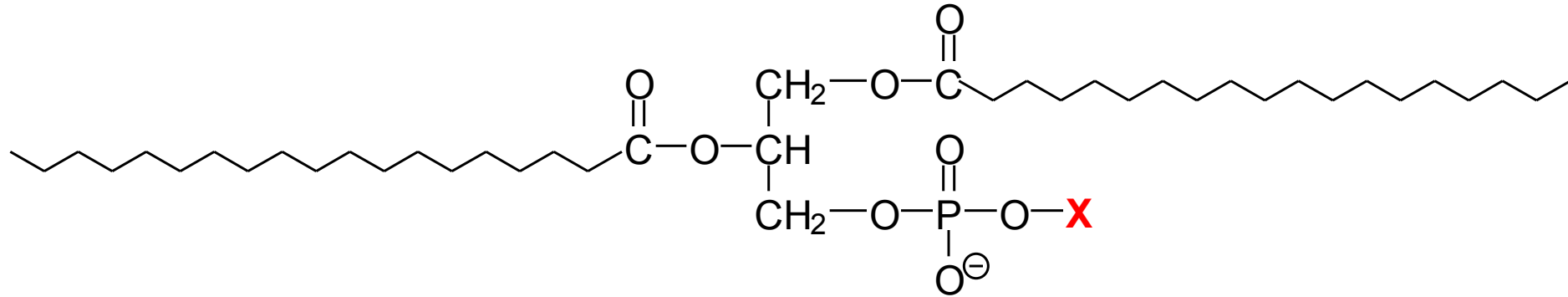


Syntéza a metabolismus cholesterolu

Metabolismus žlučových kyselin a vitaminů D

© Biochemický ústav LF MU (E.T.)
2012

Glycerofosfolipidy



Fosfatidylcholin – PC

Fosfatidylethanolamin – PE

Fosfatidylserin – PS

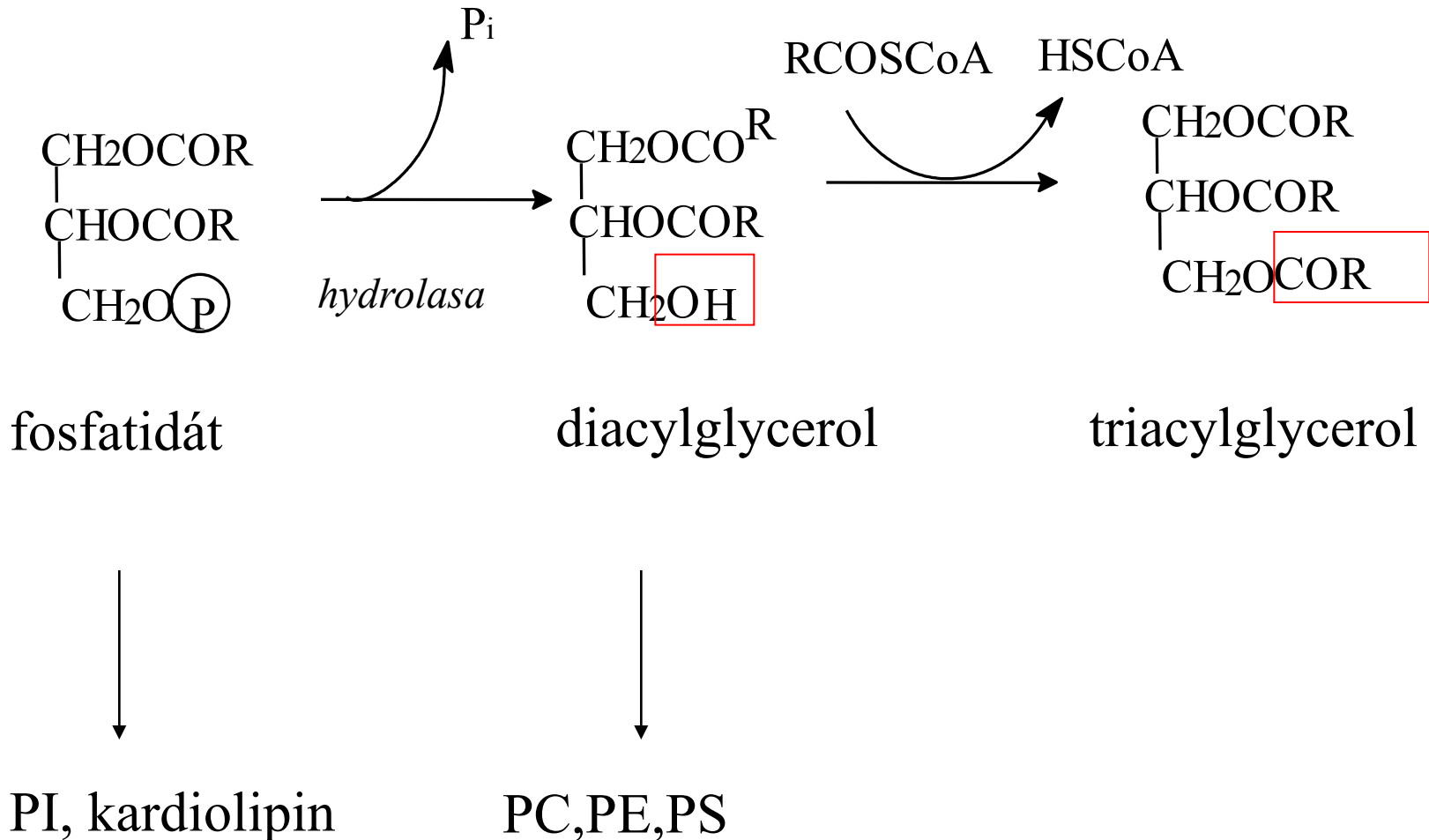
Fosfatidylinositol – PI

Kardiolipin - CL

Biosyntéza glycerofosfolipidů

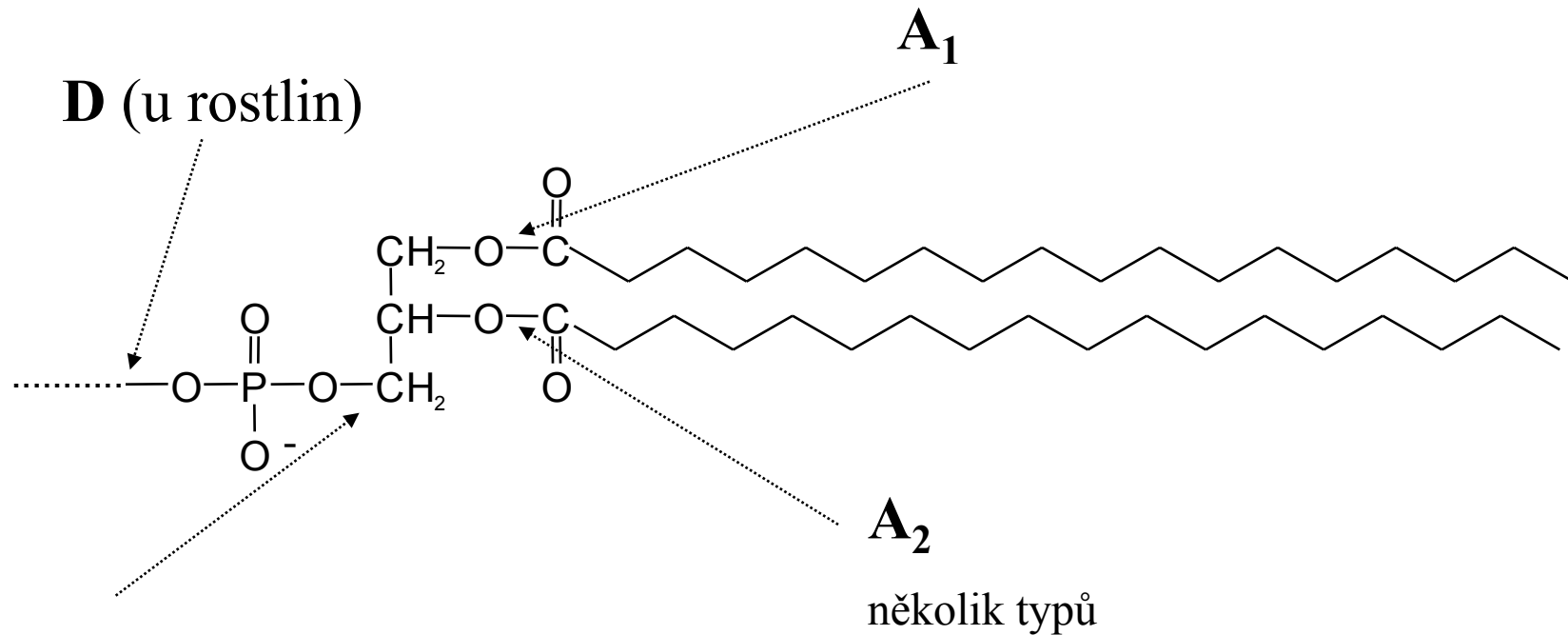
- probíhá ve všech buňkách s výjimkou erytrocytů
- některé počáteční reakce jsou stejné jako při syntéze triacylglycerolů

