

Stavy vedoucí k patologické akumulaci lipidů - steatosy

(přepracovaný text skript Biologie a patologie buňky I z roku 1997)
autor: prof. MUDr. Milan Elleder, DrSc

Obsah:

Úvod

- I. Syntesa lipoproteinů a jejich transport
- II. Mitochondriální beta-oxidace (BOX) mastných kyselin (MK) a její poruchy
- III. Degradace lipidů v lysosomech a její poruchy
- IV. Další mechanismy vedoucí k deposici lipidů v buňce
- V. Dodatečné poznámky

Seznam zkratk:

ABCA1 - ATP-binding cassette transporter 1; **ABHD5** - abhydrolase domain containing 5; **ACAT** - acyl-coenzym A:cholesterol acyltransferase; **ADRP** - adipose-differentiation related protein; **ATAGL (PNPLA2)** - adipocyte triglyceride lipase; **BOX** - beta oxidace; **CACT** - carnitine-acylcarnitine translocase; **CoA** - coenzyme A; **COPII** - coatomer protein II; **CPT I/II** - carnitine palmitoyl-transferase; **DAGT** - diacylglycerolacyltransferase; **ER** - endoplasmatické retikulum; **ETF** - electron transfer flavoprotein; **FADH2** - flavin adenine dinucleotide; **FAO (BOX)** - fatty acid oxidation; **HDL** - high-density lipoprotein; **ChE** - estery cholesterolu; **LDL** - low-density lipoprotein; **LCHAD** - long chain acyl CoA dehydrogenase; **MCAD** - medium chain acyl CoA dehydrogenase; **MIM** - mendelian inheritance in man; **MK** - mastné kyseliny; **MTP** - microsomal triglyceride transfer protein; **NAFLD** - nonalcoholic fatty liver disease; **NASH** - nonalcoholic steatohepatitis; **NPC** - Niemann-Pick disease type C protein; **RER** - rough endoplasmic reticulum; **TAG** - triacylglyceroly; **TIP 47** - tail interacting protein; **VLDL** - very low-density lipoprotein

Úvod

Molekulární patologie lipidů v nejobecnějším smyslu slova zahrnuje veškeré poruchy metabolismu lipidů. Velká většina těchto stavů však nemá přímý strukturální odraz, ale může se manifestovat sekundárními poruchami buněčných funkcí a celým řetězcem dalších změn. Příkladem je celá řada stavů, při nichž došlo ke kvalitativním a kvantitativním (tj. včetně patologicky snížené syntesy) změnám spektra lipidů (např. glykolipidů, mastných kyselin polárních lipidů, steroidů, apod.) existujících membránových struktur nebo jejich mikrodomén (raftů)

Obsah této kapitoly je zaměřen na klasické téma patologie, tj. na stavy vedoucí k akumulaci lipidů do takové míry, že je detekovatelná optickým mikroskopem, v řadě případů i prostým okem. Nepočítáme-li speciální problematiku lipidosis (viz. níže), je celá široká problematika steatos centrována na triacylglyceroly a estery cholesterolu. Úvodem nástin normální situace

u jednotlivých lipidů, kterých se poruchy týkají a základních buněčných procesů, do kterých jsou tyto dvě základní skupiny lipidů zapojeny.

Triacylglyceroly (TAG), jakožto nositelé mastných kyselin, jsou ve velkém kvantu v buňkách bílé a hnědé tukové tkáně, kde slouží jako energetická rezerva. Kapky TAG mohou být přítomny fyziologicky v malém množství prakticky ve všech buňkách, zejména v buňkách s *intenzivní β oxidací mastných kyselin jako rezervní substrát*. V hepatocytech může být dosti výrazná rezerva TAG deportovaná z tukové tkáně. V játrech normálního dospělého člověka se odhaduje obsah TAG v rozmezí 6.7 g - 60.7 g. Množství může významně stoupat za hladovění, což je způsobeno mobilizací volných mastných kyselin z bílé tukové tkáně. Reserva TAG slouží jak k syntese lipoproteinů v hepatocytech pro export (viz. níže) tak i k oxidaci v mitochondriích. Velké depo triacylglycerolu je i v perisinusoidních Itoových buňkách jater sloužících jako reservoár vitamínu A.

Kapky TAG jsou přítomny i ve *žlázkách secernujících tuky*. V případě mazových žlázek jde o progresivní multilokulární akumulaci TAG v cytosolu končící zánikem buňky (holokrinní typ sekrece). Dle některých autorů se lipid iniciálně hromadí v endoplasmatickém retikulu (ER). V případě laktující mléčné žlázy jsou kapénky TAG cíleny cytosolem k apikálnímu pólu buňky, kde se před uvolněním obalí buněčnou membránou (apokrinní typ sekrece).

Estery cholesterolu (ChE) jsou přítomny ve formě cytoplasmatických kapének v buňkách specializovaných na syntesu steroidních hormonů. V cytoplasmě jsou lokalizovány v cytosolu. Jsou zde jako reservoár cholesterolu, který je výchozím stavebním kamenem všech steroidů. Typicky je tomu ve spongocytech kůry nadledvin, do kterých je cholesterol dopravován LDL receptorem zprostředkovanou endocytosou.

Tukové kapky - jejich biologie

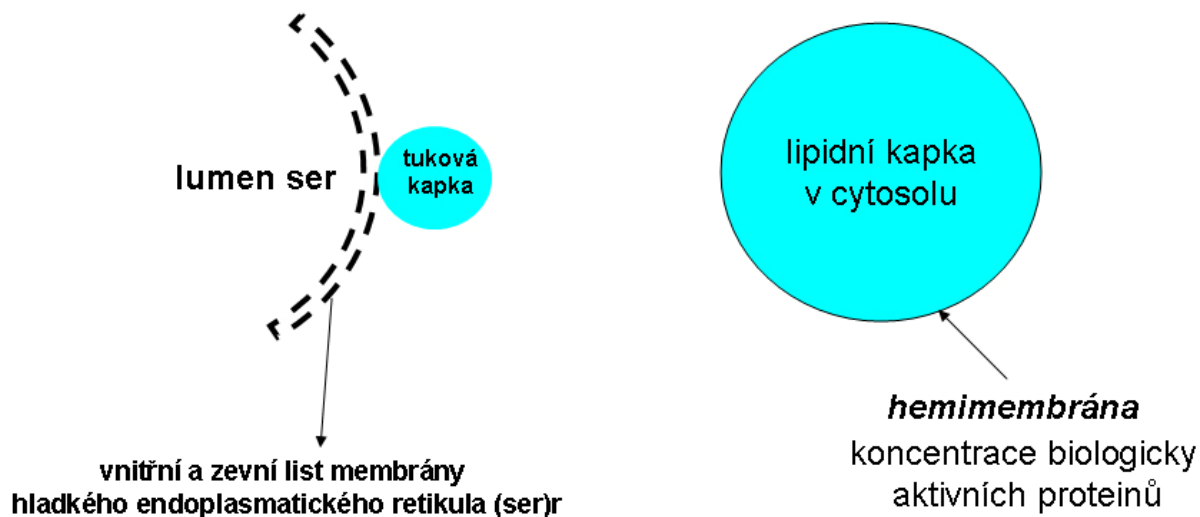
Lipidní kapénky TAG/ChE jsou lokalizovány v cytosolu. K esterifikaci glycerolu a cholesterolu dochází pomocí enzymů nacházejících se v membránách endoplasmatického retikula (hladké endoplasmatické retikulum), které je hlavním kompartmentem řídícím obrát lipidních esterů tukové kapky, která se nachází v cytosolu. V membráně endoplasmatického retikula jsou enzymy acyltransferasy, přenášející mastnou kyselinu z Acyl-koenzymu A na cholesterol (Acyl koenzym A: cholesterol acyltransferasa, ACAT) nebo na glycerol, resp. diacylglycerol (diacylglycerolacyltransferasa, DAGT). Existuje též názor, že tyto tukové kapky vznikají přímo v membráně hladkého ER (mezi oběma listy - cytosolárním a lumenálním) a jsou tedy *de facto* intramembranosní. Během první fáze se předpokládá intramembranosní akumulace, která se může šířit laterálně mezi listy, pokud není nastartován vlastní proces pučení do cytosolu pod vlivem jednoho z proteinů (ADRP viz. níže), který vznikající kapku obaluje.

Na povrchu cytosolárních kapének (obr.1), tedy na rozhraní lipidní estery - cytosol, jsou koncentrovány fosfolipidy, zejména lecitin, včetně lysolecitinu, volný cholesterol a řada biologicky aktivních proteinů. Pro tuto vrstvu je používán termín hemi-membrána lipidní kapky. Výčet proteinů koncentrovaných na povrchu lipidní kapky je dlouhý. Za zmínku stojí skupina PAT zahrnující perilipin, ADRP (adipofilin - adipocyte differentiation related protein) a TIP47. Některé z nich hrají významnou roli v regulaci degradace lipidních esterů v kapce. Prokázáno to bylo v případě dvou geneticky podmíněných stavů charakterizovaných progresivní akumulací TAG v cytosolu (viz. níže)

Perilipin je protein exprimovaný výhradně v adipocytech a ve steroidogenních buňkách; chrání estery lipidní kapky před neregulovanou hydrolysou; zprostředkuje vazbu lipasy (adipocyte triglyceride lipase - ATAGL, známou též jako PNPLA2 a pod dalšími zkratkami) na tukovou kapku. Pro funkci této lipasy je nezbytná asociace s proteinem CG1-58, který se váže na perilipin. Těmito vazbami je zaručena vazba lipasy na tukovou kapku (přenos z cytosolu) a její aktivita. Deficit CG1-58 byl prokázán u Chanarin-Dorfmannova syndromu (viz. níže). Deficit ATAGL (lipasy) má za následek syndrom blízky Chanarin-Dorfmanovu syndromu - neutral lipid storage disease (střádání neutrálních lipidů - míněny jsou pouze TAG). Kapének esterů cholesterolu se tyto poruchy netýkají. Funkce *ADRP* a *TIP47* nejsou doposud dostatečně známy.

