmenty (např. lyzozomální lipáza) a jiné se vyskytují pouze v extracelulárním prostoru (Hayase & Tappel, 1970). Pokud lipolýza probíhá při katabolismu tukových zásob v adipocytech,

dochází zde ke spolupráci několika intracelulárních lipáz. První z nich je triacylglycerolová lipáza (adipose triglyceride lipase, ATGL). Pro její aktivaci je nutný protein CGI-58 a tento komplex je rychlost určujícím katalyzátorem štěpení triacylglycerolů (Lass et al., 2006). Produktem reakce ATGL jsou však pouze diacylglyceroly, jež musí být dále hydrolyzovány prostřednictvím hormon-senzitivní lipázy (HSL). Vzniklé monoacylglyceroly jsou následně štěpeny za katalýzy monoacylglycerolovou lipázou (MGL), přičemž vzniká glycerol a volné mastné kyseliny. Zmíněné lipázy katalyzují hydrolýzu substrátů selektivně na pozicích, jež jsou pro ně specifické (viz obr. č. 3).



Obr. č. 3, schéma selektivní hydrolýzy acylglycerolů intracelulárními lipázami (TAG = triacylglycerol, DAG = diacylglycerol, MAG = monoacylglycerol, G = glycerol, MK = mastná kyselina), upraveno z (Eichmann et al., 2012).

Extracelulární lipázy se uplatňují u lipolýzy potravních triacylglycerolů. V žaludku účinkují kyselé lipázy⁴ charakteristické nejvyšší katalytickou aktivitou při pH 3-6, zatímco v tenkém střevě se vyskytuje alkalická lipáza⁵, která vyžaduje přítomnost solí žlučových kyselin a enzymu kolipázy⁶ (Lowe, 1997). Poté co jsou triacylglyceroly v různých částech gastrointestinálního traktu hydrolyzovány lipázami, výsledná směs monoacylglycerolů a mastných kyselin je transportována přes apikální membránu enterocytů pomocí proteinových přenašečů (např. CD36, FATP), (Thurnhofer &

⁴ Jedná se zejména o lingvální a žaludeční lipázu. Lingvální lipáza je produkována žlázami na povrchu jazyka, ale nejvíce aktivní je až v žaludku. Žaludeční lipáza je sekretována hlavními buňkami žaludečního epitelu.

⁵ Nejvýznamnější alkalickou lipázou je pankreatická lipáza. Tento enzym je sekretován slinivkou břišní a pro své působení vyžaduje soli žlučových kyselin.

⁶ Kolipáza je enzym vylučovaný slinivkou břišní, vytváří komplex s pankreatickou lipázou. Zabraňuje její denaturaci solemi žlučových kyselin, které jsou zároveň nezbytné pro její katalytickou aktivitu.

Hauser, 1990). V cytosolu většiny buněk se mastné kyseliny nevyskytují ve volné formě, ale jsou asociovány se specifickými vazebnými proteiny (FABP), (Ockner & Manning, 1974). Tyto vazebné proteiny slouží v enterocytech k transportu mastných kyselin do ER, kde dochází k jejich esterifikaci za vzniku triacylglycerolů. Triacylglyceroly, apolipoproteiny a řada dalších složek (např. fosfolipidy a estery cholesterolu) v lumen ER vytvářejí základ chylomikronu⁷, který je po sérii úprav sekretován přes bazolaterální membránu enterocytu do lymfatických kapilár. V lymfatickém systému putují chylomikrony do větších lymfatických cév až jsou nakonec vyplaveny z hrudního mízovodu do krevního řečiště.

Lipoproteinové částice se krví dostávají až do kapilár v tukové a svalové tkáni. Zde se vyskytují lipoproteinlipázy, které katalyzují hydrolýzu triacylglycerolů obsažených v částici. Vznikají volné mastné kyseliny, které tak mohou vstupovat do adipocytů, nebo myocytů a být esterifikovány, popřípadě oxidovány. Produktem reakce lipoproteinlipáz je také glycerol, který je transportován do jater. V této tkáni je nejprve fosforylován glycerolkinázou a následně transformován na glykolytický meziprodukt dihydroxyacetonfosfát za katalýzy glycerol-3-fosfát-dehydrogenázou (Warkentin & Fondy, 1973). Při mobilizaci triacylglycerolů z tukové tkáně se mastné kyseliny uvolněné intracelulárními lipázami dostávají do krevního oběhu. Zde jsou navázány na albumin⁸, který slouží k přenosu do tkání, kde probíhá jejich oxidace. I v tomto případě je glycerol transportován do jater. V jaterní tkáni dochází k jeho přeměně na dihydroxyacetonfosfát a k následnému zpracování podle potřeby (při katabolismu hnědého tuku lze glycerol zpracovat přímo v multilokulárních adipocytech).

3.2.2 β -oxidace

Ve srovnání s ostatními energetickými substráty (sacharidy a aminokyseliny) poskytuje oxidace mastných kyselin více metabolické energie, neboť tyto sloučeniny jsou zpracovávány na nižší oxidační stupeň. Navíc hydrofobní povaha triacylglycerolů vyžaduje jejich ukládání v dehydratované formě, zatímco glykogen (zásobní forma glukózy) obsahuje dvojnásobné množství vody než je hmotnost jeho sušiny. Z triacylglycerolu lze proto získat až šestkrát více energie v porovnání s glykogenem o stejné hmotnosti (Alberts et al., 2002).

Oxidaci předchází lipolýza a transport mastné kyseliny do cytosolu cílové buňky. V tomto buněčném kompartmentu totiž probíhá první krok, kterým je aktivace mastné kyseliny navázáním koenzymu A za vzniku příslušného acyl-CoA. Na aktivaci jedné molekuly mastné kyseliny se spotřebují dva ekvivalenty ATP. β -oxidace se odehrává v mitochondriích (viz obr. č. 4), s jejichž vnější membránou je asociována karnitin-palmitoyltransferáza I (CPT1). Jedná se o katalyzátor klíčového kroku oxidace mastných kyselin. Pokud aktivovaná mastná kyselina obsahuje dlouhý uhlovodíkový řetězec, je pomocí CPT1 převedena na ester karnitinu. Produkt této reakce je přenesen

⁷ Chylomikron je lipoproteinová částice tvořená zejména triacylglyceroly. Slouží k transportu potravních lipidů z epitelových buněk gastrointestinálního traktu do krevního oběhu, kde mohou být využity tkáněmi.

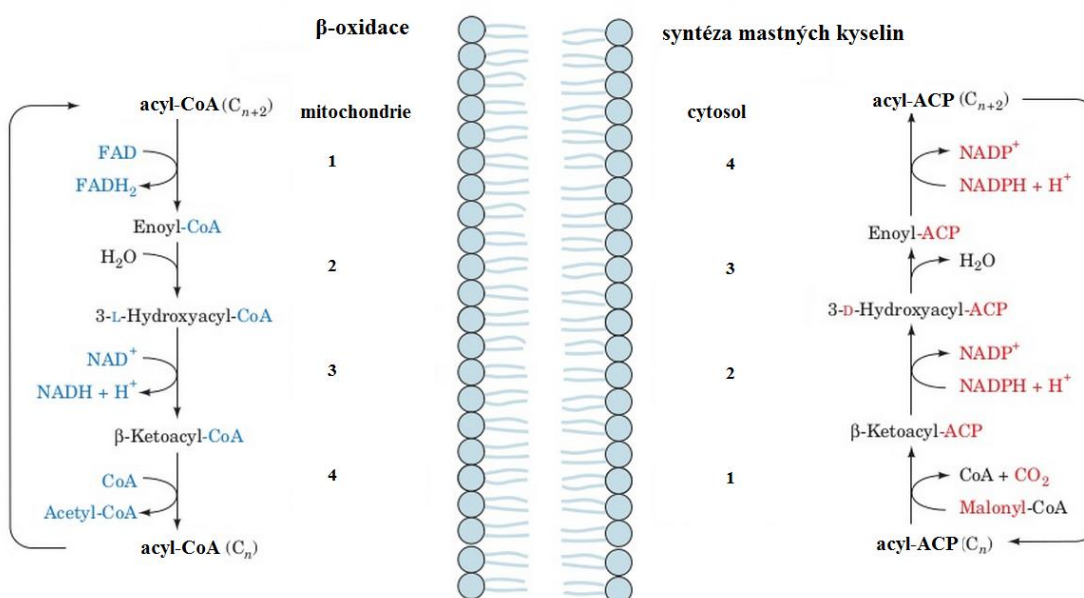
⁸ Albumin je nejčastější protein krevního séra. Je ve vodě rozpustný, a proto může transportovat navázané hydrofobní mastné kyseliny v krevním řečišti.

do mitochondriální matrix za katalýzy karnitin-acylkarnitintranslokázou. Na matrixové straně vnitřní mitochondriální membrány se vyskytuje karnitin-palmitoyltransferáza II, která katalyzuje přeměnu acylkarnitinu zpět na acyl-CoA. Mastné kyseliny s krátkým uhlovodíkovým řetězcem mohou jednoduše prostupovat do mitochondriální matrix (Charney, Micic, & Egnor, 1998).