Syntéza triacylglycerolů a glycerofosfolipidů - návaznosti na společné reakce



Štěpení fosfolipidů - fosfolipázy

Fosfolipasy jsou využívány i při remodelaci fosfolipidů



C

PI-systém

Ikosanoidy

Lokální hormony, působící prostřednictvím G-proteinů

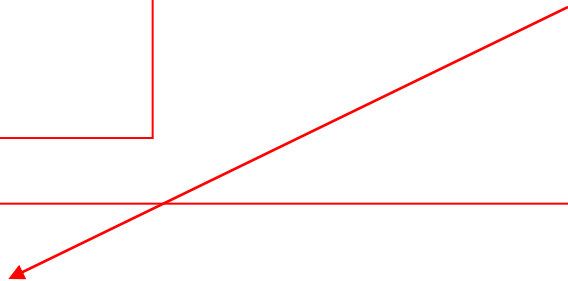
Hlavní typy ikosanoidů:

prostaglandiny (PG)

tromboxany (TX)

leukotrieny (LT)

Jsou syntetizovány
z polyenových MK
s 20 uhlíky



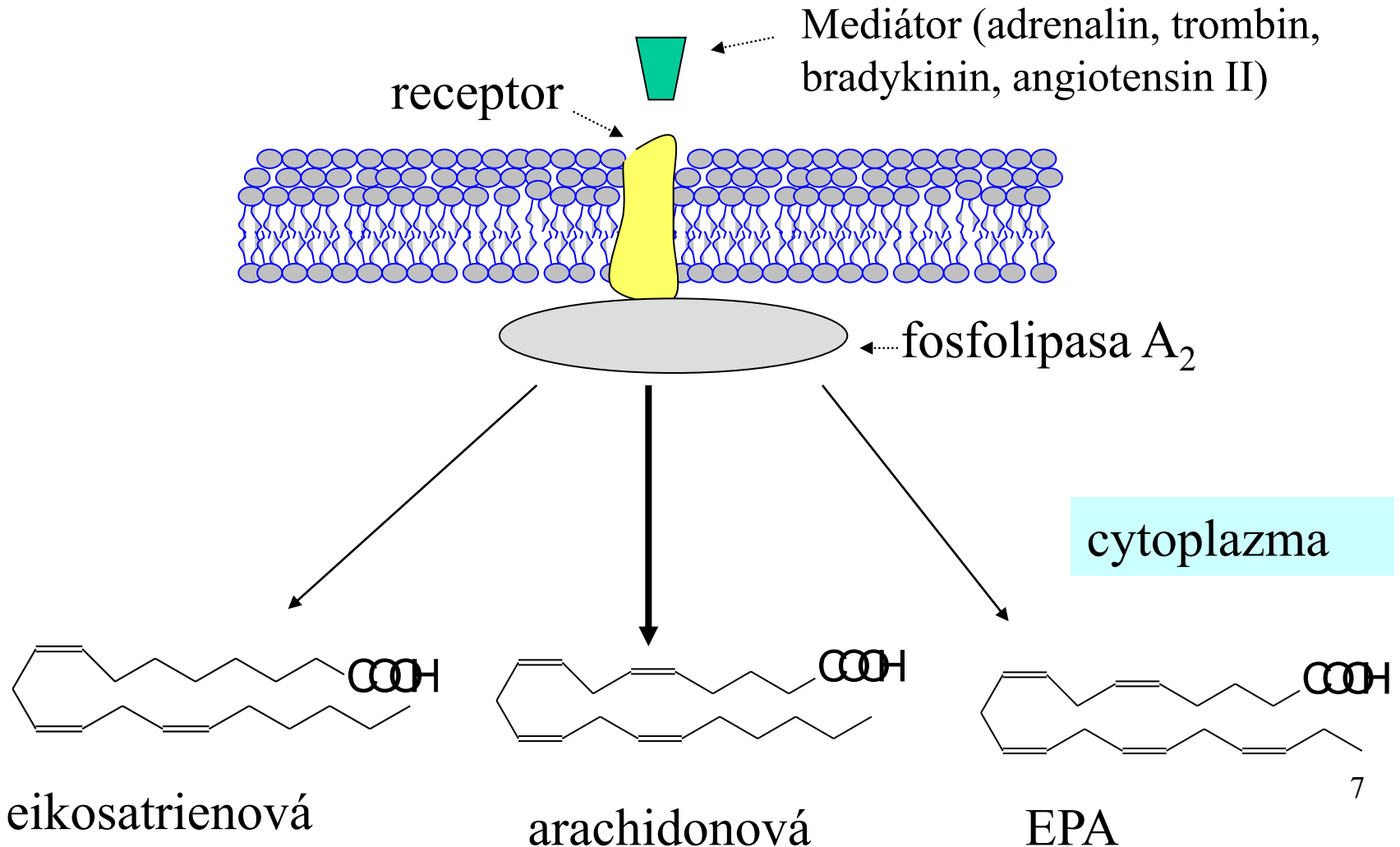
Syntéza ikosanoidů:

PG, TX (prostanoidy) - cyklooxygenasová dráha

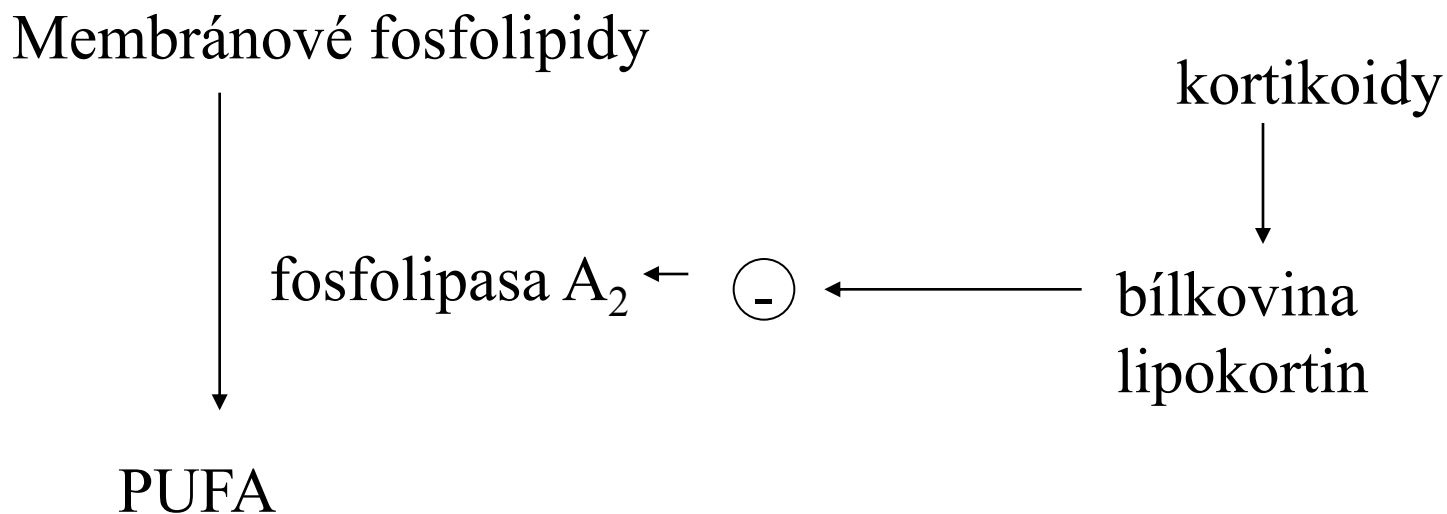
LT (leukotrieny) - lipoxygenasová dráha

Biosyntéza ikosanoidů

První společný krok: uvolnění mastné kyseliny (20 C) z membránově vázaného PL



Inhibitory fosfolipasy A₂



Steroidní protizánětlivé léky (hydrokortisol, prednison, dexamethason) stimulují syntézu bílkoviny lipokortinu a jejím prostřednictvím inhibují fosfolipasu A₂ a omezují tak tvorbu ikosanoidů

Prostanoidy:

prostaglandiny a prostacykliny

- jsou produkovány téměř ve všech buňkách
- endoplasmatické retikulum
- mají různorodé účinky (mají mnoho typů receptorů)

Účast prostanooidů ve fyziologických procesech - příklady

TXA₂

je produkován trombocyty, vyvolává vasokonstrikci a aktivaci destiček

účinek cca 30-60 s

PGI₂

je antagonistou TXA₂, produkován cévním endotelem, poločas 3 min.

Jejich vyvážený účinek se podílí na krevním srážení

PGE_2 je produkován žaludeční sliznicí a potlačuje sekreci kyseliny chlorovodíkové

Snižuje tak riziko vzniku žaludečního vředu

PGE_2 a $\text{PGF}_{2\alpha}$ tvořené v endometriu indukují kontrakci dělohy. Jejich koncentrace v plodové vodě je během těhotenství nízká, masívně se zvyšuje při porodu. Společně s oxytocinem se podílí na indukci porodu.

Na rozdíl od oxytocinu kontrahují dělohu vždy.