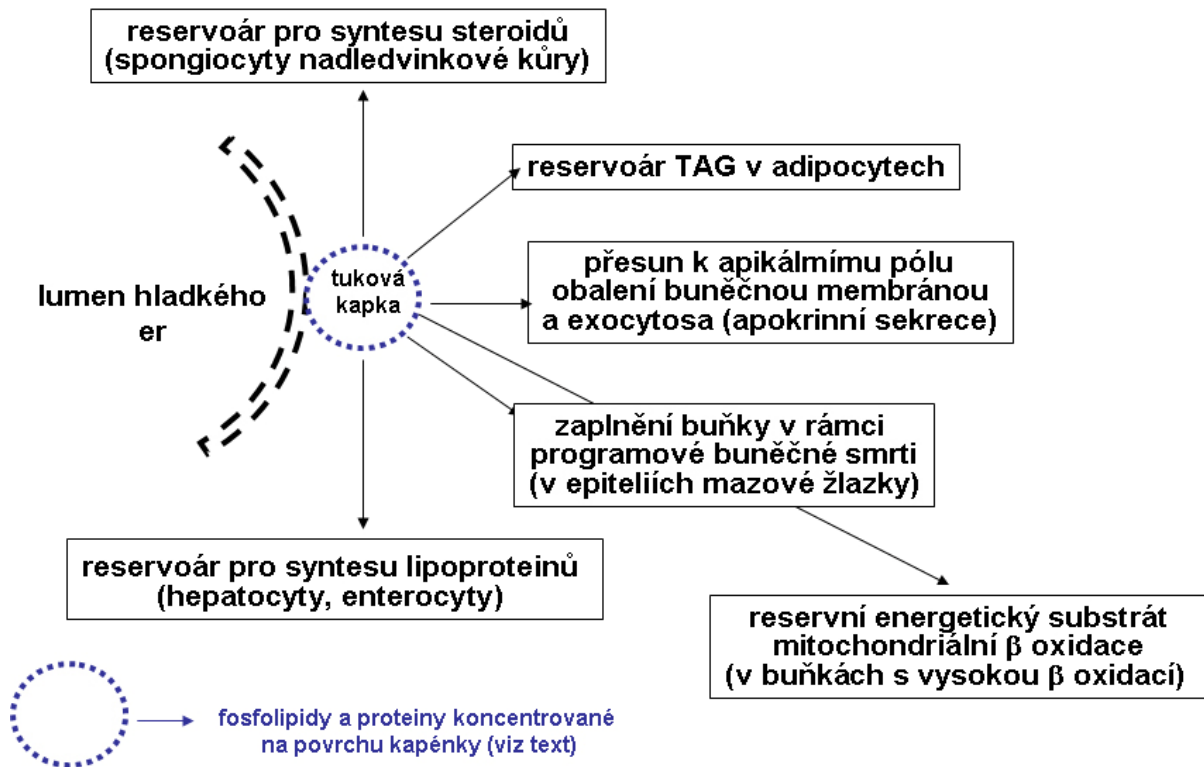
Obr.1.Předpokládané varianty místa vzniku tukové kapky (TAG nebo ChE)

primárně cytosolární vznik lipidní kapky při zevním listu endoplasmatického retikula (kontakt s membránou ser je pouze fokální)



Speciální zapojení cytosolární tukové kapky lze sledovat v buňkách secernujících lipoproteiny (viz. níže), v buňkách s apokrinní sekrecí (průnik cytolem k apikálnímu pólu buňky, její obalení buněčnou membránou a odškrcení) a buňkách mazových žlázek (zaplnění celé buňky, která následně programově zanikne a vyprazdňuje obsah do vlasového foliklu). Způsoby různých zapojení tukové kapky jsou shrnuty v následujícím obrázku (obr.2)

Obr.2. Tuková kapka a varianty jejího využití v buňkách



Lipidy plicního surfaktantu. Speciálním případem je sekrece lipoproteinů plicního surfaktantu pneumocyty typu II. Zde jsou fosfolipidy (zejména lecitin) syntetizovány na zevním listu membrány endoplasmatického retikula, transportovány do jeho lumen a dále za přidání dalších komponent do Golgiho aparátu a ve formě membránou ohraničených granul konstitucionálním typem sekrece předávány do alveolů. Tato granula bohatá na lipidy jsou *de facto* variantou lysosomálních granul (systém LRO - lysosome related organel - viz. lysosomální systém)

Sekrece sfingolipidů v granulární vrstvě epidermis. V buňkách stratum granulosum jsou sfingolipidy (glukosylceramid) koncentrovány do sekrečních mikrogranulí (Odlandova tělíska), která jsou exocytována do mezibuněčného prostoru. Tam je secernována i glukocerebrosida. Tím je nastartován první krok k tvorbě lipidní (hydrofobní) bariéry epidermis v rohové vrstvě.

Mechanismy vedoucí k nadměrné akumulaci hlavních druhů lipidů triacylglycerolů a esterů cholesterolu

V případě TAG jsou stavy spojené s jeho excesivní akumulací v buňkách spojeny:

1. **s poruchou beta oxidace mastných kyselin v mitochondriích.** Pokud nejsou mastné kyseliny v mitochondriích oxidovány musí být kovalentně vázány (na glycerol, viz. níže poruchy beta oxidace). Akumulovaný TAG je tedy v těchto případech nepřímým projevem poruchy oxidace mastných kyselin. Nutno zmínit, že buňka, která je vystavena přísunu mastných kyselin z krve nebo která syntetisuje nadměrné množství mastných kyselin, kdy se tedy hromadí mastné kyseliny, které nejsou v daném okamžiku utilizovatelné, jsou deponovány ve formě TAG (v neesterifikované formě ohrožuje buněčné struktury detergentním účinkem).

2. **s poruchou syntesy (asemblace) lipoproteinů** v endoplasmatickém retikulu, určených pro export do celého organismu. Jde prakticky výlučně o hepatocyty a enterocyty (viz. též níže).

Tato porucha postihuje všechny molekuly inkorporované do molekul lipoproteinů. Akumulovány jsou však pouze TAG - jde tedy o primární poruchu utilisace TAG na rozdíl od poruch β oxidace, kdy jsou akumulované TAG výrazem prevence toxického účinku volných mastných kyselin.

Pokud jde o cholesterol, je jeho akumulace za řady stavů dána neschopností buňky akumulovaný cholesterol degradovat. Pokud není inkorporován do novotvořených membrán, nebo odstraněn z buňky.

V následujícím textu budou zmíněny hlavní doposud známé mechanismy, které představují základní cesty metabolismu lipidů, při jejichž poruše dochází k patologické akumulaci tuku v buňce. V rámci různých nosologických jednotek se mohou tyto mechanismy kombinovat. Selhání uvedených mechanismů může být i absolutní (jejich poruchou) nebo relativní (nadměrnou zátěží).

Pokud nebereme v úvahu poruchy syntesy lipidů (ER-Golgi, peroxisomy), pak se na těchto poruchách zúčastní tyto buněčné oddíly: endoplasmatické retikulum, mitochondrie a lysosomy.

I. Syntesa lipoproteinů a jejich transport - fyziologie a patologie

Fyziologie

Endoplasmatické retikulum (syntesa a sekrece lipoproteinů - speciálních transportních forem lipidů). Podle dnešních znalostí jsou lipoproteiny syntetizovány ve dvojím typu buněk.

- a. *enterocytech* z absorbovaných fragmentů lipidů potravy (MK, monoacylglycerolů), které jsou stavebními kameny nově syntetizovaného enterocytárního lipoproteinu, velmi bohatého na TAG (chylomikrony). Hlavním apoproteinem je ApoB48, alternativní forma ApoB produkovaného hepatocyty.
- b. Dalším místem velmi intenzivní syntesy lipoproteinů jsou hepatocyty, které touto formou zásobují veškeré periferní tkáně lipidy zejména pro účely energetické a pro stavbu buněčných membrán. Jde o VLDL (lipoproteiny o velmi nízké hustotě) s hlavním apoproteinem typu B100.

Poznámky

Proteiny ApoB48 a ApoB100 jsou produkty stejného genu. Rozdíl je tom, že v enterocytech je selektivně exprimován enzym cytidindeaminasa, která konvertuje C na U v pozici 6666 primárního transkriptu ApoB100. Tím vznikne předčasný stop kodon.

Syntesa lipoproteinů s ApoB byla prokázána i v myokardu

Proces syntesy lipoproteinu probíhá v hladkém endoplasmatickém retikulu (ER). Kvantitativně nejvýraznější součástí jsou TAG, syntetizované v membráně endoplasmatického retikula a deponované v membráně, případně v cytosolárních kapkách, obsahující TAG (viz. shora). *U secernovaných lipoproteinů je tedy důležitá kooperace mezi lumen ER a cytolem přes membránu ER.* Prvým krokem je translokace ApoB do lumen ER (v oblasti RER) a jeho postupná lipidizace (v oblasti SER), ve které dominuje transport TAG přes membránu ER z cytosolární lipidní kapky (viz. shora) nebo z jejího mezimembránového prostoru, katalyzovaný MTP (mikrosomální TAG transferový protein); přibírá se též cholesterol a fosfolipidy. Finální VLDL partikule je pak *mikrovesikulárním systémem transportována do Golgiho aparátu*, kde podléhá dalším posttranslačním modifikacím. Z terminální části Golgiho aparátu (*trans*-Golgi zóna) jsou pak lipoproteinové

agregáty (velikost 30 - 80 nm) transportovány ve formě sekrečních vesikul na basolaterální membránu enterocytů a hepatocytů (vaskulární - basolaterální pól obou buněčných typů) a secernovány do krve (lymfy). Vzhledem ke značné velikosti chylomikronových částic jsou finální sekreční vaky v enterocytech mnohem více zřetelné. *Proces sekrece lipoproteinů patří do kategorie sekrece konstitutivní.* Takto vzniklé lipoproteiny, představující mikroemulsi koloidních kapének, slouží jako vehikulum pro transport lipidů do periferních tkání.