Prvním krokem samotné β -oxidace je dehydrogenace acyl-CoA za katalýzy acyl-CoA-dehydrogenázou. Při tomto kroku vzniká α - β -nenasycený thioester a dochází k transformaci koenzymu FAD na jeho redukovanou formu FADH₂. Následuje adice vody na dvojnou vazbu za vzniku β -hydroxyacyl-CoA. Ve třetí reakci opět dochází k tvorbě redukovaného koenzymu. Tentokrát je NAD⁺ přeměněn na NADH+H⁺ při dehydrogenační reakci za vzniku β -ketoacyl-CoA. Závěrečným krokem je thiolázou katalyzované štěpení β -ketoacyl-CoA a připojení thiolové skupiny dalšího koenzymu A k odštěpenému zbytku mastné kyseliny. Reakcí vzniká acyl-CoA o dva uhlíky kratší než byla původní molekula. Tento thioester znovu podstupuje zmíněné čtyři reakce, přičemž opět dochází k jeho zkrácení o dva uhlíkové atomy a k tvorbě dalších redukovaných koenzymů. Druhým produktem thiolýzy β -ketoacyl-CoA je acetyl-CoA, který následně může vstoupit do citrátového cyklu (Karlson, 1975).

3.2.3 Syntéza mastných kyselin

Lipidy mohou v organismu vznikat i z nelipidových látek. Dochází tomu v důsledku syntézy mastných kyselin *de novo*. Do jisté míry se jedná o obrácenou β -oxidaci, syntéza mastných kyselin však probíhá v cytosolu (viz obr. č. 4). Dalším rozdílem oproti β -oxidaci je přítomnost koenzymů NADPH+H⁺, které jsou při syntéze mastných kyselin transformovány na svou oxidovanou formu NADP⁺. Dochází tedy ke spotřebě metabolické energie. Proces je katalyzován syntázou mastných kyselin (fatty acid synthase, FAS), což je multifunkční komplex několika enzymů (Volpe & Vagelos, 1974).



Obr. č. 4, srovnání β -oxidace a syntézy mastných kyselin, upraveno z (Voet & Voet, 2011).

Výchozími látkami jsou zde acetyl-CoA a malonyl-CoA. Nejprve dochází k odštěpení koenzymu A zmíněných substrátů a k jeho výměně za ACP⁹ (acyl carrier protein). Následuje kondenzace komplexů acetyl-ACP a malonyl-ACP, přičemž vzniká β -ketoacyl-ACP, molekula oxidu uhličitého a volný ACP. V dalším kroku je β -ketoacyl-ACP redukován za vzniku β -hydroxyacyl-ACP a oxidovaného koenzymu NADP⁺. Třetí reakce syntézy mastných kyselin je dehydratace β -hydroxyacyl-ACP. Vzniká zde enoyl-ACP, což je sloučenina s dvojnou vazbou mezi α a β uhlíkem acylového zbytku. Posledním krokem syntézy mastných kyselin je redukce enoyl-ACP doprovázená oxidací koenzymu NADH+H⁺. Výsledkem této sekvence reakcí je molekula acyl-ACP o dva uhlíkové atomy delší než acylová skupina acetyl-ACP. Cyklus se znovu opakuje a vzniklý acyl-ACP tedy kondenzuje s molekulou malonyl-ACP za vzniku β -ketoacyl-ACP. Po proběhnutí potřebného počtu cyklů je nově nasyntetizovaná molekula mastné kyseliny uvolněna z komplexu FAS (Karlson, 1975).

3.2.4 Esterifikace mastných kyselin

Esterifikace mastných kyselin představuje anabolickou dráhu, která spotřebovává metabolickou energii ve formě ATP a redukovaných koenzymů. Částečně se jedná o proces opačný k lipolýze triacylglycerolů. Syntéza mastných kyselin *de novo* a následná esterifikace za vzniku triacylglycerolů bývají označovány jako lipogeneze (Hellerstein et al., 1991).

Pro esterifikaci jsou třeba mastné kyseliny vázané ke koenzymu A. Vznikají v cytosolu za katalýzy acyl-CoA-syntetázou a spotřeby ATP. Druhou nezbytnou složkou je glycerol-3-fosfát, který vzniká z dihydroxyacetonfosfátu v reakci katalyzované glycerol-3-fosfát-dehydrogenázou. Dochází při tom k tvorbě oxidovaného koenzymu NAD⁺. Dihydroxyacetonfosfát je meziproduktem glykolýzy a je proto spojujícím článkem mezi metabolickými drahami lipidů a sacharidů. V případě, že je v buňce snížena glykolýza, glycerol-3-fosfát může být vytvářen glyceroneogenezí. Jedná se o dráhu generující fosforylovaný glycerol z nesacharidových prekurzorů, jako jsou pyruvát nebo aminokyseliny. V některých tkáních (např. játra a hnědý tuk) se vyskytuje enzym glycerolkináza, který katalyzuje fosforylaci glycerolu na glycerol-3-fosfát za spotřeby ATP (Festuccia et al., 2003). V bílém tuku za fyziologických podmínek není glycerolkináza aktivní, bylo však dokázáno, že její expresi v této tkáni lze stimulovat thiazolidinediony (TZD¹⁰) (Guan et al., 2002).

Výkonnými enzymy esterifikace mastných kyselin jsou acyltransferázy, které katalyzují připojení příslušných acyl-CoA na hydroxylovou skupinu glycerol-3-fosfátu. Podle substrátů se tyto enzymy dělí na glycerol-3-fosfát-acyltransferázy, monoacylglycerolové acyltransferázy a diacylglycerolové acyltransferázy (Karlson, 1975).

Metabolická energie nutná pro esterifikaci volných mastných kyselin za vzniku molekuly triacylglycerolu je příčinou zvýšené energetické spotřeby při aktivovaném prázdném cyklování.

⁹ ACP je protein, který slouží jako přenašeč acylových skupin při syntéze mastných kyselin.

¹⁰ Thiazolidinediony patří mezi léčiva využívaná při léčbě diabetu druhého typu.

3.3 Regulace cyklu lipolýza/reesterifikace v bílé tukové tkáni

Bílá tuková tkáň je klíčovým místem pro lipolýzu triacylglycerolů, neboť tento děj umožňuje využití uložené metabolické energie. Uniloculární adipocyty jsou také místem, kde dochází k esterifikaci mastných kyselin. Bylo zjištěno, že oba zmíněné procesy probíhají zároveň a jsou katalyzovány různými sadami enzymů. Za těchto okolností může docházet k prázdnému metabolickému cyklování (Jensen, Ekberg, & Landau, 2001). Navýšení obratu prázdného cyklu mezi lipolýzou a reesterifikací v bílé tukové tkáni bylo pozorováno při fyziologických stavech jako je například krátkodobé hladovění, což je stav asociovaný se stimulací lipolýzy (Vaughan, 1962).

3.3.1 Stimulace lipolýzy

V bílé tukové tkáni člověka je v nestimulovaném stavu 30-90 % volných mastných kyselin po uvolnění z triacylglycerolů znovu reesterifikováno. V případě, že je adipocyt vystaven lipolytickému stimulu, dochází ke snížení podílu reesterifikovaných mastných kyselin na 10-20% (Wang et al., 2003). Absolutní úroveň prázdného cyklování je navzdory tomuto poklesu stimulací lipolýzy značně navýšena. Skutečnost byla prokázána sledováním inkorporace tritia (^3H) do molekul mastných kyselin a glycerolu (Brooks, Arch, & Newsholme, 1983).