Mohou být použity k vyvolání potratu intravenosním nebo intravaginálním podáním

Příklady biologických účinků některých prostanoidů

Prostanoid	Účinek
TXA_2	agregace trombocytů kontrakce hladkého svalstva cév
$\text{PGI}_2/\text{PGI}_3$	antiagregační účinek stimulace relaxace hl. svalstva zvýšení intenzity a trvání bolesti
PGE_2	inhibice kontrakce hladkého svalstva, vasodilatace cév, inhibice sekrece HCl, stimulace sekrece mucinu, zvýšení teploty, zvýšení intenzity a trvání bolesti, zvýšení permeability cév
PGD_2	navození spánku, kontrakce bronchiálního svalstva
$\text{PGF}_{2\alpha}$	kontrakce hladkého svalstva, zvýšení tělesné teploty

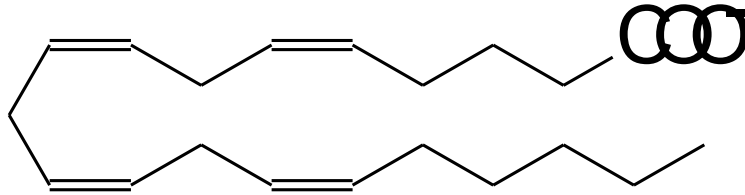
Syntéza prostanoidů (cyklooxygenasová dráha)

Enzym **cyklooxygenasa** (COX) má dvě enzymové aktivity:

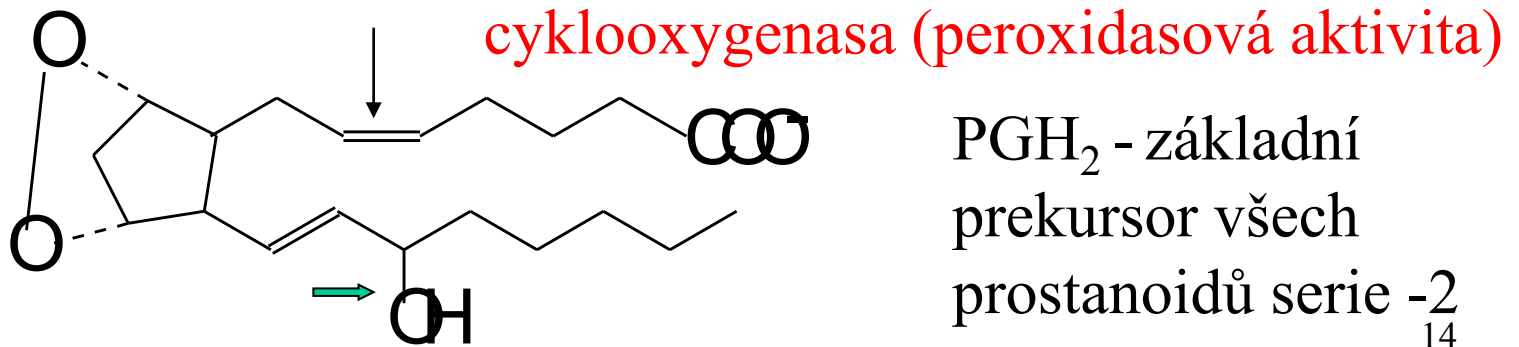
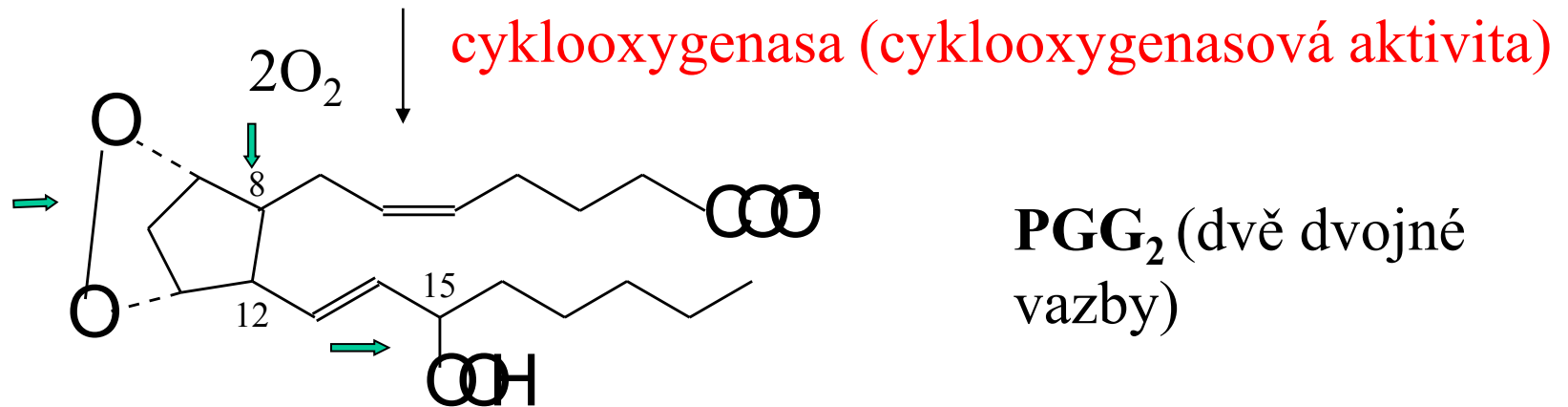
cyklooxygenasovou

peroxidasovou

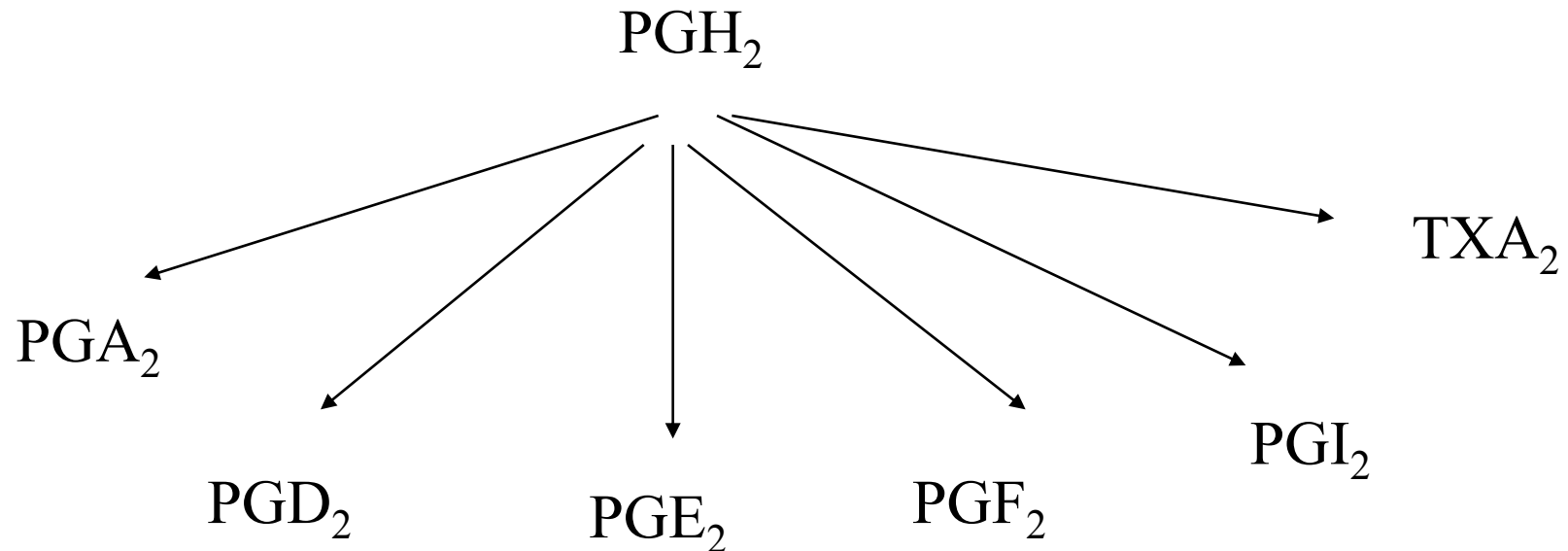
Syntéza prostanoïdů (cyklooxygenasová dráha)



Kyselina
arachidonová



Série prostanoïdů vznikajících z kyseliny arachidonové – prostanoïdy skupiny 2



ikosa-8,11,14- trienová je prekursorom prostanoïdů skupiny 1 (po účinku cyklooxygenasy zůstává zachována 1 dvojná vazba)

ikosa-5,8,11,14,17 pentaenová je prekursorom prostanoïdů skupiny 3

Enzymatická výbava v jednotlivých tkáních je různorodá

Např. plíce a slezina mají enzymy pro syntézu téměř všech prostanoidů

V trombocytech přítomna pouze tromboxansynthasa

V cévním endotelu jen prostacyklinsynthasa

Katabolismus prostanoidů je velmi rychlý

- enzymově katalyzovaný ($t_{1/2} \sim 0,1-10$ min)

- neenzymová hydrolýza ($t_{1/2}$ sekundy-minuty)

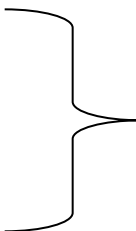
Dvě formy cyklooxygenasy:

COX-1: konstitutivní (stále přítomná) – zapojena do syntézy prostanoidů pro normální fyziologické funkce

- COX-2: převážně indukovatelná – její tvorba je indukována při zánětu (stimulace cytokiny, růstovými faktory)

Inhibitory cyklooxygenasy

Nesteroidní protizánětlivé látky (NSZPL, též nesteroidní antiflogistika):

- acetylsalicylová kyselina → **irreversibilní inhibice**
 - ibuprofen
 - diklofenak
 - indometacin a další
- 
- reversibilní inhibice**

Inhibují obě formy COX

Inhibice cyklooxygenasy potlačuje tvorbu prostanooidů

... to má pozitivní účinky (snížení teploty, potlačení projevů zánětu, snížení bolesti...)

ale

i negativní účinky (snížená ochrana epitelu žaludeční sliznice, snížení agregability trombocytů, snížená ochrana endotelu.....)