Poznámky. MTP je heterodimer tvořený protein disulfid isomerasou (PDI) a další podjednotkou o 97 kD. Směr procesu v enterocytech jde od pólu apikálního (resorpce mastných kyselin z lumen) na basolaterální pól, kde je exocytosa; naproti tomu směr procesu v hepatocytech na krevním basolaterálním pólu začíná i končí.

Hepatocyty jsou spolu s adipocyty považovány za jediné dvě buňky schopné vytvářet rezervní depo tuku. Na tukovou tkáň (bílou tukovou tkáň) je vhodné pohlížet jako na "trvalé centrální depo", na hepatocyty jako na "přechodné depo distribuční", kde jsou připravovány transportní (lipoproteinové) formy tuku. Existují pozorování svědčící pro možnost sekrece lipoproteinů kardiocyty (byl v nich prokázán transkript jak pro Apo, tak pro MTP)

Patologie

Steatosa způsobená poruchou syntesy (asemblace) a sekrece lipoproteinů

Tato steatosa je v současném pohledu omezena na hepatocyty a enterocyty (buňky syntetisující lipoproteiny), které jsou v současné době jedinými známými elementy, schopnými syntetisovat a secernovat lipoproteiny krevní plasmy (viz. poznámka níže). Tukové kapky se skládají z TAG a nacházejí se v cytosolu (Obr.3, 4, 5).

Největší frekvence výskytu této steatosy je v *hepatocytech* (obr.3). K narušení vysoce koordinovaného procesu syntesy lipoproteinů v játrech může dojít za nejrůznějších okolností, např. nedostatkem lipotropních faktorů, porušením endoplasmatického retikula a tím syntesy apoproteinu B (nebo MTP viz. shora a níže), působením toxických látek, případně infekce. Genetické poruchy jsou zmíněny níže. Rozvoj této poruchy se manifestuje steatosou hepatocytu (enterocytu), při čemž k akumulaci tuku dochází v cytosolu (obr.4), tedy ve formě tukových kapének, jejichž propojení s membránou ER je prokázáno. Akumulace lipidů v lumen endoplasmatického retikula nebyla u tohoto stavu přesvědčivě prokázána. V tomto smyslu patří proces do kategorie poruch sekrece, definovaný poruchou asemblace komplexní molekuly v ER, způsobený ztrátou (nebo deficitem) komunikace mezi luminálními proteiny a cytosolární depositem TAG. Deposita TAG se tak mají tendenci zvětšovat a zaujímat větší oblasti postižené buňky (hepatocytu, enterocytu).

Velmi závažným stavem s vysokou incidencí je steatosa jater v rámci metabolického syndromu, nazývaná NAFLD (nonalcoholic fatty liver disease - nealkoholická steatosa jater), vcelku příznivě subklinicky probíhající jaterní steatosa, která ale může přejít dalšími doposud ne zcela dobře známými zásahy do progresivní závažnější NASH (nonalcoholic steatohepatitis - nealkoholická steatohepatitida). Je diskutována, mimo jiné, role mitochondriální a peroxisomální dysfunkce s produkcí volných radikálů. NASH je charakterizovaná excesem hromadění tuku, nekrosou hepatocytů se sekundární zánětlivou reakcí a s progresí do fibrosy a cirrhosy. Na subcelulární úrovni není mechanismus steatosy definován. Vše svědčí pouze pro to, že esterifikace mastných kyselin, které jsou za těchto stavů zvýšeně dopravovány do jater probíhá efektivně diacylglycerolacyltransferasou endoplasmatického retikula. Vážně pravděpodobně propojení mezi syntetizovanými proteinovými komponentami lipoproteinů v endoplasmatickém retikulu a cytosolární frakci TAG (viz. obr.5) a tím narušené asemblaci lipoproteinů. Nakolik je NAFLD/NASH (viz.

shora) patogeneticky heterogenní a nakolik jsou zodpovědné jiné genetické faktory není známo. O současném postižení enterocytů za těchto stavů neexistují žádná data.

Genetické poruchy procesu sekrece lipoproteinů

1. Defektní syntesa (asemblace) lipoproteinů v endoplasmatickém retikulu - retence TAG v cytosolu

V současnosti jsou známy poruchy způsobené **mutací v genu MTP** (viz. shora). Důsledkem je defektní asemblace VLDL v hepatocytech a chylomikronových částic v enterocytech. V obou buněčných typech se rozvíjí steatosa. Lipidní kapky jsou deponovány v cytosolu. ApoB je zvýšen na úrovni transkriptu, ale protein je degradován v ER nebo v proteasomu (jako důsledek jeho nevyužití v ER). Immunocytochemicky je ale v příslušných buňkách prokazatelný.

Sekundárně se rozvíjejí následky malabsorpce, avitaminosy E (myopatie, kardiomyopatie, neuropatie, retinopatie) a důsledky změny složení membránových lipidů erytrocytů (ostnité erytrocyty - akantocytosa)

Dále jde o autosomálně recesivní poruchu danou **mutací v samotném ApoB genu**.

Patogeneticky a fenotypově jde o poruchu blízkou deficitu MTP proteinu (viz. výše). Steatosa postihuje též hepatocyty a enterocyty. Tukové kapky jsou lokalizovány v cytosolu (Obr.5). Následkem je snížená sekrece lipoproteinu.

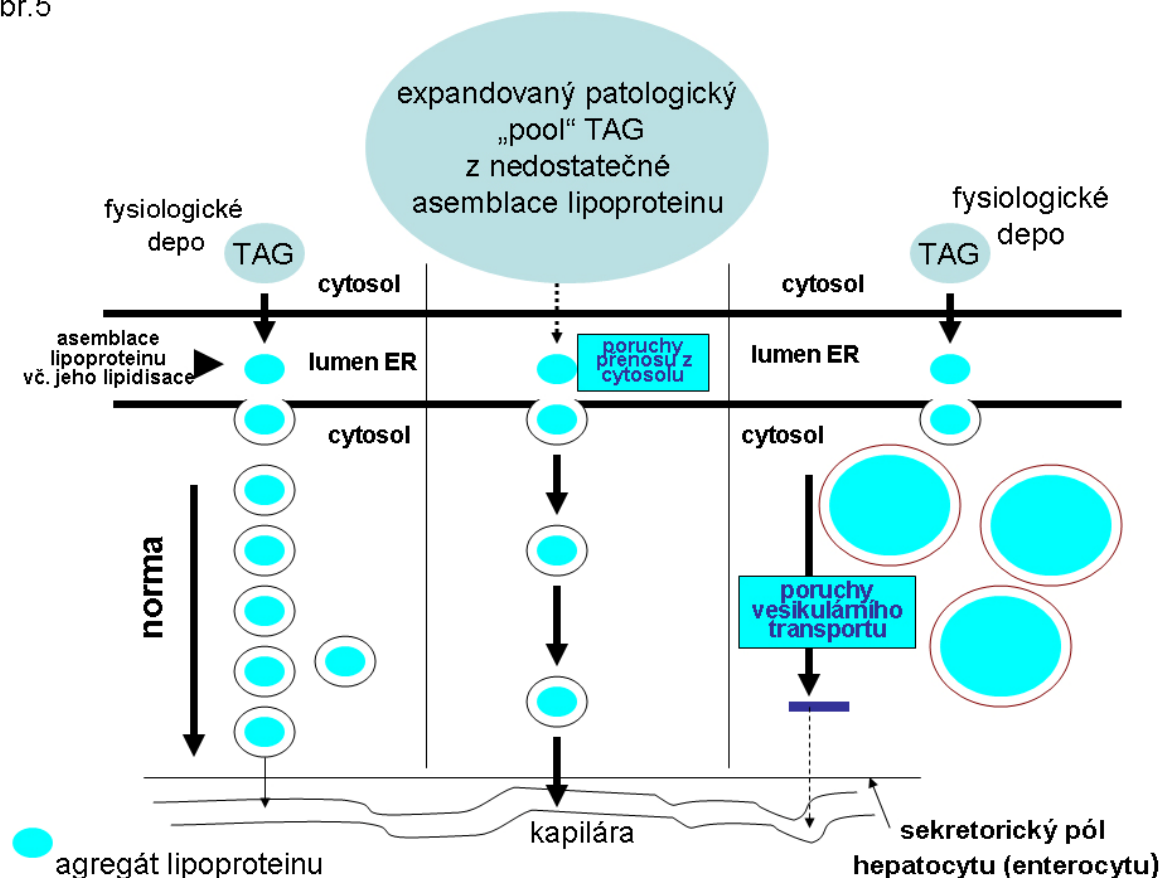
Porucha vesikulárního transportu lipoproteinů po jeho asemblaci v endoplasmatickém retikulu - retence lipidů v transportních vesiklích

2. *Chylomicron retention disease* je samostatná porucha omezená na enterocyty. Podstatou je porucha vesikulárního transportu asemblovaných chylomikronů transportními vesiklami z oblasti ER do Golgiho aparátu. Lipid se akumuluje v transportních vesiklích, které dosahují rozměrů rozpoznatelných v optickém mikroskopu (Obr.5). Mutace postihuje rab protein Sar1b kodovaný *SAR1B* genem (dříve zvaným SARA2). Tento protein se spoluúčastní v komplexu COP II proteinů na regulaci vesikulárního transportu z ER do Golgiho aparátu v enterocytech. V plasmě chybí chylomikrony a apoB48. Produkce hepatálních lipoproteinů (VLDL - ApoB100) probíhá nerušeně a jsou v séru prokazatelné. Nedávno bylo poukázáno na možnou manifestaci deficitu i v dalších orgánech (kosterním svalů, myokardu), vzhledem k tomu, že COP II komplex se účastní vesikulárního přenosu i mimo enterocyty.