Jako příklad efektoru aktivovaného lipolytickým stimulem zde poslouží HSL. Tato lipáza katalyzuje nejen hydrolýzu diacylglycerolů, jež jsou jejími preferovanými substráty, ale má i schopnost štěpit triacylglyceroly (Eichmann et al., 2012). Na počátku dráhy vedoucí k aktivaci zmíněného enzymu je poptávka organismu po metabolické energii. Zvýšená potřeba metabolické energie vede k produkci a vyplavení katabolických hormonů. Jedná se zejména o katecholaminy a adrenokortikotropní hormon (ACTH) (Vaughan, Berger, & Steinberg, 1964). Následně dochází k navázání molekul hormonů na specifický receptor na membráně adipocytu. Například adrenalin se váže na β_2 -adrenergní receptor spřažený s G-proteinem¹¹ (Barbe et al., 1996). Po navázání hormonu aktivuje G-protein adenylátcyklázu¹², což vede ke zvýšení cytosolické koncentrace druhého posla, kterým je cyklický AMP (cAMP). Cyklický AMP se váže na proteinový komplex zahrnující inaktivovanou proteinkinázu A (PKA)¹³ a způsobuje její aktivaci. Aktivovaná PKA poté katalyzuje fosforylaci samotné HSL a tím ji převádí do aktivního stavu. Dalším úkolem PKA je katalyzovat fosforylaci perilipinu, což je protein tvořící ochrannou vrstvu tukových kapének uvnitř adipocytu. Fosforylace perilipinu zpřístupňuje povrch tukové kapénky HSL a enzym je následně schopen

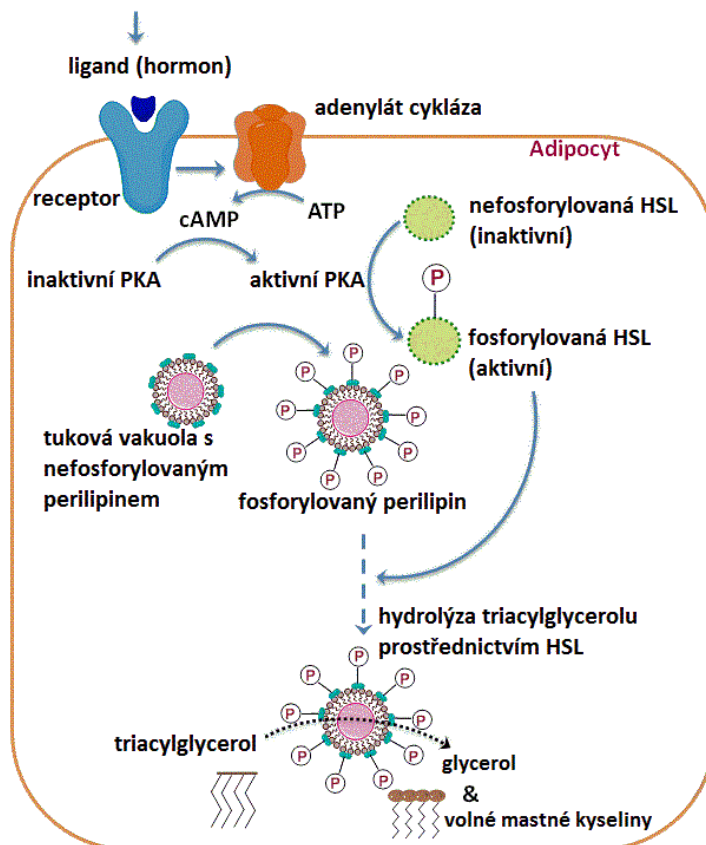
¹¹ G-proteiny patří mezi enzymy katalyzující hydrolýzu GTP. Vyskytují se ve dvou konformacích, jedna s navázaným GTP (aktivní), druhá s navázaným GDP (inaktivní). Mají úlohu v buněčné signalizaci.

¹² Adenylátcykláza je enzym katalyzující syntézu cyklického AMP (cAMP), který slouží jako druhý posel v buněčné signalizaci.

¹³ Proteinkináza A je enzym, který katalyzuje fosforylaci řady proteinů. V inaktivovaném stavu se skládá ze dvou katalytických a dvou regulačních podjednotek. Navázáním cAMP dochází k disociaci regulačních podjednotek, což kinázu aktivuje.

katalyzovat štěpení triacylglycerolů na diacylglyceroly a dokonce až na monoacylglyceroly (Sztalryd et al., 2003).

Již bylo zmíněno, že rychlost určujícím katalyzátorem hydrolýzy triacylglycerolů je ATGL. Regulace její aktivity má proto větší význam než u HSL (bude popsána v kapitole 3.3.3). Produktem reakce ATGL jsou však pouze diacylglyceroly, jež musí být dále hydrolyzovány prostřednictvím HSL a MGL, mají-li být z glycerolové kostry uvolněny všechny mastné kyseliny.



Obr. č. 5, schéma mechanismu aktivace hormon-senzitivní lipázy, upraveno z (http://pharmaxchange.info/press/wp-content/uploads/2013/09/mobilisation_of_fats.gif).

Zvýšená úroveň lipolýzy způsobuje vyšší uvolňování mastných kyselin do krevního oběhu, což má za následek zvýšení oxidace mastných kyselin (Cho et al., 2009). Tato asociace umožňuje stimulovat produkci ATP, což je hlavní cíl katabolického procesu. V mitochondriích adipocytů rovněž dochází k β -oxidaci, značná část mastných kyselin, které nejsou uvolněny z buňky je však reesterifikována.

3.3.2 Stimulace reesterifikace

Ve stavu stimulované lipolýzy je pro další navýšení obrátu prázdného cyklu nutná stimulace reesterifikace. Tento proces vyžaduje jednak aktivaci uvolněných mastných kyselin navázáním acyl-CoA a zároveň fosforylaci glycerolu za vzniku glycerol-3-fosfátu. V bílé tukové tkáni lze za

fyziologických podmínek fosforylovaný glycerol syntetizovat dvěma způsoby, které již byly výše popsány. V situaci kdy dochází ke stimulaci lipolýzy, je rovnováha v organismu nakloněna ke katabolismu, a glycerol-3-fosfát je tudíž syntetizován glyceroneogenezí (Nye, Hanson, & Kalhan, 2008).

Rychlost určujícím krokem této dráhy je transformace oxaloacetátu na fosfoenolpyruvát katalyzovaná fosfoenolpyruvátkarboxykinázou (PEPCK). Regulací aktivity PEPCK lze proto významně navýšit úroveň cyklování mezi lipolýzou a reesterifikací v bílém tuku. Na úrovni transkripce se na tomto úkolu podílí jaderné receptory PPAR γ (peroxisome proliferators-activated receptors), které patří do rodiny transkripčních faktorů regulujících buněčnou diferenciaci a expresi enzymů různých metabolických drah (Vidal-Puig et al., 1997). Izoforma PPAR γ 2 je charakteristická pro tukovou tkáň a mimo expresi PEPCK ovlivňuje také aktivitu a biogenezi mitochondrií. Zde se uplatňují koaktivátory PPAR γ , kterými jsou transkripční faktory ze skupiny PGC-1 (PGC-1 α a PGC-1 β), (Wu et al., 1999). Expresi PEPCK lze rovněž ovlivnit léčivý TZD, neboť ty působí jako vysokoafinní ligand PPAR γ (Lehmann et al., 1995).