Až do doby, kdy bylo objeveno, že jsou dvě formy COX, se předpokládalo, že nežádoucí účinky nelze oddělit od terapeutického působení. Po objevení COX-2 jsou hledány specifické inhibitory tohoto enzymu.

Inhibitory COX-2 představují menší riziko nežádoucího poškození sliznice a zvýšené krvácivosti, mají však řadu vedlejších účinků

Nimesulid (AULIN, COXTRAL), meloxikam (ANTREND, LORMED, MELOBAX) – inhibují více COX-2 (COX-2 preferenční), používány

Coxiby (Rifecoxib, Celecoxib) – specifické inhibitory COX-2 – jejich užívání bylo pozastaveno, vzhledem k prokázanému kardiovaskulárnímu riziku

Kyselina acetylsalicylová

Podávání malých dávek acetylsalicylové kyseliny (ASA, 81-325 mg denně) je prokazatelně účinné při prevenci kardiovaskulárních chorob

Principem působení je ovlivnění vzájemného účinku tromboxanu A_2 a prostacyklinu PGI_2 při vytváření trombů v krevním řečišti.

Účinek tromboxanu je zeslaben (je snížena jeho produkce v trombocytech).

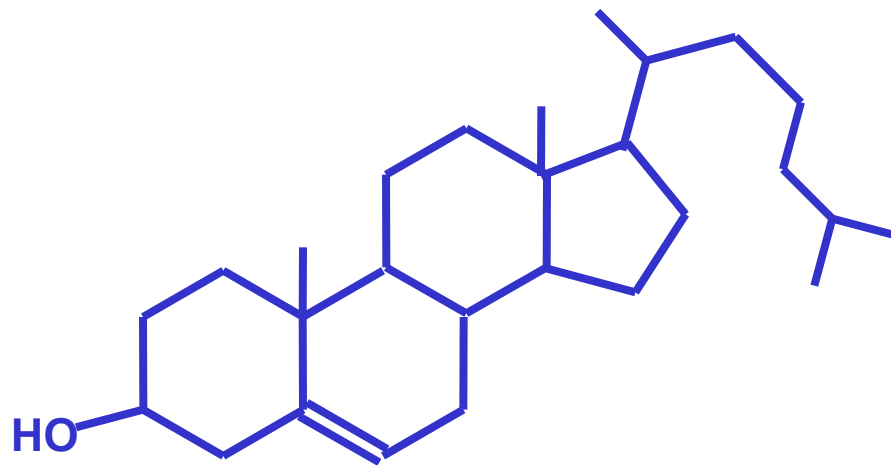
Účinek acetylsalicylátu na trombocyty a endotel

	Trombocyty	Endotel.b.
Schopnost syntézy COX de novo	-bezjaderné buňky (chybí mRNA) Poločas 7-10 dní -blokovaný enzym nemůže být nahrazen	- blokovaný enzym může být nahrazen syntézou <i>de novo</i>
Inhibice COX po orálním podání 30-160 mg ASA	V portální krvi- prakticky úplná inhibice COX ve všech trombocytech, postupně během resorpce ASA	Pouze v portální cirkulaci, periportálně nepatrná (deacetylace ASA v játrech)

Syntéza TXA₂ v trombocytech ovlivněna ~10x více než PGI₂ v endotelu

Syntéza a metabolismus cholesterolu

Cholesterol 5-cholesten-3 β -ol



Význam

- nezbytná komponenta membrán
- zdroj pro syntézu žlučových kyselin, steroidů, vitamínu D₃

Zdroje

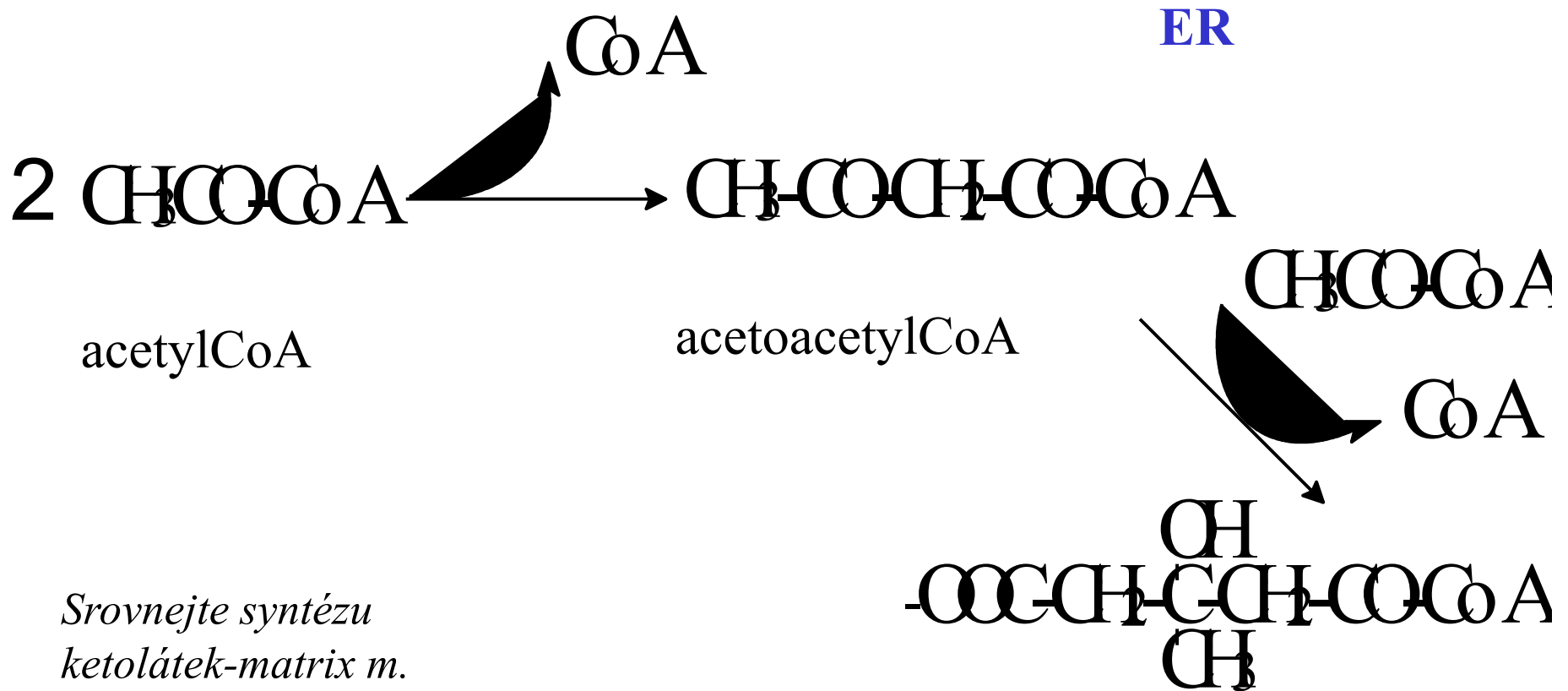
- příjem potravou (žloutek, živočišné tuky, tučné maso, tučné mléčné výrobky, majonéza) ~ 300-500 mg

- biosyntéza (~ 1000 mg)

Biosyntéza cholesterolu

- kde probíhá: obecně většina buněk, **hlavně játra**, kůra nadledvin, enterocyty, gonády....
- kde v buňce: cytoplazma, některé enzymy na povrchu ER
- výchozí látkou pro syntézu je acetylCoA
- bilance syntézy: 18 acetylCoA, 36 ATP, 16 NADPH

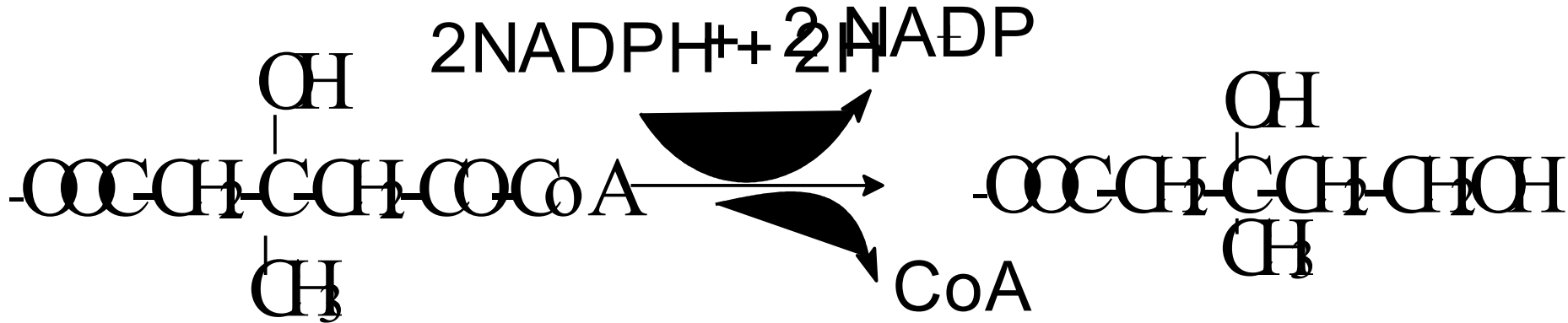
1. Fáze syntézy cholesterolu - syntéza 3-HMG-CoA