Také je možno předpokládat, že budou identifikovány další varianty poruchy vesikulárního transportu chylomikronů z úrovně ER-Golgi (místo asemblace lipoproteinu) až k basolaterálnímu pólu enterocytu. Tím by spadala tato skupina poruch do široké kategorie poruch exocytosy (konstitutivní sekrece) a mohla by být v různém rozsahu spojena s poruchou exocytosy v řadě dalších buněčných typů.

Obr. 5. Schema základních mechanismů steatos daných poruchami syntesy a sekrece lipoproteinu

Obr.5



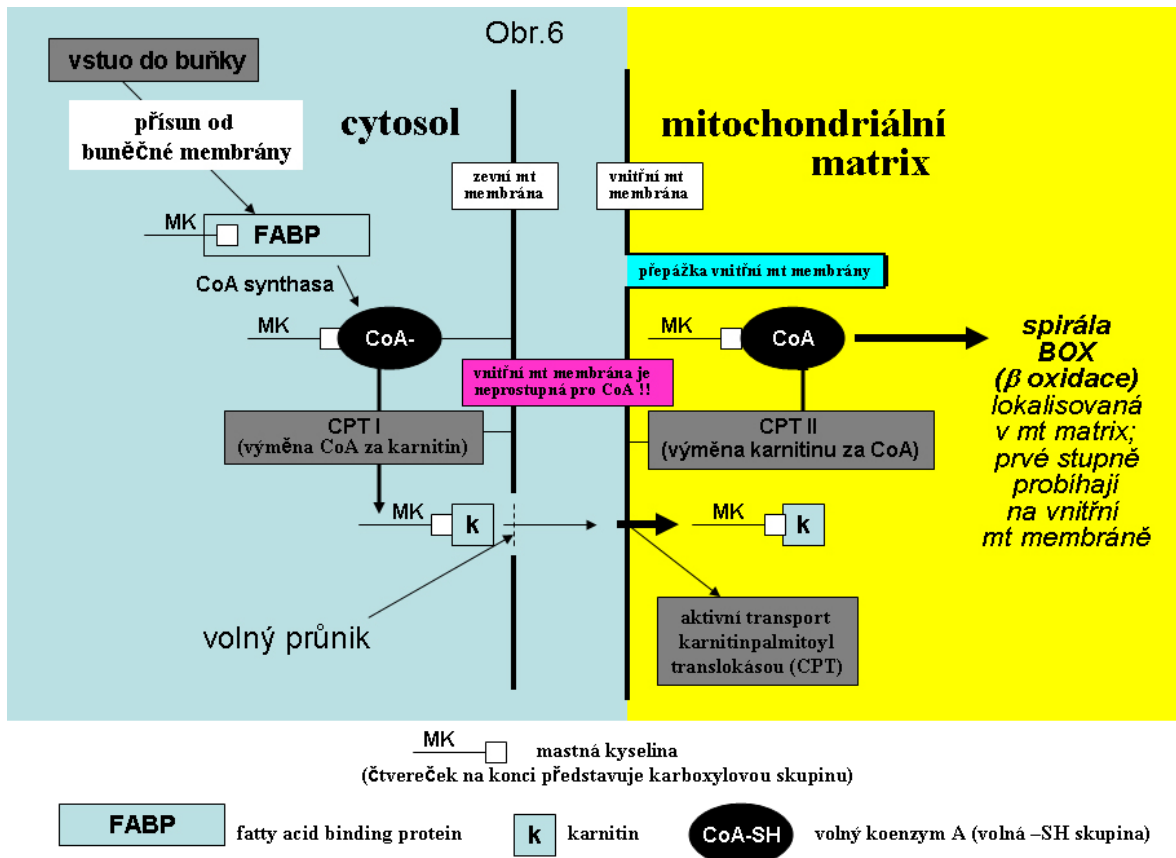
II. Mitochondriální beta-oxidace (BOX) mastných kyselin (MK) a její poruchy (na této části se podílel ing. Petr Chrastina, ÚDMP VFN)

Fysiologie

Přechod MK s dlouhým řetězcem (C18 -C12) přes buněčnou membránu je zprostředkován komplexem volně asociovaných proteinů, které přenášejí MK z albuminu, na který jsou vázány v krvi, do buňky. V cytosolu jsou MK vázány po průchodu buněčnou membránou na tkáňově specifické transportní proteiny a jimi jsou dále distribuovány. Transport MK s dlouhým řetězcem do mitochondrie je umožněn kaskádou enzymových reakcí. Nejdříve je mastná kyselina vázána na koenzym A. Následně je acyl MK přenesen na karnitin karnitinpalmitoyl transferasou I (CPT I). Tento přenos nevyžaduje aktivní transport vzhledem k poměrně volnému propojení vnitřního mezimembránového prostoru mitochondrie s cytosolem. CPT I se vyskytuje ve třech isoformách: jaterní, svalové a mozkové. Jaterní isoforma se liší tím, že je velmi citlivá na inhibici malonyl-CoA, což umožňuje v játrech dle energetických potřeb MK odbourávat nebo syntetizovat. Po této první konjugaci následuje aktivní přenos přes vnitřní membránu (translokasou) a pak znovu konjugace s koenzymem A (karnitinpalmitoyl transferasou II - CPT II) a následná β oxidace (viz. obr.6). Mastné kyseliny se středně dlouhým řetězcem (C12-C6) a s krátkým řetězcem (C4-C6) přechází do buňky a do mitochondriální matrix prostou difúzí. V mitochondriích probíhá proces tzv. β oxidace (BOX) mastných kyselin. Mastné kyseliny s dlouhým řetězcem, středně dlouhým řetězcem a krátkým

řetězcem jsou oxidovány odlišnými sadami enzymů, kódovanými z odlišných genů. Zkrácení MK o dva uhlíky probíhá vždy v 4 krocích: 1. dehydrogenace, 2. hydratace vzniklé dvojné vazby, 3. další dehydrogenace vzniklého hydroxyacylu a 4. thiolasa (jde de facto o acyl-CoA acyltransferasu, vnášející CoA do zbytku a odstraňující uvolněný acetyl vázaný na CoA). Poslední tři procesy jsou u mastných kyselin s dlouhým řetězcem katalyzované jediným, tzv. trifunkčním multienzymem, což je heterooktamer, složený ze 4 alfa a 4 beta podjednotek (u zkrácených řetězců jde o tři individuální enzymy).

Obr.6. Schéma procesů, podílejících se na transportu mastné kyseliny do β oxidační spirály



CoA synthasa a CPT I jsou vázány na zevní, CPT II a iniciální stupně BOX na vnitřní mt membrány; ester karnitinu údajně prochází póry zevní mt membrány, tedy bez specifického transporteru

V průběhu β -oxidace se uvolňuje sada acetyl-CoA, které přecházejí do Krebsova cyklu, dále z prvních fází β -oxidace (flavinové dehydrogenasy) jsou přenášeny redukované flavinové koenzymy (FADH₂) přes ETF (electron transfer flavoprotein) další dehydrogenasou (ETF-ubichinon oxidoreduktasou) do respiračního řetězce v místě ubichinonu. Redukované NADH z hydroxyacyldehydrogenasy třetí fáze β -oxidačního cyklu jsou přenášeny na komplex I respiračního řetězce. Z posledních dvouhlíkatých zbytků (acetyl-CoA) jsou syntetisovány ketolátky - aceton, acetoacetát a β -hydroxybutyrát (proces restringovaný na játra). β -hydroxybutyrát je předáván do cirkulace a je využíván celou řadou tkání, zejména neurony. V nich je β -hydroxybutyrát redukován na acetoacetát, kondensován s CoA a spálen v Krebsově cyklu.

Poruchy beta oxidace (BOX; v anglosaské lit. FAO - fatty acid oxidation)

Porucha se projevuje zvláště intensivně v buňkách s vysokou energetickou spotřebou, pro které jsou vodíkem bohaté řetězce mastných kyselin energeticky nejvhodnějším substrátem. Jde zejména o srdeční a kosterní sval, ledviny a hepatocyty. Akumulované, neutilizované MK s normální délkou řetězce (C16-C18) jsou v cytoplasmě okamžitě reesterifikovány na TAG a ve formě kapének deponovány v cytosolu buňky. Paralelně mohou být kondensovány s karnitinem a vylučovány jako acylkarnitiny. Kapénky TAG mají tendenci být vázány k mitochondriím, což je zvláště dobře patrné v buňkách s topicky segregovanými mitochondriemi (např. basální žihání v buňkách proximálně stočených kanálků).

Porucha je způsobena následujícími základními mechanismy:

- poruchy transportu MK do mitochondrií nejčastěji v důsledku deficitu karnitinu nebo deficitu jednoho z enzymů, které se podílejí na transportu MK přes mitochondriální membránu (CPT I, CACT, CPT II). Popsána byla i porucha vstupu mastné kyseliny do buňky.*
- deficit karnitinu může být získaný, ke kterému dochází většinou detoxikačním mechanismem (deplece karnitinu), nebo primární u defektu proteinu, který aktivně přenáší karnitin přes buněčnou membránu. Vzácně jsou popsány stavy způsobené i dědičnou poruchou syntesy karnitinu.*
- defektem β oxidace mastných kyselin (defekt postihuje enzymy účastnící se oxidační spirály: dehydrogenasy, hydratasa, hydroacyldedehydrogenasa, thiolasa)*
- defektem přenosu elektronů z flavinových dehydrogenas do dýchacího řetězce pomocí ETF (elektrony přenášející flavoprotein) dehydrogenasy. Jde o mnohočetný defekt flavinových dehydrogenas (zvaný též glutarová acidurie II typu)*
- sem patří i poruchy ketogenese a ketolysy, odehrávající se až po beta oxidační spirále*

Primární dědičné poruchy mitochondriální β oxidace se manifestují ve všech typech poruch (s výjimkou deplece karnitinu). Mezi nejčastější patří deficit acyl-CoA se středně dlouhých řetězcem (MCAD) a 3-hydroxyacyl-CoA s dlouhým řetězcem (LCHAD).