Další způsob, kterým lze regulovat nejen reesterifikaci mastných kyselin, ale i lipolýzu, byl objeven poměrně nedávno a zahrnuje translokázu mastných kyselin (FAT/CD36). Tento transmembránový protein byl zmíněn v souvislosti s transportem mastných kyselin z cytosolu enterocytů do krevního řečiště. Působí zároveň jako katalyzátor přenosu mastných kyselin z a také do tukových a svalových buněk, což je klíčový krok jejich metabolické dráhy (Coburn et al., 2000). Adipocyty, u kterých byla zvýšena aktivita FAT/CD36 prostřednictvím hexarelinu¹⁴, vykazovaly vyšší expresi PPAR γ vedoucí ke stimulaci reesterifikace (Rodrigue-Way et al., 2007). U tkáňové kultury adipocytů s vypnutím genu pro FAT/CD36 bylo zaznamenáno menší množství glycerolu a mastných kyselin uvolněných z buňky a zároveň vyšší poměr uvolněných mastných kyselin v porovnání s glycerolem (Wan et al., 2013). Údaje svědčí o snížení lipolýzy i reesterifikace mastných kyselin. Dále byla v této studii měřena exprese mRNA PEPCK a také obsah enzymu v buňkách. V porovnání s kontrolními kulturami byly tyto hodnoty u adipocytů s knockoutem pro FAT/CD36 výrazně nižší. Po přidání inhibitoru HSL byl naměřen další pokles exprese mRNA PEPCK, což potvrzuje závislost reesterifikace a tím i obratu cyklování na úrovni lipolýzy. Díky skutečnosti, že mastné kyseliny uvolněné z adipocytu mohou být následně okamžitě přeneseny zpět pomocí FAT/CD36, lze na tento enzym nahlížet jako na rozšíření prázdného cyklu mezi lipolýzou a reesterifikací (Zhou et al., 2012).

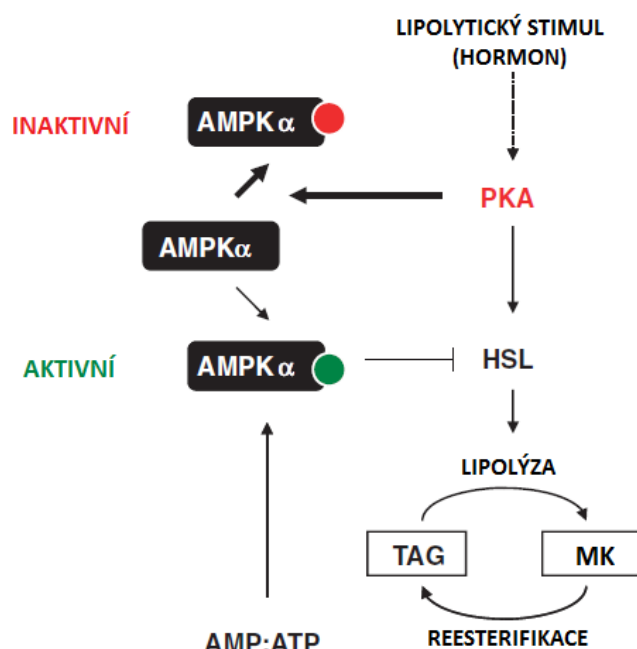
3.3.3 Další způsoby stimulace prázdného cyklování

Zvýšený obrat prázdného cyklování mezi lipolýzou a reesterifikací je asociován nejen se stavem hladovění, ale také s fyzickou aktivitou. Tato skutečnost se může zdát paradoxní, neboť v obou

¹⁴ Hexarelin je peptid tvořený šesti aminokyselinami, který v organismu stimuluje vylučování růstového hormonu. Z tohoto důvodu je často využíván jako anabolický steroid. Působí jako agonista FAT/CD36.

případech vyžaduje organizmus ATP, které je prázdným cyklem konzumováno. Při zvýšené fyzické aktivitě byla naměřena vyšší exprese PEPCK, což vede ke stimulaci reesterifikace (Wan et al., 2012).

Poptávka po ATP vede k aktivaci AMP-aktivované proteinkinázy (AMPK). Jedná se o ústřední enzym energetického metabolismu, jehož aktivita je stimulována nárůstem koncentrace AMP (Davies et al., 1995). AMPK má schopnost regulovat lipolýzu prostřednictvím modulace aktivity lipáz. Aktivita AMPK je navíc regulována PKA, která enzym fosforyluje, čímž je zamezeno inhibičnímu efektu AMPK na HSL (viz obr. č. 6). PKA takto působí pouze při zajištění akutní odpovědi na lipolytický stimul (Djouder et al., 2010). Naproti tomu při dlouhodobé aktivaci AMPK dochází ke stimulaci aktivity ATGL, což umožňuje zvýšení lipolýzy triacylglycerolů touto lipázou (Ahmadian et al., 2012). Diacylglyceroly vzniklé reakcí ATGL vedou zároveň k usnadněné reesterifikaci, neboť se hromadí v buňce v důsledku inhibičního efektu AMPK na HSL (Daval et al., 2005). Vzhledem k tomu, že ATGL i HSL jsou ovlivňovány AMPK, uplatňuje se tento enzym v citlivé regulaci cyklování mezi lipolýzou a reesterifikací



Obr. č. 6, schéma vztahu mezi PKA, AMPK a prázdným metabolickým cyklem (AMPK α = alfa podjednotka AMPK, TAG = triacylglycerol, MK = mastné kyseliny), upraveno z (Djouder et al., 2010)

Výsledky experimentů naší laboratoře naznačují, že cyklování mezi lipolýzou a reesterifikací lze stimulovat také podáváním omega-3 polynenasycených mastných kyselin. Jedná se zejména o eikosapentaenovou kyselinu a dokosahexaenovou kyselinu. Metabolity těchto látek slouží jako ligandy jaderných receptorů PPAR (Rossmeisl et al., 2009). To vede nejen ke stimulaci reesterifikace v důsledku vyšší exprese PEPCK, ale také ke zvýšení mitochondriální β -oxidace. Kromě zmíněných efektů mají omega-3 mastné kyseliny v organizmu řadu dalších pozitivních účinků. Zvyšují

inzulinovou senzitivitu a pomáhají snižovat rozvoj kardiovaskulárních chorob a diabetu druhého typu (Kromhout et al., 2011).

Vliv omega-3 mastných kyselin na zvýšení prázdného cyklování a β -oxidace lze ještě umocnit mírnou kalorickou restrikcí (Flachs et al., 2011). Ta odpovídá přibližně desetiprocentnímu úbytku vzhledem k množství potravy přijatému bez omezení. Myši krmené dietou s obsahem omega-3 mastných kyselin vykazovaly při kombinaci s kalorickou restrikcí vyšší expresi PEPCCK ve viscerálním tuku v porovnání s ostatními skupinami (Flachs et al., 2013).

3.4 Fyziologický význam cyklu lipolýza/reesterifikace v bílé tukové tkáni

Výše byla na příkladu cyklu glykolýza/glukoneogeneze demonstrována schopnost prázdných cyklů regulovat tok metabolickou dráhou. V případě cyklu mezi lipolýzou a reesterifikací v bílé tukové tkáni je regulace metabolického toku nezbytná pro optimální dodávku mastných kyselin do ostatních tkání (kosterní a srdeční sval, játra). Cyklování mezi lipolýzou a reesterifikací probíhá jednak v adipocytech, ale také mimo tukovou tkáň, kdy jsou mastné kyseliny vyplaveny do krevního oběhu a esterifikovány v játrech. Studie prováděná na potkanech, u kterých bylo prázdné cyklování stimulováno hladověním, naznačuje, že druhá možnost však přispívá pouze velmi málo k celkové úrovni reesterifikace v organizmu (Kalderon et al., 2000). Díky tomuto poznatku lze bílou tukovou tkáň považovat za hlavní orgán zodpovědný za řízení metabolismu mastných kyselin v organizmu.