*Srovnejte syntézu
ketolátek-matrix m.*

**3-hydroxy-3-methylglutarylCoA
(HMG-CoA)**

2. Fáze - vznik mevalonátu



3-HMG-CoA reduktasa

3-HMG-CoA

Kyselina mevalonová

Dvojitá redukce karboxylové skupiny na primární alkoholovou

Syntéza mevalonátu určuje rychlost syntézy cholesterolu

Enzym **3-HMG-CoA reductasa**

- je vázán na membráně ER
- je vysoce regulován
- je cílem působení farmak

3-HMG-CoA reductasa

Mechanismy regulace

- regulace syntézy enzymu hladinou sterolů
- regulace proteolýzy enzymu steroly
- regulace aktivity enzymu kovalentní modifikací (fosforylace)
- kompetitivní inhibice léky – statiny (např.lovastatin, pravastatin, cerivastatin)

Regulace proteolýzy HMG-CoA reductasy steroly

- Degradace enzymu je stimulována cholesterolem, mevalonátem a farnesolem.
- Enzym obsahuje transmembránovou sterol-senzitivní oblast, která hraje roli při aktivaci proteolýzy enzymu cestou proteasomu.

Regulace HMG-CoA reduktasy kovalentní modifikací

Forma enzymu

fosforylovaná



inaktivní

kinasa

AMP dependentní

cAMP-dependentní

defosforylovaná



aktivní

fosfatasa

Aktivace:

Glukagon, intracelulární
steroly (cholesterol,
žlučové kyseliny),
glukokortikoidy

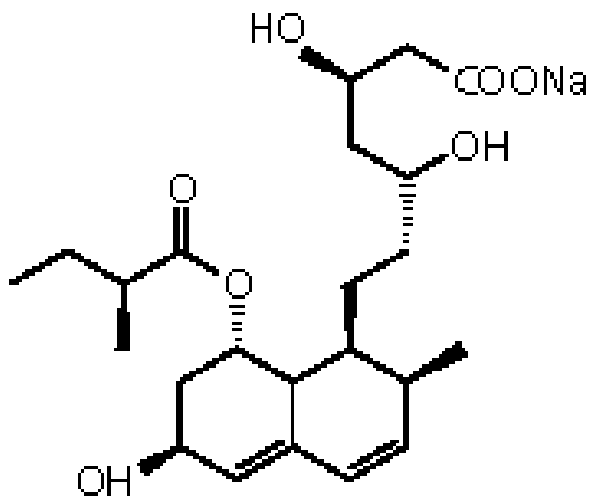
Insulin, thyroidní
hormony

Inhibice HMG-CoA-reduktasy léky

Kompetitivní inhibicí enzymu v játrech je snižována buněčná koncentrace cholesterolu.

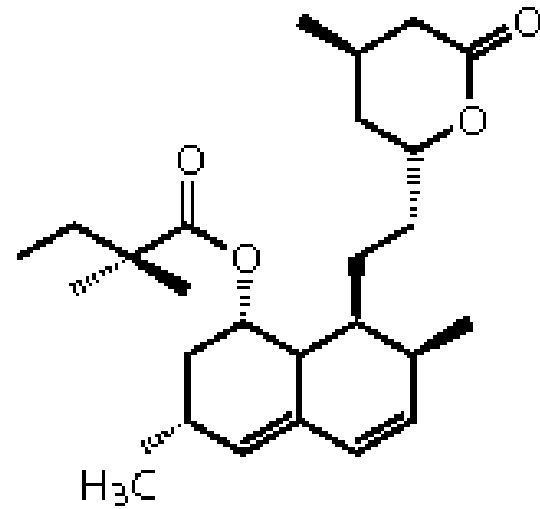
Jako důsledek klesá koncentrace cholesterolu v krvi.

**Simvastatin (Zocor), Lovastatin (Mevacor),
Pravastatin (Mevalotin), Pravastatin (Pravachol),
Simvastatin (Lipovas), Fluvastatin (Lescol),...**



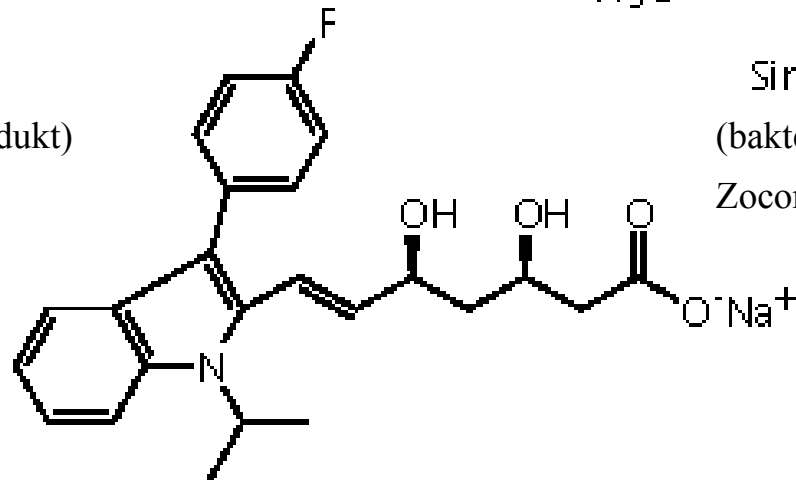
Pravastatin
(bakteriální produkt)

Pravachol®
Selektine®)



Simvastatin
(bakteriální produkt)

Zocor®, Denan.....

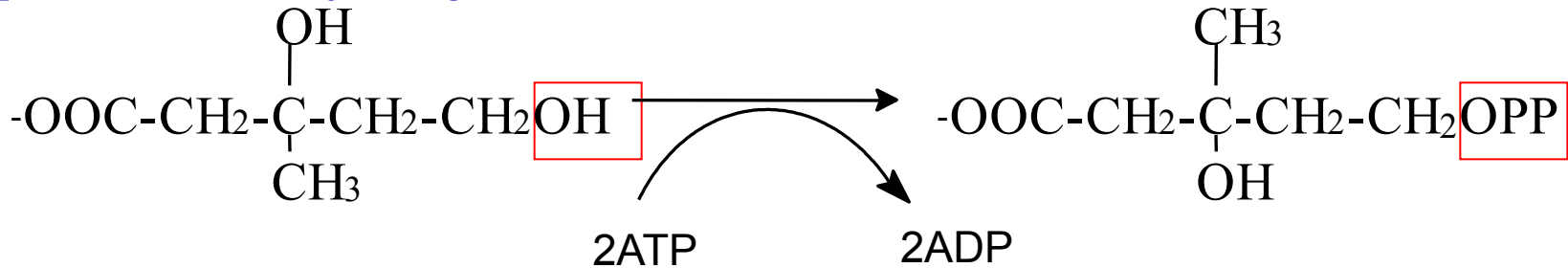


Fluvastatin
(syntetický)

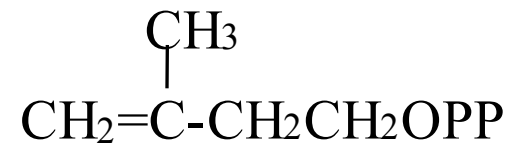
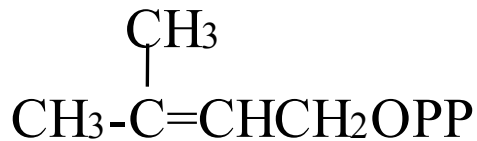
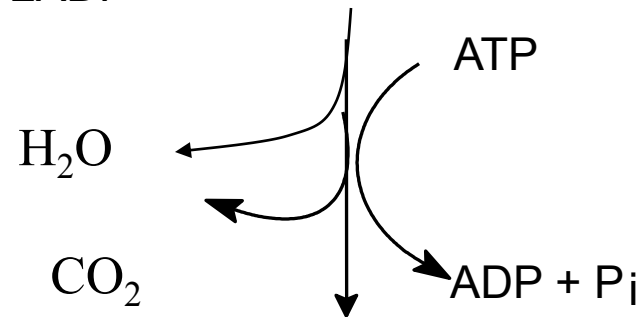
Lescol®, Canef®