Obr. 7. Přehled definovaných genetických poruch

Deficitní protein	Zkratka	Rok popsání	MIM
Karnitinový přenašeč	CTD	1988	212.140
Přenašeč mastných kyselin přes cytoplasmatickou membránu	FATP	1998	-
Karnitinpalmitoyltransferasa I +	CPT I	1988	255.120
Karnitin:acylkarnitintranslokasa	CACT	1992	212.138
Karnitin:palmitoyltransferasa II	CPT II	1973	255.110
Dehydrogenasa acyl-CoA s krátkým řetězcem	SCAD	1987	201.470
Dehydrogenasy acyl-CoA se středně dlouhým řetězcem	MCAD	1982	201.450
Dehydrogenasy acyl-CoA s dlouhým řetězcem	VLCAD	1993	201.475
Dehydrogenasy acyl-CoA s dlouhým řetězcem ACAD9	ACAD9	2007	611.126

Dehydrogenasa 3-hydroxyacyl CoA s krátkým řetězcem	SCHAD	1991	601.609
Dehydrogenasa 3-hydroxyacyl CoA s dlouhým řetězcem	LCHAD	1989	600.890
Mitochondriální trifunkční protein++	MTP	1992	143.450
Dehydrogenasa elektrony přenášejícího flavaproteinu	MAD ETFQO	1985	231.675
α podjednotka elektrony přenášejícího flavaproteinu	MAD α -ETF	1985	231.680
β podjednotka elektrony přenášejícího flavaproteinu	MAD β -ETF	1990	130.410
2,4-dienoyl-CoA-reduktasa	DER	1990	222.745
Thiolasa 3-ketoacyl-CoA se středním řetězcem	MCKAT	1997	602.199
3-hydroxy-3-metylglutaryl-CoA-syntasa	HMG-CoA S	1997	142.940
3-hydroxy-3-metylglutaryl-CoA-ligasa	HMG-CoA L	1976	246.450

+ existují 3 isoenzymy CPT I jaterní (CPT IA), svalová (CPT IB) a mozková (CPT IC)

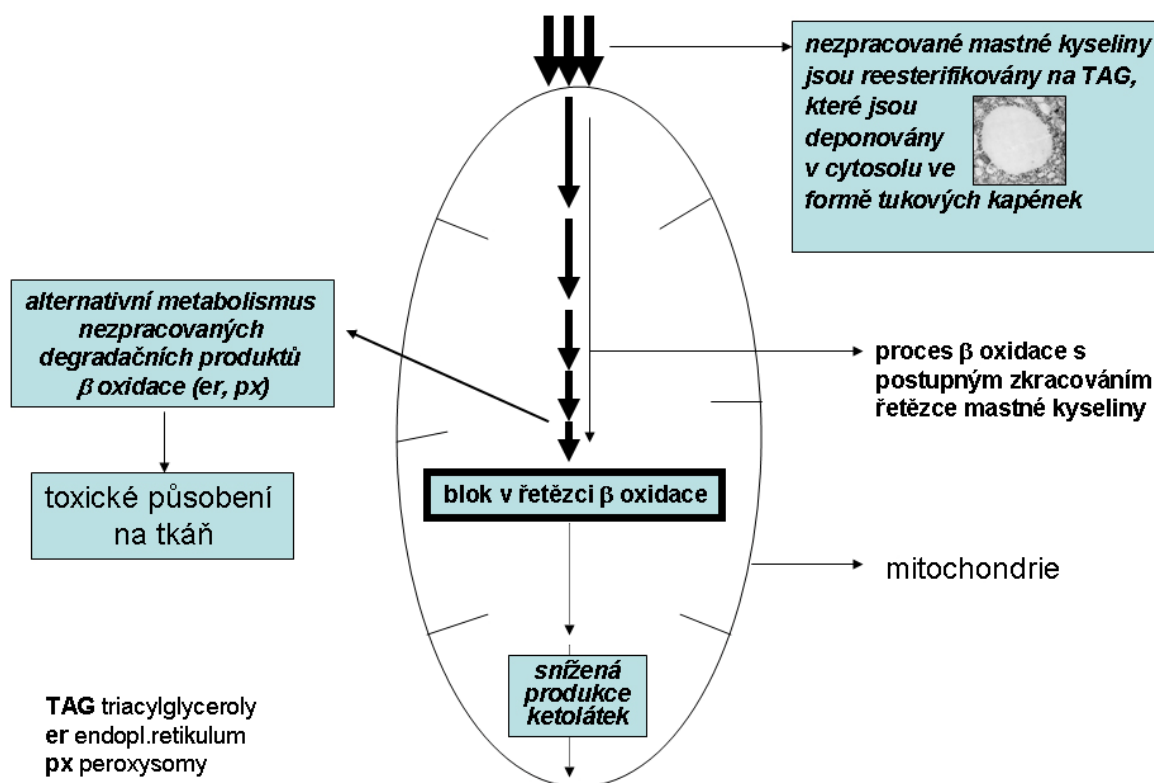
++ jde o oktamer složený ze 4 podjednotek alfa a 4 podjednotek beta

Nutno dodat, že deficit beta oxidace může být sekundární v případě primárních genetických poruch oxidativní fosforylace. Získané poruchy při hypoxii, ischemii, jsou popsány na konci této části

Histologicky a v mnoha případech i makroskopicky viditelná steatosa je výrazem celkově sekundárně inhibované beta oxidace, způsobené nejspíše vyvázáním koenzymu A neoxidovatelnými mastnými kyselinami. Z toho resultuje nespecifické hromadění běžných mastných kyselin (C16, C18) a jejich reesterifikace na TAG, přestože primárně nejsou enzymy β oxidace na úrovni jejich délky řetězce postiženy.

Při poruchách β -oxidace mastných kyselin dochází k depleci poolu volného koenzymu A, protože je vázán na nezpracované acyly mastných kyselin. Koenzym A je proto uvolňován přenosem acylů MK na karnitin nebo glycin za tvorby acylkarnitinů a acylglycinů působením různých transferas v mitochondriální matrix. Vzniklé acylkarnitiny se hromadí v buňkách a zejména ty s dlouhým řetězcem mohou působit toxicky. Acylglyciny a zejména acylkarnitiny s navázanou mastnou kyselinou s krátkým nebo středně dlouhým řetězcem jsou vyloučeny do moče. V buňce jsou acylkarnitiny s mastnou kyselinou s dlouhým řetězcem také transportovány do peroxisomů. V peroxisomech jsou MK s dlouhým řetězcem odbourávány jinou sadou enzymů β -oxidací až na kyselinu oktanovou za vzniku acetyl-CoA, peroxidu vodíku, ale bez tvorby ATP. Větvené MK jsou v peroxisomech odbourávány α oxidací. MK se středním řetězcem, jejichž zdrojem mohou být také acylkarnitiny z mitochondrie, mohou podléhat mikrosomální ω -oxidaci za vzniku dikarboxylových kyselin. Ty jsou pak β -oxidací v peroxisomech odbourávány na dikarboxylové kyseliny s krátkým řetězcem a vyloučeny do moče (viz. obr. 8).

Obr. 8. Schema základních procesů při poruše β -oxidace v mitochondrii



Nejvýznamější orgánová patologie u poruch beta oxidace

Porucha je míněna v nejširším slova smyslu, tj. zahrnuje vše před vlastním procesem oxidační spirály (transport mastné kyseliny do mitochondrie) a po ní (ketogeneze)

hepatopatologie: steatosa ([obr.9](#)), ([obr.10](#)), ([obr.11](#)), ([obr.12](#)), ([obr.13](#)), selhání jater, cirrhosa jater

kardiopatologie: steatosa, hypertrofická kardiomyopatie, endokardiální fibroelastosa, poruchy vodivého systému

neuropatologie: edém mozku, residuální změny po atakách mozkového edému, periferní neuropatie (senso-motorická), pigmentová retinitis (retinální pigmentový epitel je velmi citlivý na deficienci BOX)

myopatologie: klinicky obraz myopatie, často s atakami rabdomyolysy, histologicky steatosa ([obr.15](#)) (nemusí být vyznačena, nebo jen nevýrazně) takže mohou být přítomny pouze nespecifické změny.

Popisovány jsou i nefrologické poruchy (tubulopatie) až selhání ledvin; běžná je steatosa kanálkového epitelu ([obr.14](#))

Relativní příznačnost patologického nálezu může být snížena minimálním stupněm steatosy.

Klinický průběh poruch beta oxidace je často v atakách hypoketoticko-hypoglykemických stavů, vyvolaných hladověním nebo infekcí, při kterých nastane mobilizace MK z tukové tkáně a jejich transport do jater a orgánů a tím k deficitním mitochondriím. Řada případů tzv. Reyova syndromu (hepatocerebrální syndrom charakterizovaný selháním jater a mozkovým edémem) nebo syndromu náhlých úmrtí je vysvětlitelná dědičnými poruchami beta oxidace. Projevy těchto poruch, centrovány na játra (jaterní selhání) a mozek (mozkový edém) jsou pravděpodobně způsobeny toxickými alternativními produkty poruchy beta oxidace. Značnou

roli hraje i hypoglykémie, která je integrálním nálezem v atakách. V řadě případů je průběh kontinuální s případnými exarbacemi (viz. shora). Léčba: zvládnutí hypoglykémie.

Orgánová manifestace je velmi různá. Kolísá od adultních myopatických forem s rekurentní rabdomyolýsou, nebo hypertrofickou kardiomyopatií po fetální hydrops.