Schopnost prázdného cyklu regulovat metabolický tok je významná při fyzické zátěži a zejména při zotavení organismu po zátěži. Zde popisovaná studie pracovala s celkovou systémovou reesterifikací včetně jaterní, jejíž podíl při fyzické aktivitě není tak zanedbatelný jako ve stavu hladovění. Přesto studie potvrzuje význam prázdného cyklování. V experimentu byla měřena úroveň lipolýzy a reesterifikace během čtyřhodinové fyzické zátěže (rychlá chůze) a následném dvouhodinovém zotavení, poté co byla pokusným objektům aplikována dávka značené kyseliny palmitové a glycerolu (Wolfe et al., 1990). Před začátkem fyzické aktivity bylo 70% uvolněných mastných kyselin reesterifikováno. Hodnota byla po třiceti minutách rychlé chůze snížena na 30% a na této úrovni zůstala až do ukončení aktivity. Pokles lze zdůvodnit vyšší poptávkou po metabolické energii vedoucí ke stimulaci mitochondriální oxidace a lipolýzy bez současného navýšení reesterifikace. Okamžitě po ukončení aktivity došlo k nárůstu podílu reesterifikovaných mastných kyselin na 90%. V tomto případě došlo k poklesu poptávky po ATP, zatímco stále přetrvával vysoký obrat lipolýzy v důsledku hormonální stimulace. Po dvou hodinách zotavení se podíl reesterifikovaných mastných kyselin vrátil na 70%. Úkolem prázdného cyklu je tedy bezprostředně zareagovat na snížení poptávky po ATP navýšením reesterifikace dokud přetrvává vysoká úroveň lipolýzy pomaleji regulovatelnou hormonální stimulací. Tato nezávislá regulace různých pochodů podílejících se na stejné metabolické dráze může být uskutečněna pouze u prázdných metabolických cyklů (Newsholme & Crabtree, 1976).

U cyklu mezi lipolýzou a reesterifikací v bílém tuku byl navíc zaznamenán transport právě uvolněných mastných kyselin zpět do adipocytu pomocí přenašeče FAT/CD36, což umožňuje ještě citlivější regulaci metabolického toku podle aktuálních energetických potřeb (Zhou et al., 2012).

Ve studii, která se zabývala vlivem fyzické zátěže na obrat prázdného cyklu, byl zároveň měřen podíl této soustavy na celkovém energetickém výdeji (Wolfe et al., 1990). Před začátkem fyzické aktivity byla energie spotřebovaná prázdným cyklováním určena na 1,2% celkového energetického výdeje. V průběhu aktivní fáze došlo v důsledku nárůstu výdeje k poklesu tohoto podílu na 0,4%. Ovšem po přechodu do zotavovací fáze, kdy se množství reesterifikovaných mastných kyselin pohybovalo kolem 90%, spotřeboval prázdný cyklus dokonce 3,6% celkového energetického výdeje. Jak již bylo zmíněno, tento experiment se zabýval celkovou systémovou reesterifikací, tudíž naměřené hodnoty nelze vztáhnout na bílou tukovou tkáň.

Určení vlivu cyklu lipolýza/reesterifikace na celkový energetický metabolismus je podstatné pro využití stimulace cyklu k léčbě obezity a s ní asociovaných metabolických poruch. Ačkoliv podíl metabolismu bílého tuku na celkovém energetickém výdeji bývá často zanedbáván, s rostoucím obsahem tukové tkáně se zvyšuje také význam jeho metabolické aktivity. Podíl metabolismu bílého tuku na celkovém bazálním metabolismu je u průměrných jedinců přibližně 5% a u osob trpících obezitou se tato hodnota zdvojnásobuje (Böttcher & Fürst, 1997). Zvýšením oxidativní kapacity mitochondrií v adipocytech (např. pomocí suplementace omega-3 mastnými kyselinami) lze dosáhnout ještě vyšších hodnot. Podíl cyklu mezi lipolýzou a reesterifikací v bílé tukové tkáni byl u středně obézních jedinců určen jako 2-3% celkového bazálního metabolismu (Flachs et al., 2013).

Dosud zde nebylo popsáno chování prázdného metabolického cyklu při chladové expozici. Touto metodou se zabývají experimenty prováděné v naší laboratoři a z jejich výsledků je patrné, že se jedná o podstatný způsob stimulace prázdného cyklování. Myším vystaveným teplotě 4°C po dobu dvou až sedmi dní byla po ukončení expozice zvážena tuková depa a množství reesterifikovaných mastných kyselin bylo stanoveno pomocí inkorporovaného deuteria (^2H), (Zouhar, 2015). Viscerální tukové depo, které je typické vyšší aktivitou prázdného cyklu, ztratilo po dvoudenní expozici značnou část hmotnosti, což značí nárůst lipolýzy. Opětovný nárůst tukových zásob adipocytů v důsledku reesterifikace byl zaznamenána pouze při sedmidenní chladové expozici a lze tedy odvodit, že k maximální stimulaci prázdného cyklování dochází až kolem sedmého dne pobytu ve 4°C. Energie spotřebovaná prázdným cyklem je uvolněna ve formě tepla, tudíž se prázdné cyklování podílí na netřesové termogenezi. Ve zmíněné studii bylo během sedmidenní expozice reesterifikací mastných kyselin ve viscerální tukové tkáni vytvořeno přibližně 50 mg triacylglycerolu. Při jedné otáčce cyklu lipolýza/reesterifikace je na 1 mol triacylglycerolu spotřebováno 8 molů ATP, což v tomto případě odpovídá spotřebované energii 30 J (Baldwin, 1970). Takové množství však představuje jen nepatrnou část z celkového energetického výdeje a podíl prázdného cyklu na udržení tělesné teploty při chladové expozici je tedy velmi malý.

Při chladové expozici u hlodavců také dochází k aktivaci metabolických procesů v hnědém tuku. Tato tkáň zajišťuje netřesovou termogenezi prostřednictvím mitochondriálních rozpráhuujících proteinů. Hnědý tuk je charakteristický velkým množstvím mitochondrií, na jejichž membránách se však vyskytuje poměrně malé množství ATP-syntáz (Houstek et al., 1995). Protonový gradient vytvořený oxidací substrátů, což jsou v tomto případě zejména mastné kyseliny, tedy neslouží k syntéze ATP. Místo toho je jeho energie přeměněna na teplo pomocí rozpráhuujících proteinů, které navzdory této schopnosti nenáleží k žádnému prázdnému metabolickému cyklu. Ve srovnání s cyklováním mezi lipolýzou a reesterifikací, dochází činností rozpráhuujících proteinů k mnohonásobně vyšší produkci tepla. Tento mechanismus je proto zcela zásadní pro udržení tělesné teploty u chladově exponovaných myší (Nedergaard et al., 2001).

Hnědý tuk je tvořen multilokulárními adipocyty, ve kterých se vyskytuje větší množství malých kapének s triacylglyceroly. Takové uspořádání značně zvětšuje celkový povrch kapének. To umožňuje podstatné zefektivnění lipolýzy, neboť tento proces probíhá právě na povrchu tukových kapének (Nagayama et al., 2010). Během chladové expozice však mastné kyseliny ze zásob v hnědém tuku nestačí k zajištění dlouhodobé termogeneze. Proto zde existuje spolupráce mezi hnědou a bílou tukovou tkání. Mastné kyseliny jsou lipolýzou uvolněny ze zásob v bílém tuku a krví se dostávají do hnědé tukové tkáně, kde dochází k jejich reesterifikaci, popřípadě jsou okamžitě využity k tvorbě protonového gradientu. Z tohoto důvodu vede chladový stimul ke zvýšení příjmu mastných kyselin multilokulárními adipocyty z krevního oběhu (Kuusela et al., 1997).

V souvislosti s vyšší efektivitou lipolýzy v důsledku zvětšení povrchu lipidových kapének v adipocytech lze zmínit další významný efekt prázdného cyklu lipolýza/reesterifikace. V experimentu byla různými mikroskopickými metodami pozorována přestavba tukových kapének v adipocytech ve stavu stimulované lipolýzy (Hashimoto et al., 2012). Výsledky studie naznačují, že v unilokulárních adipocytech dochází při reesterifikaci uvolněných mastných kyselin k tvorbě značného množství malých lipidových kapének. Na povrchu těchto kapének může následně probíhat lipolýza, čímž je rychlost a účinnost tohoto procesu podstatně navýšena. Schopnost prázdného cyklu zvětšovat celkový povrch lipidových kapének v unilokulárních adipocytech může být využita ke zvýšení katabolizmu tukových zásob u pacientů trpících obezitou.