3. Další fáze syntézy cholesterolu: vznik pětiuhlíkatých jednotek

mevalonyldifosfát



mevalonát



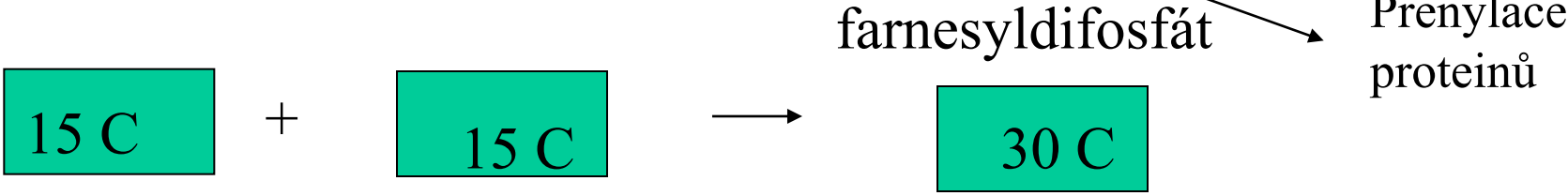
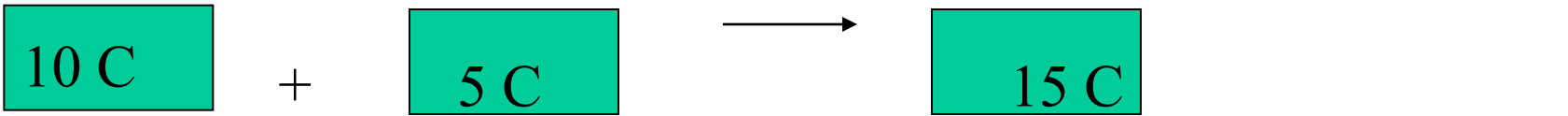
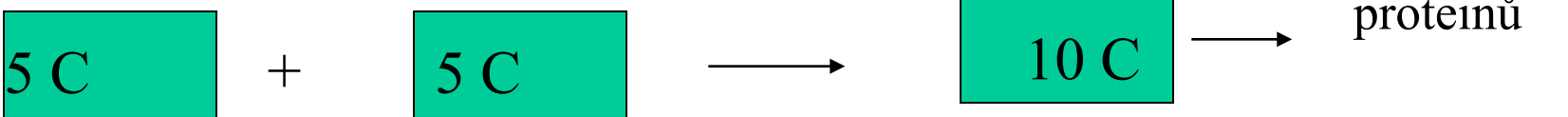
dimethylallyldifosfát

isopentenyldifosfát

5C

5C

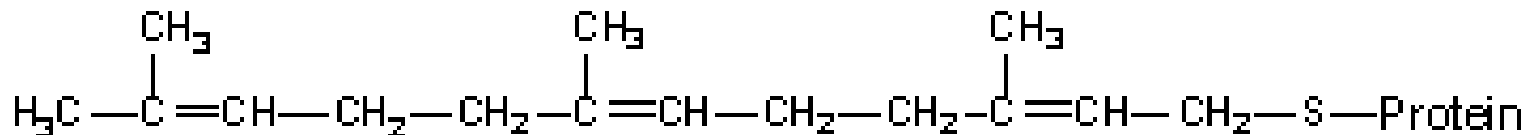
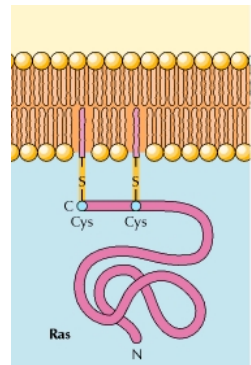
Dimethylallyldifosfát + isopentenyldifosfát → geranyldifosfát



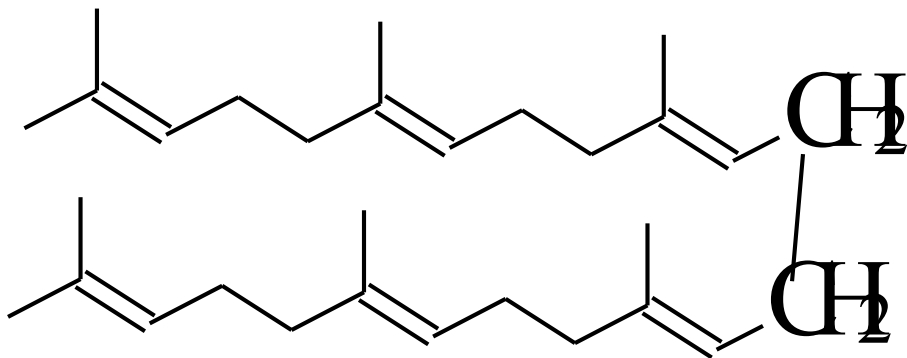
skvalen

Prenylace proteinů

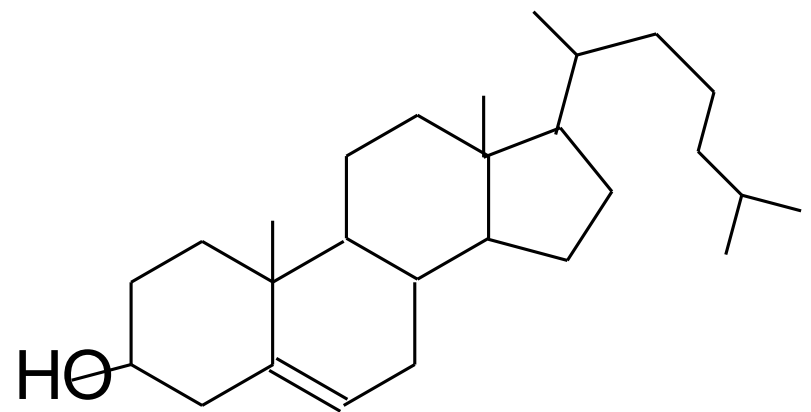
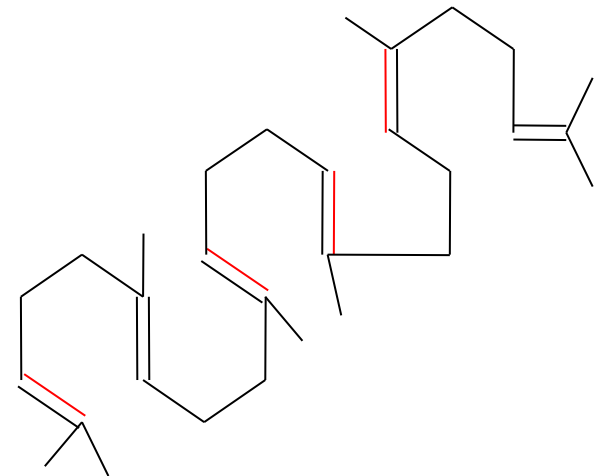
- Kovalentní modifikace proteinů
- Navázání farnesyly nebo geranyl-geranylu na SH- skupinu cysteinu
- Umožňuje interakci proteinů s membránou (zakotvení).
- Uplatňuje se např. u některých proteinů zprostředkujících buněčnou proliferaci (GTP-vážíci proteiny, např. Ras, Rac, Rho)
- inhibice prenylace inhibuje buněčnou proliferaci
- inhibitory prenylace – léky při osteoporose, rakovině, kardiovask. chorobách