Získané stavy - zdaleka nejčastější příčinou je ischemie (nedokrevnost), hypoxie a anoxie. Ischemie myokardu je vždy provázena steatosou kardiocytů. Krajiní stav ischemie - infarkt má vždy nažloutlou barvu díky výrazné steatose, která se v těžce ischemizovaných vláknech rozvíjí. Klasickým celkovým projevem hypoxie je obraz tzv. tygrovaného srdce - nejčastěji následek výrazné anemie, vysvětlovaný jako akcentace hypoxie (a tedy steatosy) v okřscích srdečního svalu v blízkosti venosního konce kapiláry, kde došlo k výraznému snížení tense kyslíku ([obr.16](#)). Se steatosou podmíněnou ischemií se lze setkat i v dalších orgánech (okraje infarktů, tzv. "muškatová játra" u těžkých jaterních venostas provázejících srdeční selhání)

III. Degradace lipidů v lysosomech a její poruchy

Za normálních okolností jsou lipidy v lysosomech hydrolyzovány na sfingosin, glycerol, mastné kyseliny, hexosy, sulfát a cholesterol sadou lysosomálních kyselých hydroláz (lipáz, fosfolipáz, glykosidáz, sulfatáz). Produkty difundují přes lysosomální membránu a jsou buňkou reutilisovány. Dokonalá funkce lysosomálního aparátu je prevencí lysosomální steatosy (obecně akumulace lipidů v lysosomech). Jedinou výjimkou je cholesterol, který je postlysosomálně reesterifikován a jeho kapky mohou být i po různé dlouhou dobu v cytosolu deponovány (viz. dále).

Poznámka

V kapitole pojednávající o lysosomálním systému bude zmíněna nedávno definovaná funkce přenosu lipidů z lysosomálních membrán do dalších kompartmentů buňky (lipid trafficking), jejíž porucha vede k akumulaci nejrůznějších lipidů i přes přítomnost příslušných hydrolas.

Akumulace lipidů na podkladě lysosomální dysfunkce

1. *poruchy získané (tendence k reversibilitě)*
2. *poruchy geneticky podmíněné (enzymopatie, strádací poruchy ireversibilní - lipidosisy)*

1. Získané stavy jsou spojeny s intenzivní endocytosou nebo fagocytosou

(dřívější termín resorpční steatosa; pojem resorpce sdružuje jak fagocytosu, tak endocytosu)

Za normálních okolností je endocytovaný, či fagocytovaný materiál kompletně hydrolysován baterií lysosomálních hydrolas na základní molekuly, které jsou recyklovány po přestupu lysosomální membrány. Dočasně expandovaný systém lysosomálních membrán je následně redukován a převeden do původního, resp. klidového stavu.

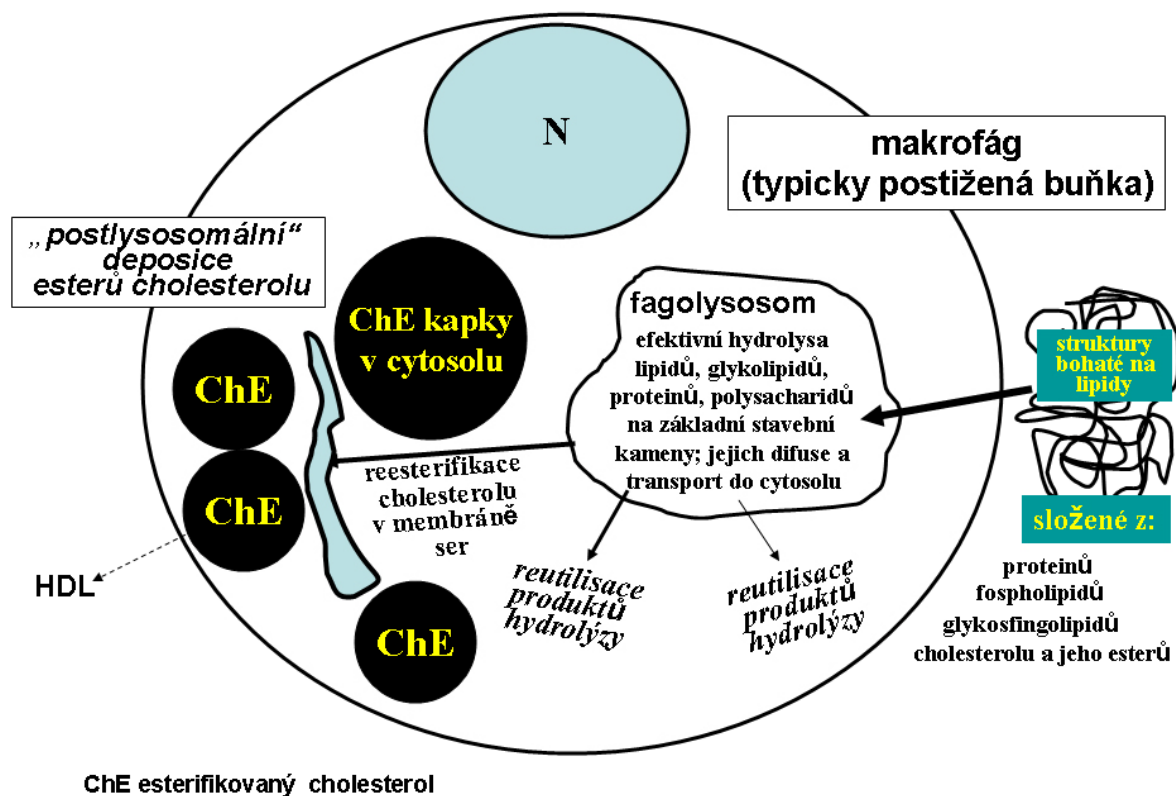
a. Za některých patologických okolností může dojít k parciální (relativní, dočasné) lysosomální nedostatečnosti, způsobené zvláště intenzivní endocytosou lipidů a to buď ve formě lipoproteinů nebo struktur bohatých na lipidy (krevní destičky, erytrocyty, myelin, ap.). Tato steatosa se tedy týká prakticky výlučně histiocytů, které se mění na pěnivé buňky (foam cells) s lysosomy vyplněnými lipidem, případně jiným materiálem (výjimky viz. níže). Lipidy jsou tedy za tohoto stavu retinovány pro zpomalenou hydrolysu intralysosomálně (kapky jsou ohraničeny jednoduchou membránou). Jejich intralysosomální spektrum je

určeno typem endocytovaného materiálu a časovým faktorem, neboť existují rozdíly v rychlosti hydrolysy jednotlivých lipidních typů.

stavy: jde o stavy s deposicí pěnitých histiocyťů (foam cell syndrom), který může rozsahem v některých případech připomínat primární lysosomální strádací proces. Může být přítomno různé množství lipopigmentu. Celý proces je lokalizován pouze v makrofázích - tedy bez postižení ostatních buněčných typů. Jeho maximum je ve slezině (obr.18), (obr.19), ale pěníte buňky mohou být i v játrech a zejména ve dřeni kostní (obr.17). Stavy při kterých k této situaci dochází: poruchy charakterizované nadměrnou fagocytosou trombocytů (idiopatická trombocytopenie) nebo lipoproteinů (dyslipoproteinemie, hyperlipoproteinemie). Znalost těchto stavů je důležitá pro efektivní diferenciální diagnózu primárních lysosomálních strádacích poruch.

b. excesivní převážně "postlysosomální" akumulace lipidů. Velmi časté jsou situace, kdy dominantním endocytovaným/fagocytovaným lipidem je cholesterol (nebo jeho estery). Po průniku do lysosomálního lumen z cytosolu je reesterifikován příslušnou acyltransferasou (cholesterolacyltransferasa v membránách endoplasmatického retikula) na ester a deponován ve formě kapénky esterů cholesterolu bez limitující membrány. Termín "postlysosomální" naznačuje sled změn: endocytosa - lysosomální kompartment - průnik do cytosolu (viz. obr.20). Odlišuje tak tuto cestu také od stavů, kdy se v cytoplasmě vyskytují kapénky esterů cholesterolu, aniž by byla cesta vedoucí jejich deposici prokázána (viz. níže). Další osud cytosolární kapénky esterů cholesterolu je omezen vzhledem k nemožnosti buněk metabolizovat sterolové jádro cholesterolu (s výjimkou buněk syntetizujících steroidy). Klíčovým momentem je tak extrakce cholesterolu pomocí plasmatických HDL (vysoce densních lipoproteinů).

Obr.20. Steatosa po excesivní endocytose/fagocytose struktur bohatých na cholesterol („postlysosomální“ steatosa)



Situace

a. Lipidní fagocyty v nekrotických oblastech mozku

Za těchto stavů dochází k nestabilitě myelinu, který je fagocytován mikroglíálními fagocyty. V jejich fagolysosomech jsou veškeré komponenty myelinu efektivně degradovány na jednotlivé stavební kameny, které difundují (nebo jsou aktivně transportovány) přes lysosomální membránu do cytosolu, kde jsou použity pro další procesy a tedy nedochází k jejich akumulaci. Jedinou výjimkou je cholesterol, který, pokud je akumulován v lysosomech, je transportován (doposud ne zcela definovaným mechanismem; významnou roli zřejmě hrají NPC proteiny) do membrán endoplasmatického retikula, kde je esterifikován (viz. shora ACAT - acyl-koenzym A:cholesterol acyltransferasa) a deponován ve formě tukové kapky v cytosolu (viz. shora biologie tukové kapky). Výsledkem je tedy "postlysosomální" akumulace esterů cholesterolu ve formě kapének, které se barví sudanovými barvivy jako granula - zrněčka. Odtud historický název zrněčkové buňky ([obr.21](#)).

Pokud nejde o deficit lysosomálního enzymu štěpícího některý ze sfingolipidů myelinu (arylsulfatasy A - deficitní u metachromatické leukodystrofie nebo galaktocerenosidasy, deficitní u Krabbeho nemoci) dochází k hromadění tohoto lipidu jako projevu lysosomálního strádání na podkladě enzymopatie. Nutno podotknout, že k akumulaci esterů cholesterolu v detekovatelném množství nedochází

b. Lipidní fagocyty v dalších tkáních

Lipidní fagocyty nabité cytosolárními kapkami esterů cholesterolu jsou známé v řadě dalších stavů, kdy dochází k zvýšené fagocytose lipidů s příměsí esterů cholesterolu, nebo volného cholesterolu, např. ve sliznici žlučníku (cholesterolosa žlučníku) ([obr.22](#)), v chronických abscesech (pseudoxanthom), v aterosklerotických plátech. Lipidní fagocyty ve žlučníku jsou výrazem endocytosy žluče bohaté cholesterolem.