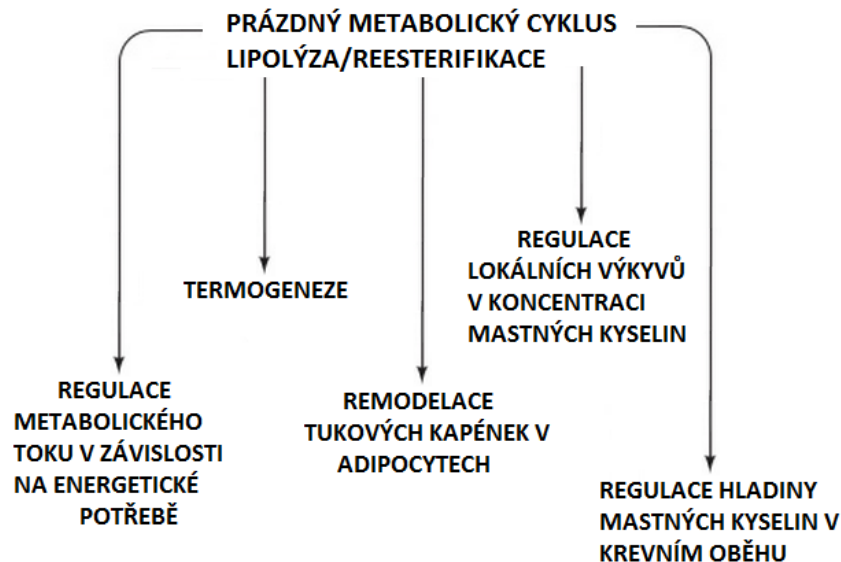
Další úloha prázdného cyklu mezi lipolýzou a reesterifikací spočívá ve vlivu na metabolismus sacharidů. Reesterifikace za vzniku triacylglycerolu vyžaduje glycerol-3-fosfát, který je při hladovění tvořen glyceroneogenezí, ale za jiných okolností je jeho prekurzorem glukóza přijatá z krevního oběhu (Reshef, Hanson, & Ballard, 1969). Prázdné cyklování se tedy může podílet na snižování hladiny glukózy v krvi.

Hladina volných mastných kyselin v krevním oběhu je rovněž regulována prázdným cyklováním. Volné mastné kyseliny jsou silně reaktivní látky, což je příčinou jejich toxického působení a vyvolávání zánětu. Dochází k tomu zejména v játrech, ale i v celé řadě dalších tkání včetně bílého tuku. Právě bílá tuková tkáň je ohrožována lokálními toxickými výkyvy v koncentraci mastných

kyselin, tudíž prázdné cyklování má podstatný význam při její ochraně. Příliš vysoká hladina volných mastných kyselin v krevním oběhu zároveň způsobuje zvýšené riziko rozvoje inzulínové rezistence a diabetu druhého typu (Paolisso et al., 1995). Prázdný metabolický cyklus zde slouží jako pufrovací mechanismus, neboť reesterifikací je snižováno množství mastných kyselin uvolněných do krve (Campbell et al., 1992). Nezávislým stimulováním lipolýzy, či reesterifikace lze aktivitu pufrovacího systému citlivě regulovat podle aktuálních energetických potřeb a koncentrace mastných kyselin v krevním oběhu.

4 Závěr

Prázdný metabolický cyklus mezi lipolýzou a reesterifikací mastných kyselin v bílé tukové tkáni je soustava plnicí v organismu řadu velice důležitých úkolů (viz obr. č. 7).



Obr. č. 7, schéma funkcí prázdného metabolického cyklu mezi lipolýzou a reesterifikací.

Schopnost uvolňovat energii z makroergních sloučenin ve formě tepla je pro prázdné cykly charakteristická. U cyklu mezi lipolýzou a reesterifikací však tento efekt k celkové termogenezi organismu přispívá jen velmi málo. Podíl prázdného cyklování v bílé tukové tkáni na celkovém energetickém metabolismu však není nesignifikantní, odpovídá přibližně 2-3% celkového bazálního metabolismu. Efektivní stimulování aktivity soustavy by mohlo tuto hodnotu navýšit, čehož lze využít zejména při léčbě obezity a s ní asociovaných metabolických poruch. Vliv cyklu lipolýza/reesterifikace na snižování hladiny krevní glukózy může být rovněž využit k léčbě metabolických poruch.

Velmi významný je efekt prázdného cyklování na regulaci hladiny volných mastných kyselin v krevním oběhu. Vysoká hladina mastných kyselin zvyšuje riziko rozvoje inzulínové rezistence, diabetu druhého typu a mastné kyseliny působí toxicky v mnoha tkáních a vyvolávají rozvoj zánětu. Prázdný cyklus také reguluje toxické výkyvy v koncentraci mastných kyselin, ke kterým dochází lokálně v bílém tuku, čímž tuto tkáň ochraňuje.

Důležitá funkce tohoto prázdného metabolického cyklování je zajištěna díky schopnosti remodelovat tukové kapénky v adipocytech. U uniloculárních adipocytů, pro které je charakteristická jedna velká kapénka s triacylglyceroly, dochází reesterifikací k tvorbě velkého množství lipidových mikrokapének. Tvorba mikrokapének zvětšuje celkový povrch tukových vakuol, čímž buňka získává schopnost rychlejší a účinnější lipolýzy.

Další z významných úloh, které prázdný cyklus v organismu zastává je citlivá regulace metabolického toku. Metabolické dráhy regulované prázdným cyklováním slouží k syntéze ATP oxidací mastných kyselin v mitochondriích různých tkání. Jedná se tudíž o velmi důležité pochody. Prázdné cyklování rovněž umožňuje integraci katabolických a anabolických drah lipidového metabolismu.

Seznam literatury

- Ahmadian, M., Abbott, M. J., Tang, T., Hudak, C. S. S., Kim, Y., Bruss, M., Hellerstein, M. K., Lee, H., Samuel, V. T., Gerald, I., Wang, Y., Duncan, R. E., Kang, C., & Sul, H. S. **2012**. Desnutrin/ATGL is regulated by AMPK and is required for a brown adipose phenotype. *Cell Metabolism*, 13(6): 739–748.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. **2002**. *Molecular Biology of the Cell* (4th ed.). Garland Science.
- Baldwin, R. L. **1970**. Metabolic functions affecting the contribution of adipose tissue to total energy expenditure. *Federation proceedings*, 29(3): 1277–1283.
- Barbe, P., Millet, L., Galitzky, J., Lafontan, M., & Berlan, M. **1996**. In situ assessment of the role of the beta 1-, beta 2- and beta 3-adrenoceptors in the control of lipolysis and nutritive blood flow in human subcutaneous adipose tissue. *British journal of pharmacology*, 117(5): 907–913.
- Bjørndal, B., Burri, L., Staalesen, V., Skorve, J., & Berge, R. K. **2011**. Different adipose depots: Their role in the development of metabolic syndrome and mitochondrial response to hypolipidemic agents. *Journal of Obesity*, 2011: 490650–490665.
- * Block, B. A. **1994**. Thermogenesis in muscle. *Annual review of physiology*, 56: 535–577.
- Böttcher, H., & Fürst, P. **1997**. Decreased white fat cell thermogenesis in obese individuals. *International journal of obesity and related metabolic disorders.*, 21(6): 439–444.
- Brabant, G., Horn, R., von zur Mühlen, A., Mayr, B., Wurster, U., Heidenreich, F., Schnabel, D., Grüters-Kieslich, A., Zimmermann-Belsing, T., & Feldt-Rasmussen, U. **2000**. Free and protein bound leptin are distinct and independently controlled factors in energy regulation. *Diabetologia*, 43(4): 438–442.
- * Breton, S. **2001**. The cellular physiology of carbonic anhydrases. *JOP : Journal of the pancreas*, 2: 159–164.
- Brillantes, A. M. B., Ondriaš, K., Scott, A., Kobrinsky, E., Ondriašová, E., Moschella, M. C., Jayaraman, T., Landers, M., Ehrlich, B. E., & Marks, A. R. **1994**. Stabilization of calcium release channel (ryanodine receptor) function by FK506-binding protein. *Cell*, 77(4): 513–523.
- Brooks, B. J., Arch, J. R., & Newsholme, E. A. **1983**. Effect of some hormones on the rate of the triacylglycerol/fatty-acid substrate cycle in adipose tissue of the mouse in vivo. *Bioscience reports*, 3(3): 263–267.
- Campbell, P. J., Carlson, M. G., Hill, J. O., & Nurjhan, N. **1992**. Regulation of free fatty acid metabolism by insulin in humans: role of lipolysis and reesterification. *The American journal of physiology*, 263: E1063–E1069.
- Clark, M. G., & Bloxham, D. P. **1974**. Estimation of the Fructose 1,6-Diphosphatasephosphofructokinase Substrate Cycle and Its Relationship to Gluconeogenesis in Rat Liver in Vivo. *Journal of Biological Chemistry*, 249(1): 279–290.