Skvalen je lineární molekula schopná se sbalit do cyklické formace



skvalen

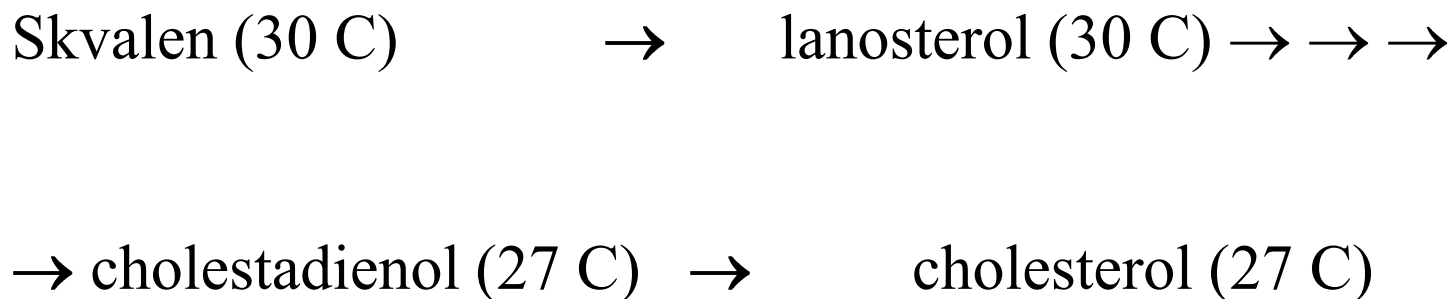


cholesterol

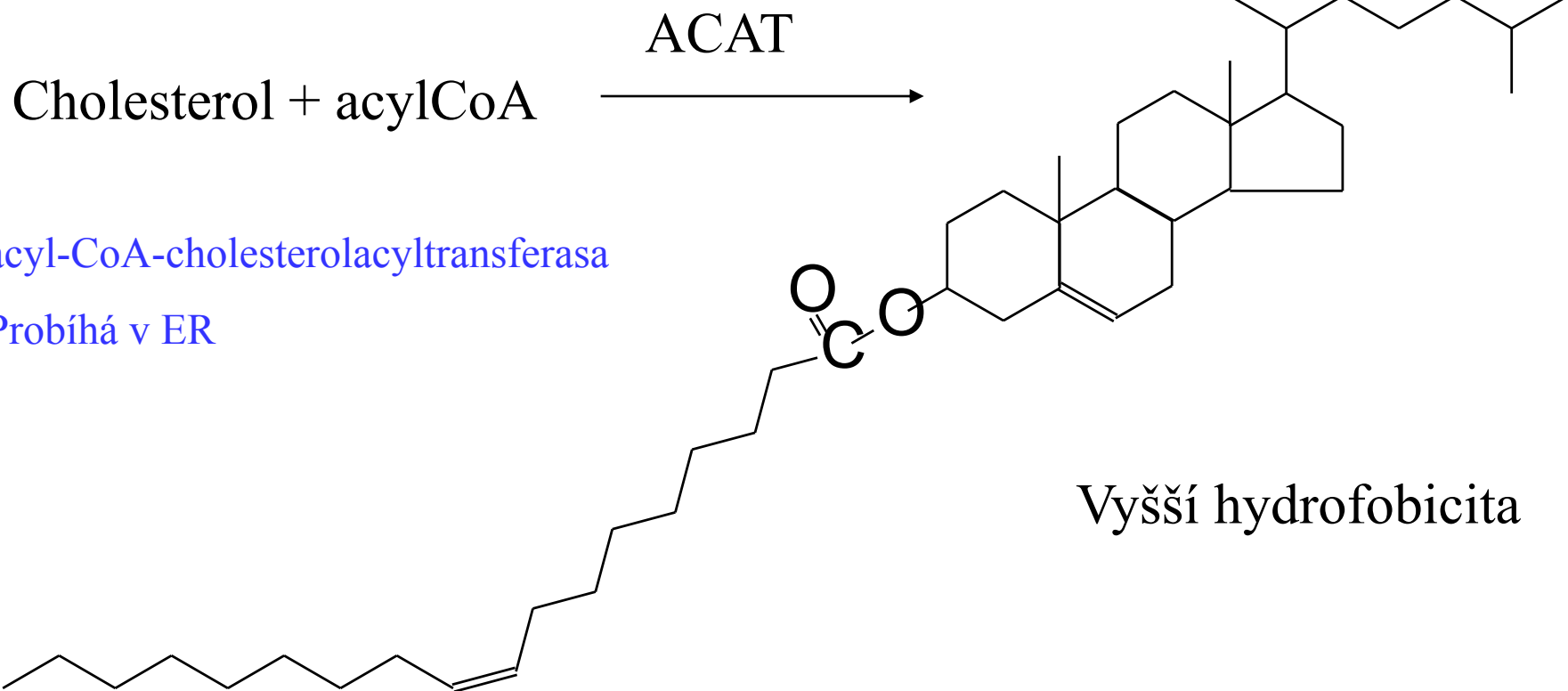
4. Přeměna skvalenu na cholesterol je několikastupňový proces zahrnující:

- cyklizaci
- zkrácení uhlíkatého řetězce z 30 na 27 C
- přesuny dvojných vazeb
- redukci dvojně vazby

Reakce probíhají v ER – uvádí se až 19 reakcí



Esterifikace cholesterolu



Nejčastěji kys. linolová a linolenová

„Odbourávání cholesterolu“

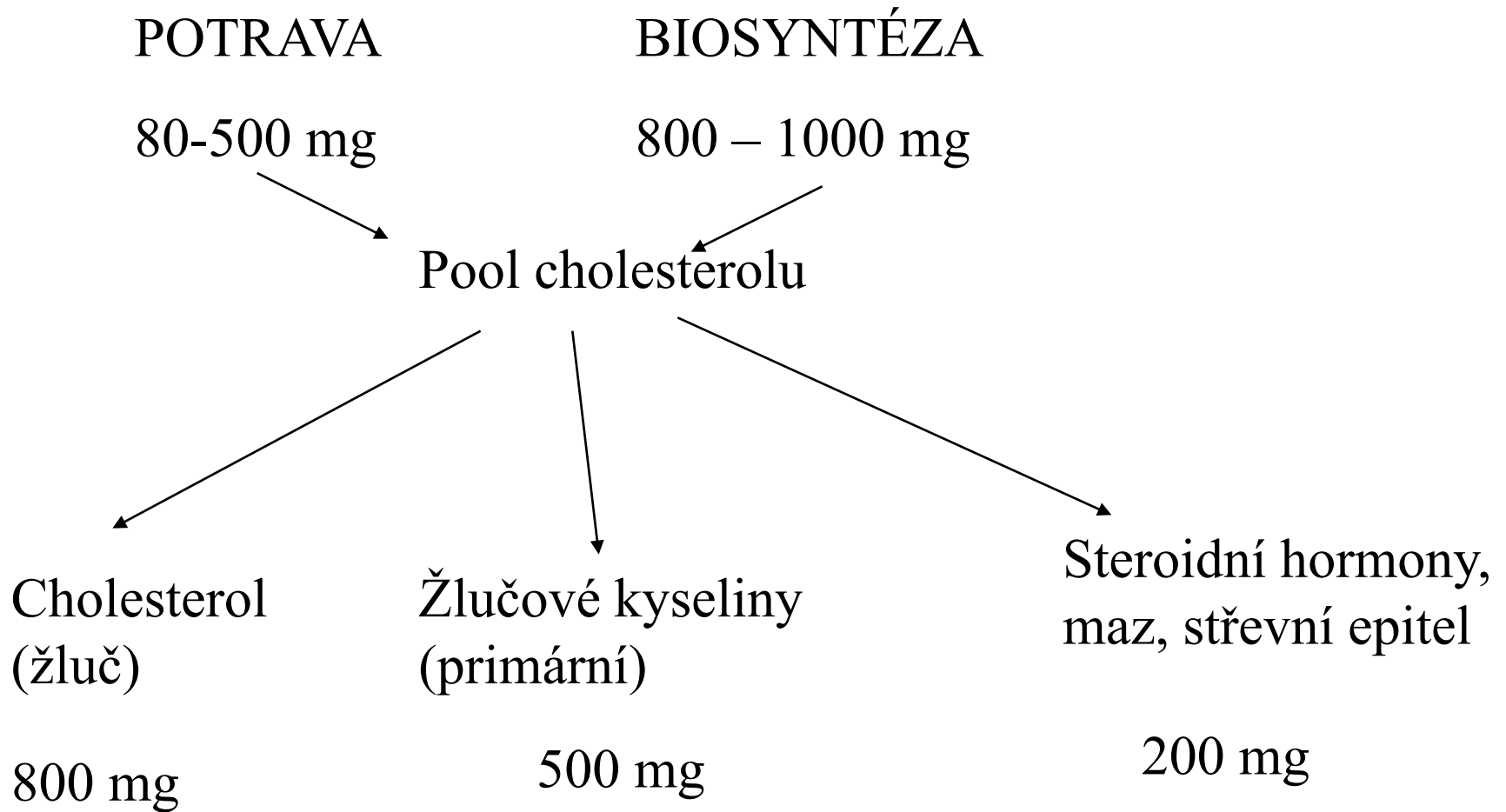
- cholesterol nemůže být v organismu odbourán na CO_2 a H_2O
- pouze játra jsou schopna eliminovat cholesterol přijatý potravou nebo syntetizovaný
- jsou dvě cesty, jak organismus eliminuje cholesterol:

přeměna na žlučové kyseliny a jejich exkrece

vylučování cholesterolu žlučí

- nepatrný podíl cholesterolu je přeměňován na steroidní hormony
- malé množství cholesterolu se vylučuje kožním a ušním mazem, odloučeným střevním epitelem

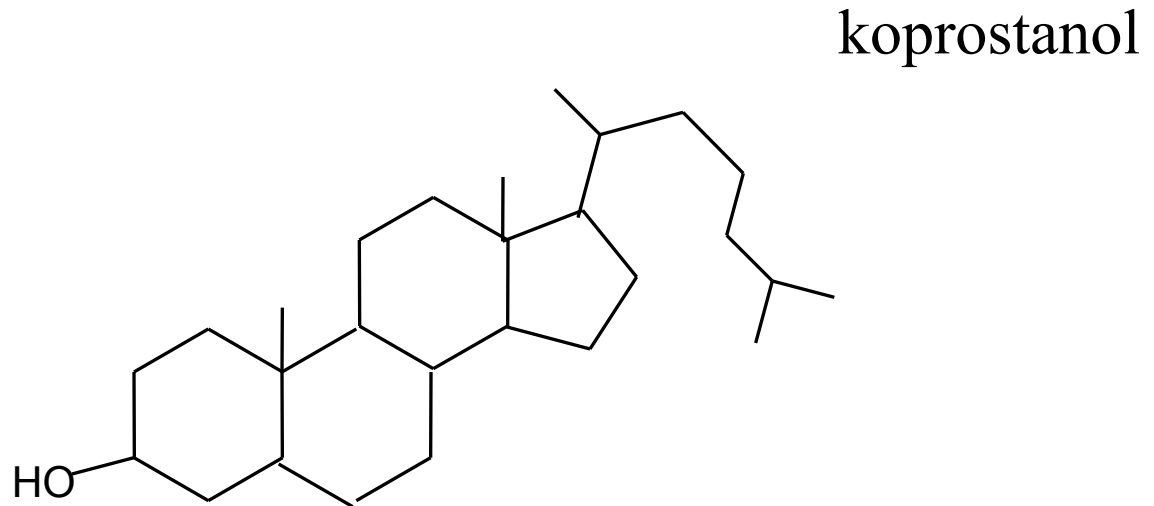
Bilance cholesterolu za 24 h



1000-1500 mg/den je vylučováno

Přeměny cholesterolu ve střevě

- bakteriální přeměna na koprostanol a vyloučení stolicí
- část cholesterolu se zpětně resorbuje společně s cholesterolem přijatým potravou