Přestože jde o akumulaci esterů cholesterolu v cytosolu ([obr.23](#)), mohou být přítomny známky aktivovaného lysosomálního systému, který hraje centrální roli v tomto mechanismu steatosy. Nemůže být překvapením, že mohou být v lipidních fagocytech detekovatelné lysosomy obsahující lipid nebo jiné látky, pocházející z fagocytovaného materiálu. U všech těchto stavů může být i sekundárně zmnožen paralelní intralysosomální produkt - lipopigment typu ceroidu, zvláště dojde-li k prodloužení fáze intralysosomální digesce. Důvodem je přetížení lysosomálního systému.

poznámky. I jiné buňky s výraznou endocytickou schopností mohou steatosu tohoto typu vykazovat. Jde zejména o hepatocyty (intenzivní endocytosa lipoproteinů) nebo buňky proximálních kanálků ledvin (endocytosa lipoproteinů při patologické propustnosti glomerulárních basálních membrán).

Analogická situace jako ve shora zmíněných situacích (charakterizovaných akumulací esterů cholesterolu) může nastat s TAG, i když tyto situace jsou výjimečné (fagocytosa málo densních lipoproteinů nebo tukové tkáně). Může dojít i ke kombinované akumulaci ChE i TAG, podle situace (např. v aterosklerotických plátech)

3. poruchy geneticky podmíněné (enzymopatie, strádací poruchy - lipidosy)

Dle ustálených zvyklostí jsou dědičné enzymopatie nazývány *lipidosami*, nebo strádacími onemocněními. Termín strádací je dán biologickou výjimečností této skupiny, protože akumulovaný substrát se hromadí v uzavřeném kompartmentu deficitního enzymu, v tomto případě v lysosomech, které se následkem toho expandují a podmiňují proces zvětšování buňky a následně i orgánu. Detailně jsou tyto poruchy probrány v části pojednávající o fyziologii a patologii lysosomálních strádacích poruch. Již zde je vhodné připomenout, že tyto genetické poruchy jsou dány velkou skupinou enzymopatií a menší, ale velmi významnou skupinou deficitu nekatalytických proteinů, které zajišťují transport z lysosomu do cytosolu,

transport membránových lipidů buňkou nebo reprezentují funkce, které nebyly doposud definovány

IV. Další mechanismy vedoucí k deposici lipidů v buňce

Zvýšený přísun mastných kyselin mobilisací z tukové tkáně

V případě zvýšeného přísunu mastných kyselin z plasmy, klasicky při mobilizaci z tukové tkáně, např. při hladovění, nebo u nedostatečné utilisovatelnosti cukrů; jde o kombinaci nedostatečně rychlé mitochondriální utilizace s nedostatečnou asemblací na lipoproteiny a jejich sekrecí. V obou případech se z nadbytečných mastných kyselin vytvoří depo TAG, jehož drenáž je zřejmě možná zvýšením sekretorického procesu (pokud by byla vystupňována transkripce příslušných apoproteinů. Játra v tomto smyslu slouží jako rezervní depo (viz. úvod kapitoly).

Deficitní transport cholesterolu z buněk

Tangierská nemoc. Jde o deficit transportu cholesterolu z buněk, podmíněný mutací ABCA1 transportéru cholesterolu. Tento na sebe váže HDL apolipoprotein A1 ve stavu, kdy obsahuje malé množství lipidů, předá cholesterol, který obohacuje partikuly lipoproteinu a je transportován do jater (RTC reverse cholesterol transport). Pokud je tento transportér mutován je transport cholesterolu z buněk inhibován, cholesterol v esterifikované formě je retinován v cytosolu buněk a přeměňuje se na buňky pěníte, srovnatelné s "postlysosomální akumulací" u excessu endocytosy (viz. shora). Cholesterol je retinován v makrofázích (splenomegalie, obrovské žluté tonsily, sinusové buňky jater, atd.), ve Schwannových buňkách (neuropatie), ale ne v dalších buněčných typech, ve kterých se tedy nedostatečná extrakce cholesterolu zřejmě musí manifestovat jiným způsobem než jeho retencí v esterifikované formě v cytosolu. Jelikož lysosomální systém není při této poruše ve hře, není tendence k tvorbě ceroidu, i když trvání poruchy je velmi dlouhé. Nedostatečná "lipidisace" HDL apoproteinů vede k jejich akcelerované degradaci, což vysvětluje jejich nízkou hladinu v plasmě

Poruchy hydrolýzy TAG v cytosolárních kapkách (viz. shora biologie tukové kapky)

Chanarin-Dorfmanův syndrom (je charakterizován prakticky generalizovanou deposicí TAG v cytosolu nejrozličnějších typů buněk: keratinocytů, Langerhansových buněk, buněk hladkého svalstva, dermálních fibroblastů, Schwannových buněk, ve vláknech kosterního svalstva, v enterocytech, z epitelu žaludeční sliznice, v granulocytech a monocytech. Velmi postižené jsou hepatocyty (hepatomegalie, steatohepatitis), epidermis (ichtiosa, erythrodermie). Pro dg. je důležitý fenomén steatosy periferních granulocytů (Jordanova anomálie - přítomna údajně i u nosičů poruchy) a keratinocytů v biopsii kůže. Hladiny krevních lipidů nejsou změněné. Jde o geneticky podmíněnou poruchu autosomálně recesivního typu, jejíž podstatou je mutace CGI-58 proteinu (ABHD5, který se váže na lipasu štěpící TAG a umožňuje její aktivitu (viz. shora). Porušena je degradace TAG cytosolární tukové kapky (viz. shora). Mechanismus ichtiosy není uspokojivě vysvětlený. *Strádání neutrálních lipidů (neutral lipid storage disease)* je porucha velmi blízká Chanarin-Dorfmanovu syndromu tím, že jde stejně tak o akumulaci TAG v cytosolu buněk, ale na podkladě deficitu samotné lipázy štěpící cytosolární TAG (PNPLA2, zvaná též ATAGL, viz. shora). V klinickém fenotypu chybí ichtiosa.

Patogeneticky nejasné akumulace esterů cholesterolu z buněk

Erdheimova Chesterova nemoc je charakterizována popisně jako histiocytární infiltráty z pěnovitých histiocytů s cytosolárními kapénkami převážně z esterů cholesterolu (odtud název xanthogranulomatosní léze). Průvodní složkou je fibroplazie. Jak řečeno, dominuje

extralysosomální akumulace lipidů. Proto je deposice ceroidu spíše okrajová, nebo výjimečná. Příčina akumulace lipidů v makrofázích není jasná. Ložiska se vyskytují zejména v kostech, plicích, retroperitoneu ([obr.24](#), [25](#)), ale i dalších lokalizacích, včetně CNS.

Analogická patogeneticky nejasná cytosolární akumulace esterů cholesterolu je v Langerhansových buňkách v rámci *Hand-Schüller-Christianovy histiocytosis X*. ([obr.26](#), [27](#))

Steatosy dané komplexními mechanismy

- masivní steatosa jater u *glykogenosy I* (viz. poruchy metabolismu glykogenu)
- steatosa velmi často postihující hepatocyty u *dekompensovaného diabetu* postrádá jednoznačné vysvětlení. Pro tuto metabolickou poruchu je typická převaha glukagonu s mobilisací MK, jejich zvýšený transport do jater a intenzivní oxidace v mitochondriích s produkcí ketolátů. Glykolýza a syntéza mastných kyselin jsou přímo inhibovány glukagonem (tím dochází ke snížení malonyl CoA a k odbrzdění beta oxidace, která však může být samo o sobě relativně nedostatečná)
- *jaterní steatosa vyvolaná ethanol* má komplexní a ne zcela jasně definovatelnou patogenesu. Předpokládá se poškození membrán endoplasmatického retikula volnými radikály nebo acetaldehydem. Zvýšená produkce acetylkoenzymu A může vést k zvýšené syntéze mastných kyselin (opět cestou malonylkoenzymu A) a bloku jejich beta oxidace

Steatosa u hyperlipoproteinemií

Bereme-li krevní systém jako samostatný kompartment, pak nutno považovat tzv. hyperlipemii za analogii steatosy (extracelulární). Problém mechanismu vzniku hyperlipoproteinemií, ev. dyslipoproteinemií je natolik speciální, že se vymyká zaměření této kapitoly, která je zaměřena na jejich následky.

Část lipoproteinu může být odstraněna nespecifickou endocytosou histiocytárními elementy. Experimentálně bylo dokázáno, že po modifikaci lipoproteinů (např. oxidací, modifikací lysinových zbytků) se vytvářejí patologické ligandy, pro které mají histocyty receptory, což má za následek zvýšenou resorpci lipoproteinu cestou receptorově zprostředkované endocytosy. Oxidované lipoproteiny však mohou být toxické pro celou řadu buněk, zejména pro endotelie.

Zvýšená hladina lipoproteinů má za následek několik velmi závažných komplikací:

- kožní xantomy a rozsáhlou deposici lipidů (zejména, ne-li výlučně esterů cholesterolu) v histocytech RES ([obr.28](#))
- různě vyjádřené vychytávání v tkáňových makrofázích, zejména sleziny, jater ([obr.29](#)), dřeně kostní, které lze definovat jako sekundární "foam cell syndrom", imitující do značné míry, primární lysosomální lipidní stádání. To může představovat významný diferenciálně diagnostický problém (viz. shora)
- akceleraci aterosklerotického procesu
- tzv. akutní nekrozu pankreatu (mechanismus neznámý)
- ukládání lipidů extracelulárně do rohovky (tzv. arcus senilis corneae) a do bubínku (arcus senilis myringis) jsou nejméně závažné komplikace.

Steatosy v nádorech

Tyto jsou až na výjimky kopírováním metabolických cest výchozí tkáň.