- Coburn, C. T., Knapp, F. F., Febbraio, M., Beets, a L., Silverstein, R. L., & Abumrad, N. a. **2000**. Defective uptake and utilization of long chain fatty acids in muscle and adipose tissues of CD36 knockout mice. *The Journal of biological chemistry*, 275(42): 32523–32529.
- Daval, M., Diot-Dupuy, F., Bazin, R., Hainault, I., Viollet, B., Vaulont, S., Hajduch, E., Ferré, P., & Foufelle, F. **2005**. Anti-lipolytic action of AMP-activated protein kinase in rodent adipocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 280(26): 25250–25257.
- Davies, S. P., Helps, N. R., Cohen, P. T. W., & Hardie, D. G. **1995**. 5'-AMP inhibits dephosphorylation, as well as promoting phosphorylation, of the AMP-activated protein kinase. Studies using bacterially expressed human protein phosphatase-2C alpha and native bovine protein phosphatase-2Ac. *FEBS Letters*, 377(3): 421–425.
- Djouder, N., Tuerk, R. D., Suter, M., Salvioni, P., Thali, R. F., Scholz, R., Vaahtomeri, K., Auchli, Y., Rechsteiner, H., Brunisholz, R. a, Viollet, B., Mäkelä, T. P., Wallimann, T., Neumann, D., & Krek, W. **2010**. PKA phosphorylates and inactivates AMPKalpha to promote efficient lipolysis. *The EMBO journal*, 29: 469–481.
- Eichmann, T. O., Kumari, M., Haas, J. T., Farese, R. V., Zimmermann, R., Lass, A., & Zechner, R. **2012**. Studies on the substrate and stereo/regioselectivity of adipose triglyceride lipase, hormone-sensitive lipase, and diacylglycerol-O- acyltransferases. *Journal of Biological Chemistry*, 287(49): 41446–41457.
- Festuccia, W. T. L., Guerra-Sá, R., Kawashita, N. H., Garófalo, M. a R., Evangelista, E. a, Rodrigues, V., Kettelhut, I. C., & Migliorini, R. H. **2003**. Expression of glycerokinase in brown adipose tissue is stimulated by the sympathetic nervous system. *American journal of physiology.*, 284: R1536–R1541.
- Flachs, P., Rossmeisl, M., Kuda, O., & Kopecky, J. **2013**. Stimulation of mitochondrial oxidative capacity in white fat independent of UCP1: A key to lean phenotype. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1831(5): 986–1003.
- Flachs, P., Rühl, R., Hensler, M., Janovska, P., Zouhar, P., Kus, V., MacEk Jilkova, Z., Papp, E., Kuda, O., Svobodova, M., Rossmeisl, M., Tsenov, G., Mohamed-Ali, V., & Kopecky, J. **2011**. Synergistic induction of lipid catabolism and anti-inflammatory lipids in white fat of dietary obese mice in response to calorie restriction and n-3 fatty acids. *Diabetologia*, 54: 2626–2638.
- Goodpaster, B. H., Krishnaswami, S., & Resnick, H. **2003**. Association Between Regional Adipose Tissue Distribution and Both Type 2 Diabetes and Impaired Glucose Tolerance in Elderly Men and Women. *Diabetes Care*, 26(2): 372–379.
- Guan, H.-P., Li, Y., Jensen, M. V., Newgard, C. B., Stepan, C. M., & Lazar, M. A. **2002**. A futile metabolic cycle activated in adipocytes by antidiabetic agents. *Nature medicine*, 8(10): 1122–1128.
- Hashimoto, T., Segawa, H., Okuno, M., Kano, H., Hamaguchi, H. -o., Haraguchi, T., Hiraoka, Y., Hasui, S., Yamaguchi, T., Hirose, F., & Osumi, T. **2012**. Active involvement of micro-lipid droplets and lipid droplet-associated proteins in hormone-stimulated lipolysis in adipocytes. *Journal of Cell Science*, 125: 6127–6136.
- Hayase, K., & Tappel, A. L. **1970**. Specificity and Other Properties of Lysosomal Lipase of Rat Liver. *The Journal of biological chemistry*, 8(1): 169–175.

- Hellerstein, M. K., Christiansen, M., Kaempfer, S., Kletke, C., Wu, K., Reid, J. S., Mulligan, K., Hellerstein, N. S., & Shackleton, C. H. L. **1991**. Measurement of de novo hepatic lipogenesis in humans using stable isotopes. *Journal of Clinical Investigation*, 87(5): 1841–1852.
- Higgins, E. R., Cannell, M. B., & Sneyd, J. **2006**. A buffering SERCA pump in models of calcium dynamics. *Biophysical journal*, 91: 151–163.
- Houstek, J., Andersson, U., Tvrdik, P., Nedergaard, J., & Cannon, B. **1995**. The expression of subunit c correlates with and thus may limit the biosynthesis of the mitochondrial F₀F₁-ATPase in brown adipose tissue. *Journal of Biological Chemistry*, 270(13): 7689–7694.
- Charney, A. N., Micic, L., & Egnor, R. W. **1998**. Nonionic diffusion of short-chain fatty acids across rat colon. *The American journal of physiology*, 274(3): G518–G524.
- Cho, S. Y., Park, P. J., Shin, E. S., Lee, J. H., Chang, H. K., & Lee, T. R. **2009**. Proteomic analysis of mitochondrial proteins of basal and lipolytically (isoproterenol and TNF- α)-stimulated adipocytes. *Journal of cellular biochemistry*, 106: 257–266.
- Jensen, M. D., Ekberg, K., & Landau, B. R. **2001**. Lipid metabolism during fasting. *American journal of physiology*, 281(4): E789–E793.
- Kalderon, B., Mayorek, N., Berry, E., Zevit, N., & Bar-Tana, J. **2000**. Fatty acid cycling in the fasting rat. *American journal of physiology*, 279(1): E221–E227.
- Karlson, P. **1975**. *Introduction to Modern Biochemistry*. *Introduction to Modern Biochemistry* (4th ed.).
- Kromhout, D., Geleijnse, J., Goede, J. de, Griep, L. M. O., Mulder, B. J. M., Boer, M.-J. de, Deckers, J. W., Boersma, E., Zock, P. L., & Giltay, E. J. **2011**. n-3 Fatty Acids, Ventricular Arrhythmia – Related Events, and Fatal Myocardial Infarction in Postmyocardial Infarction Patients With Diabetes. *Diabetes Care*, 34(12): 2515–2520.
- Kuusela, P., Rehnmark, S., Jacobsson, A., Cannon, B., & Nedergaard, J. **1997**. Adrenergic stimulation of lipoprotein lipase gene expression in rat brown adipocytes differentiated in culture: mediation via β 3- and α 1-adrenergic receptors. *Biochemical Journal*, 321: 759–767.
- Lass, A., Zimmermann, R., Haemmerle, G., Riederer, M., Schoiswohl, G., Schweiger, M., Kienesberger, P., Strauss, J. G., Gorkiewicz, G., & Zechner, R. **2006**. Adipose triglyceride lipase-mediated lipolysis of cellular fat stores is activated by CGI-58 and defective in Chanarin-Dorfman Syndrome. *Cell Metabolism*, 3(5): 309–319.
- Lehmann, J. M., Moore, L. B., Smith-Oliver, T. A., Wilkison, W. O., Willson, T. M., & Kliewer, S. A. **1995**. An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma). *The Journal of biological chemistry*, 270: 12953–12956.
- Lowe, M. E. **1997**. Colipase stabilizes the lid domain of pancreatic triglyceride lipase. *Journal of Biological Chemistry*, 272(1): 9–12.
- Lüllmann-Rauch, R. **2012**. *Histologie* (3rd ed.). Grada Publishing a.s.

- Nagayama, M., Shimizu, K., Taira, T., Uchida, T., & Gohara, K. **2010**. Shrinking and development of lipid droplets in adipocytes during catecholamine-induced lipolysis. *FEBS Letters*, 584(1): 86–92.
- * Nedergaard, J., Golozoubova, V., Matthias, A., Asadi, A., Jacobsson, A., & Cannon, B. **2001**. UCP1: The only protein able to mediate adaptive non-shivering thermogenesis and metabolic inefficiency. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1504: 82–106.
- Newsholme, E. a, Crabtree, B., Higgins, S. J., Thornton, S. D., & Start, C. **1972**. The activities of fructose diphosphatase in flight muscles from the bumble-bee and the role of this enzyme in heat generation. *The Biochemical journal*, 128(1): 89–97.
- Newsholme, E. A., & B. Crabtree. **1970**. The Role of Fructose-1,6-Diphosphatase in the Regulation of Glycolysis in Skeletal Muscle. *FEBS Letters*, 7(2): 195–198.
- Newsholme, E. A., & Crabtree, B. **1976**. Substrate cycles in metabolic regulation and in heat generation. *Biochemical Society symposium*, (41): 61–109.
- Nimrod, A., & Ryan, K. J. **1975**. Aromatization of androgens by human abdominal and breast fat tissue. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 40(3): 367–372.
- Nye, C. K., Hanson, R. W., & Kalhan, S. C. **2008**. Glyceroneogenesis is the dominant pathway for triglyceride glycerol synthesis in vivo in the rat. *Journal of Biological Chemistry*, 283(41): 27565–27574.
- Ockner, R. K., & Manning, J. A. **1974**. Fatty acid-binding protein in small intestine. Identification, isolation, and evidence for its role in cellular fatty acid transport. *The Journal of clinical investigation*, 54(2): 326–338.
- Paolisso, G., Tataranni, P. A., Foley, J. E., Bogardus, C., Howard, B. V., & Ravussin, E. **1995**. A high concentration of fasting plasma non-esterified fatty acids is a risk factor for the development of NIDDM. *Diabetologia*, 38(10): 1213–1217.
- Prati, F., Arbustini, E., Labellarte, A., Sommariva, L., Pawlowski, T., Manzoli, A., Pagano, A., Motolese, M., & Boccaneli, A. **2003**. Eccentric atherosclerotic plaques with positive remodelling have a pericardial distribution: A permissive role of epicardial fat? *European Heart Journal*, 24(4): 329–336.
- Reshef, L., Hanson, R. W., & Ballard, F. J. **1969**. Glyceride-glycerol synthesis from pyruvate. Adaptive changes in phosphoenolpyruvate carboxykinase and pyruvate carboxylase in adipose tissue and liver. *Journal of Biological Chemistry*, 244(8): 1994–2001.
- Rodrigue-Way, A., Demers, A., Ong, H., & Tremblay, A. **2007**. A growth hormone-releasing peptide promotes mitochondrial biogenesis and a fat burning-like phenotype through scavenger receptor CD36 in white adipocytes. *Endocrinology*, 148(3): 1009–1018.
- Rohwer, J. M., & Botha, F. C. **2001**. Analysis of sucrose accumulation in the sugar cane culm on the basis of in vitro kinetic data. *The Biochemical journal*, 358: 437–445.
- Rossmesl, M., Jelenik, T., Jilkova, Z., Slamova, K., Kus, V., Hensler, M., Medrikova, D., Povysil, C., Flachs, P., Mohamed-Ali, V., Bryhn, M., Berge, K., Holmeide, A. K., & Kopecky, J. **2009**. Prevention and reversal of obesity and glucose intolerance in mice by DHA derivatives. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 17(5): 1023–1031.

- Sazanov, L. a., & Jackson, J. B. **1994**. Proton-translocating transhydrogenase and NAD- and NADP-linked isocitrate dehydrogenases operate in a substrate cycle which contributes to fine regulation of the tricarboxylic acid cycle activity in mitochondria. *FEBS letters*, 344: 109–116.
- Sztalryd, C., Xu, G., Dorward, H., Tansey, J. T., Contreras, J. a., Kimmel, A. R., & Londos, C. **2003**. Perilipin A is essential for the translocation of hormone-sensitive lipase during lipolytic activation. *Journal of Cell Biology*, 161(6): 1093–1103.
- Thurnhofer, H., & Hauser, H. **1990**. The uptake of phosphatidylcholine by small intestinal brush border membrane is protein-mediated. *Biochimica et biophysica acta*, 1024(2): 249–262.
- Ukropec, J., Anunciado, R. P., Ravussin, Y., Hulver, M. W., & Kozak, L. P. **2006**. UCP1-independent thermogenesis in white adipose tissue of cold-acclimated Ucp1^{-/-} mice. *Journal of Biological Chemistry*, 281(42): 31894–31908.
- Vaughan, M. **1962**. The Production and Release of Glycerol by Adipose Tissue Incubated in Vitro. *The Journal of biological chemistry*, 237(11): 3354–3358.
- Vaughan, M., Berger, J. E., & Steinberg, D. **1964**. Hormone-sensitive Lipase and Monoglyceride Lipase Activities in Adipose Tissue. *Journal of Biological Chemistry*, 239: 401–409.
- Vidal-Puig, A. J., Considine, R. V, Jimenez-Liñan, M., Werman, A., Pories, W. J., Caro, J. F., & Flier, J. S. **1997**. Peroxisome proliferator-activated receptor gene expression in human tissues. Effects of obesity, weight loss, and regulation by insulin and glucocorticoids. *The Journal of clinical investigation*, 99(10): 2416–2422.
- Voet, D., & Voet, J. G. **2011**. *Biochemistry 4th Edition* (4th ed.).
- Volpe, J. J., & Vagelos, P. R. **1974**. Regulation of mammalian fatty-acid synthetase. The roles of carbohydrate and insulin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 71(3): 889–893.
- Wan, Z., Matravadia, S., Holloway, G. P., & Wright, D. C. **2013**. FAT/CD36 regulates PEPCK expression in adipose tissue. *American journal of physiology.*, 304: C478–C484.
- Wan, Z., Ritchie, I., Beaudoin, M. S., Castellani, L., Chan, C. B., & Wright, D. C. **2012**. IL-6 indirectly modulates the induction of glyceroneogenic enzymes in adipose tissue during exercise. *PLoS ONE*, 7(7): 1–9.
- Wang, T., Zang, Y., Ling, W., Corkey, B. E., & Guo, W. **2003**. Metabolic partitioning of endogenous fatty acid in adipocytes. *Obesity research*, 11(7): 880–887.
- * Warkentin, D. L., & Fondy, T. P. **1973**. Isolation and characterization of cytoplasmic L-glycerol-3-phosphate dehydrogenase from rabbit-renal-adipose tissue and its comparison with the skeletal-muscle enzyme. *European journal of biochemistry*, 36(1): 97–109.
- Wolfe, R. R., Klein, S., Carraro, F., & Weber, J. M. **1990**. Role of triglyceride-fatty acid cycle in controlling fat metabolism in humans during and after exercise. *The American journal of physiology*, 258: E382–E389.
- Wu, Z., Puigserver, P., Andersson, U., Zhang, C., Adelmant, G., Mootha, V., Troy, A., Cinti, S., Lowell, B., Scarpulla, R. C., & Spiegelman, B. M. **1999**. Mechanisms controlling mitochondrial biogenesis and respiration through the thermogenic coactivator PGC-1. *Cell*, 98: 115–124.

Zhou, D., Samovski, D., Okunade, A. L., Stahl, P. D., Abumrad, N. a., & Su, X. **2012**. CD36 level and trafficking are determinants of lipolysis in adipocytes. *FASEB Journal*, 26(11): 4733–4742.

Zouhar, P. **2015**. *Importance of adipose tissue metabolism for whole-body energy balance*.

Internetové zdroje

<http://www.pharmaxchange.info/press/2013/10/mobilization-and-cellular-uptake-of-stored-fats-triacylglycerols-with-animation/>

* - označení sekundární citace