- nádory z adipocytární řady - *lipomy, liposarkomy* - exprimují úměrně stupni diferenciace schopnost deponovat TAG (isotropní lipidní kapky).
- velmi často je přítomna karikatura laktace v *karcinomech mléčné žlázy*. Dominantním tukem jsou TAG, provázené kaseinem. Stupeň může značně kolísat. Mírné změny vyžadují cílenou histochemickou detekci nebo elektronoptické vyšetření. Masivní změny jsou patrné i na histologické úrovni a podmiňují zčásti i makroskopický (ateromový) vzhled nádorových čepů.
- nevýraznou tendenci ke steatose se vyznačují karcinomy hepatocelulární.
- *karcinomy kůry nadledvin* mohou imitovat intenzivní akumulaci esterů cholesterolu na podkladě trvající výrazné endocytosy LDL, kterou se vyznačuje výchozí korový spongocyt. Stejně tak nádory vycházející z endokrinně aktivních *tkání ovaria a varlete*.
- nádory *histiocytární řady* mohou v některých případech vykazovat steatosu s dominancí esterů cholesterolu (anisotropní steatosa). Podobné změny jsou i u variant nádorů z histiocytární řady X (Langerhansovy histiocyty) jak zmíněno shora.
- pěníte histiocyty, bohaté opět na estery cholesterolu, jsou časté ve *stromatu některých karcinomů* (endometria, ledvin). Vysvětlení je opět obtížné. Vazba na lipoproteiny plasmy je hypotetická.
- velmi výrazná steatosa je v *karcinomech ledvin* (pokud nejde o tzv. onkocytární varianty). Dominantním lipidem jsou TAG, provázené značným množstvím glykogenu. Tyto změny nápadně připomínají hepatocelulární změny u glykogenos, zejména u deficiencie glukoso-6-fosfatasy.

Kvalitativní změny lipidního spektra

Jde o ty stavy, za kterých dochází k nadměrné akumulaci abnormálních lipidů, např. prekursorů cholesterolu nebo abnormálních mastných kyselin v lipidech buněčných membrán. Tím jsou silně narušeny fyzikální vlastnosti membrán a dochází k regresi buněk, aniž by docházelo k vytvoření patologické samostatné lipidní fáze ve formě kapének, jako u shora zmíněných steatos.

Klasicky je tomu u *defektů peroxisomální oxidace mastných kyselin* s velmi dlouhým řetězcem (C26:0, C:24 - jejich koncentrace a poměry mezi nimi a C:22 jsou dány v příslušných příručkách klinické biochemie). Nedostatečná peroxisomální oxidace vede k nadměrné akumulaci těchto mastných kyselin s velmi dlouhým řetězcem a k jejich včleňování do membránových lipidů nejružnějšího druhu. Nelze vyloučit ani nadměrnou acylaci proteinů akumulovanými mastnými kyselinami za těchto stavů. Podle současných představ toto vede k abnormálním fyzikálně chemickým vlastnostem membrán a ke snížené vitalitě buněk. Jde tedy o postižení mnohem významnější než u klasické steatosy (viz. výše). Za těchto stavů dochází k akumulaci krystalků esterů těchto dlouhých mastných kyselin s cholesterolem v cytoplasmě. Nejasná je také povaha zvláštních štíhlých lístkovitých membránových formací, které jsou některými autory považovány za místo akumulace velmi dlouhých mastných kyselin. Jsou však zcela resistantní i na nejsilnější způsoby extrakce. Nejvíce postižené jsou kortikální epitelie nadledviny, Leydigovy buňky a myelin, který se stává nestabilním a je odbouráván, což vede k leukodystrofii. Vzhled postižených buněk je necharakteristický. V cytologickém obraze mohou dominovat lístkovité membránové inkluze lokalizované velmi

často v lysosomech ([obr. 30](#)). Povaha těchto formací je neznámá; vzdorují nejagresivnějším lipidním extrakcím.

Analogický stav existuje u *cerebrotendinosní xanthomatosy*, způsobené poruchou syntesy žlučových kyselin v játrech. Akumulovaný intermediární produkt - cholestanol - se inkorporuje do buněčných membrán, zejména do myelinu, což vede k jeho nestabilitě a rozpadu.

Syndrom *Smith-Lemli-Opitz (SLO)*. Jde o defekt v terminální fázi syntesy cholesterolu na podkladě deficitu 3β hydroxysteroid Δ^7 reduktázy). Předpokládá se, že pravděpodobně vede, zatím ne zcela jasným způsobem, ke změnám lipidních membránových mikrodomén. V nich hraje přítomnost cholesterolu velmi významnou roli, která může být narušena interferencí 7 dehydrocholesterolu

V. Dodatečné poznámky

Makroskopie.

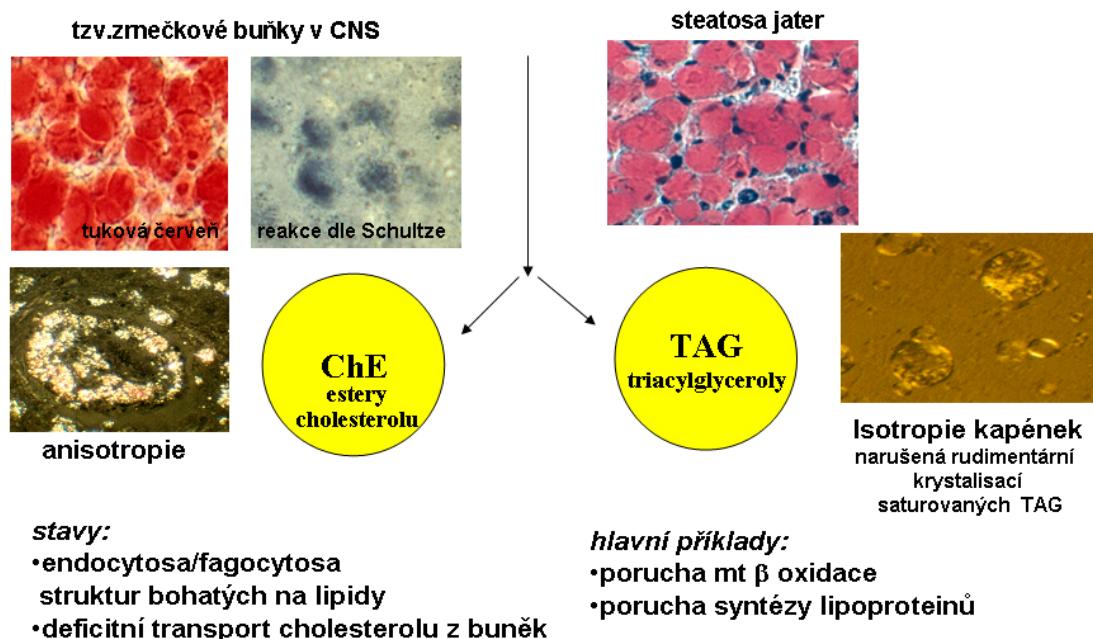
Dosáhne-li steatosa značného stupně, je patrná i makroskopicky. Postižené orgány jsou žluté (v případě nepochybných steatos - příčinou je pravděpodobně jak stupeň nenasycenosti lipidů, tak příměs karotenoidů). Barva může být modifikována stupněm překrvení (směr do oranžova). Barva tzv. hnědé tukové tkáně je dána jednak bohatostí cév, jednak vysokou koncentrací cytochromů v početných mitochondriích. V případě excesivní akumulace polárních lipidů je barva bílá (myelin) nebo šedobílá.

Fyzikální stav deponovaného lipidu - dvojlohm

Obě základní skupiny akumulovaného lipidu u steatos se liší fyzikálním stavem. TAG jsou přítomny v tekuté formě, tj. nemají dvojlohm (nebo dvojlohm zcela rudimentární). Naproti tomu kapky esterů cholesterolu mají charakter tekutých krystalků a vykazují fenomén maltézského kříže (podobně jako řada polárních lipidů - tyto jsou však resistentní na extrakci bezvodým acetonem, který odstraní depozita esterů cholesterolu). Tento stav se může měnit na pevnou krystalickou fázi (krystalky esterů cholesterolu).

Obr. 31

fyzikální a tinkční charakteristiky kapének triacylglycerolů a esterů cholesterolu rozdílná schpnost otáčení roviny polarisovaného světla



Terminologie

termín steatosa (ztukování) - je rezervován pro poruchy získané. Mikroskopickým projevem steatosy je intracelulární tuková kapénka lokalizovaná v cytosolu. V těchto případech jde vždy o nepolární, silně hydrofobní lipidy. Stupeň splývání kapének lipidu závisí pravděpodobně na kvalitě hraniční vrstvy (viz. shora biologie tukové kapky). Faktorem působícím proti splývání mohou být látky adsorbované na hraniční zóně lipidní kapky (polární lipidy, proteiny). Extrémním stavem mnohočetné (multilokulární) vakuolisace je tzv. pěnitá (angl. foamy) struktura cytoplasmu. Extrémním stavem splývání kapének lipidu je solitární megavakuola (monovakuolární, unilokulární steatosa, tuková cysta) distendující cytoplasmu. Za patologických okolností (neregulovaně) může takováto situace vést až k ruptuře buňky. Klasicky je tomu v případě steatosy hepatocytů. Regulovaná unilokulární distenze je fyziologická u buněk bílé tukové tkáně.

termín lipidosa je rezervován pro geneticky podmíněné poruchy lysosomální degradace lipidů nejružnějšího druhu. Jde tedy o přepřívání lysosomálního systému nedegradovaným lipidem, který vede k expansi lysosomálního systému a k tím k výrazným cytologickým změnám postižené buňky.

Vitalita a další osud buňky postižené steatosou

Samotná akumulace tuku, ať už z jakýchkoliv příčin, neovlivňuje hostitelskou buňku prokazatelně výrazněji negativně. Prognostickým faktorem je samotný vyvolávající faktor (jeho další účinky) nebo deficit v užití akumulovaného lipidu (klasicky u alternativního zpracování retinovaných mastných kyselin u poruch BOX - viz shora). Lze předpokládat, že jedině excesivní akumulace lipidu vede k biologické deterioraci a nekrose postižené buňky, a to ať už se jedná o nadměrné hromadění v cytosolu nebo v lysosomech.