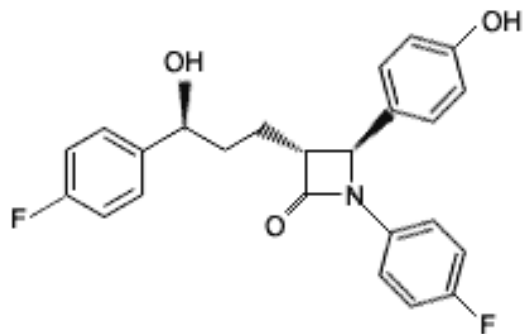


Resorpce cholesterolu z tenkého střeva

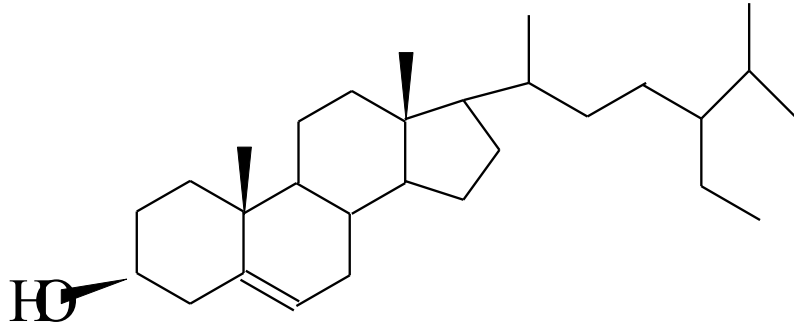
Transmembránový transportér NPC1L1 (Niemann-Pick C1 Like 1 protein)

(inhibice ezetimibem)

Ezetimib - vysoce selektivní inhibitor absorpce cholesterolu. V ČR registrován pod názvem Ezetrol.



Rostlinné steroly - fytosteroly



β -sitosterol

Velmi podobná
chemická struktura

Snižují resorpci
cholesterolu

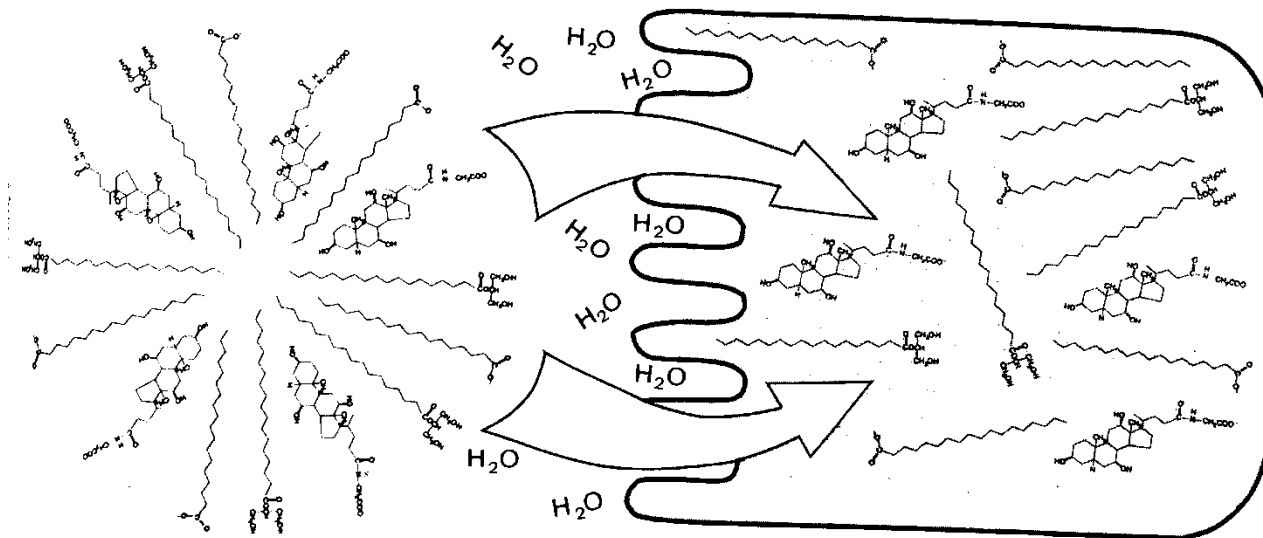
Zdroj: klíčkové oleje
(pšeničný, kukuřičný),
řepkový, sojový, olivový
olej

Obohacování potravin –
roztíratelné rostlinné tuky,
mléko, majonézy, mléčné
výrobky (u nás Flora)

Doporučení: osoby se zvýšenou
hladinou cholesterolu by měly
konsumovat 2g rostlinných sterolů
denně

Jak snižují rostlinné steroly resorpci cholesterolu?

Vmezeřují se do směsných micel, které jsou v kontaktu se střevní sliznicí, jsou resorbovány do enterocytů částečně místo cholesterolu (pomocí NPC1L1)



Steroliny

Buňka střevní sliznice má mechanismus, jak se zbavit přebytečných sterolů

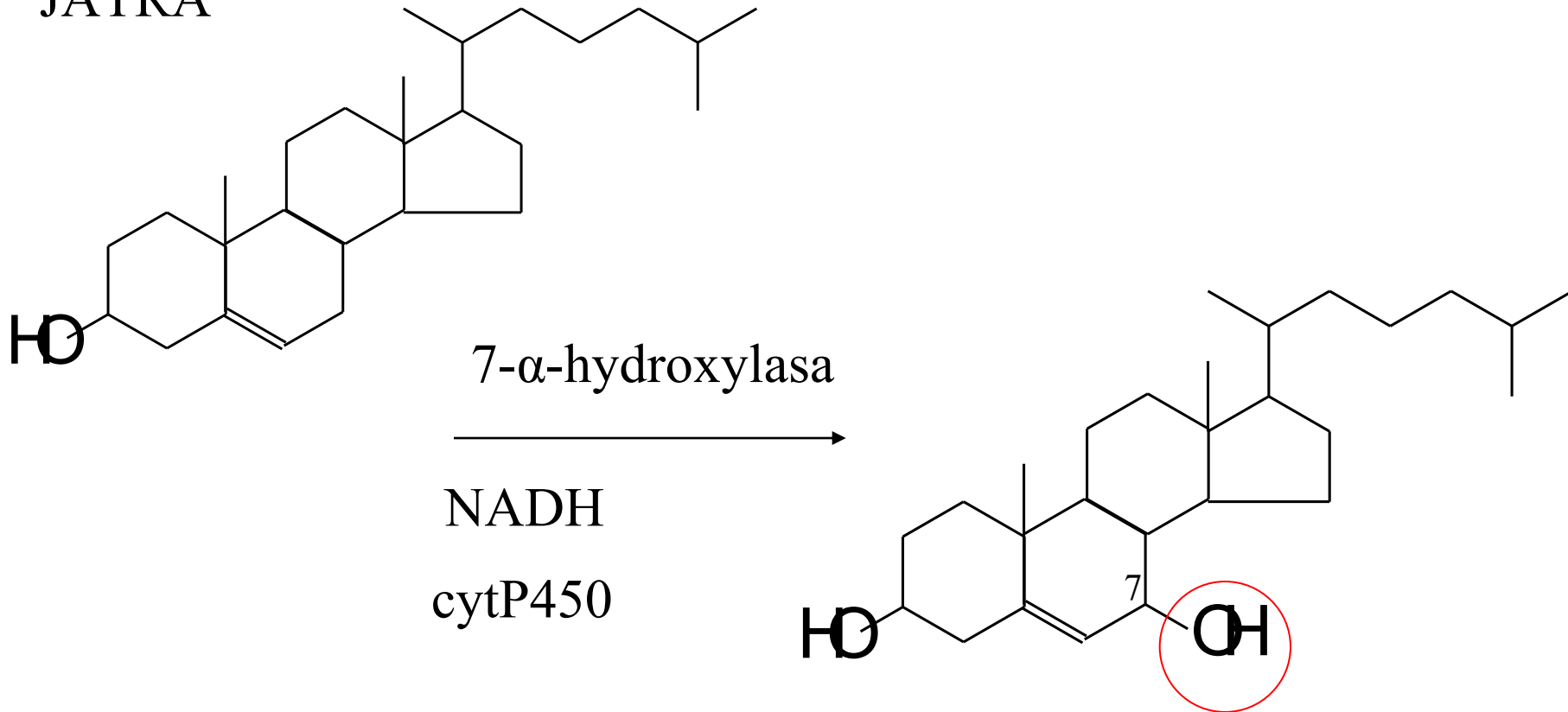
ABC-transportéry (ATP-binding cassette proteiny)

Využívají ATP jako zdroj energie a „pumpují“ nežádoucí steroly z enterocytu zpět do lumen (ABCG5, ABCG8)
Mohou pumpovat i cholesterol.

Sitosterolemie- vzácná autosomálně recesivní choroba spojená s akumulací rostlinných sterolů ve tkáních – příčinou je defekt funkce sterolinů

Přeměna cholesterolu na žlučové kyseliny

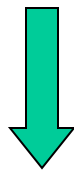
JÁTRA



probíhá v ER (monooxygenasová reakce)



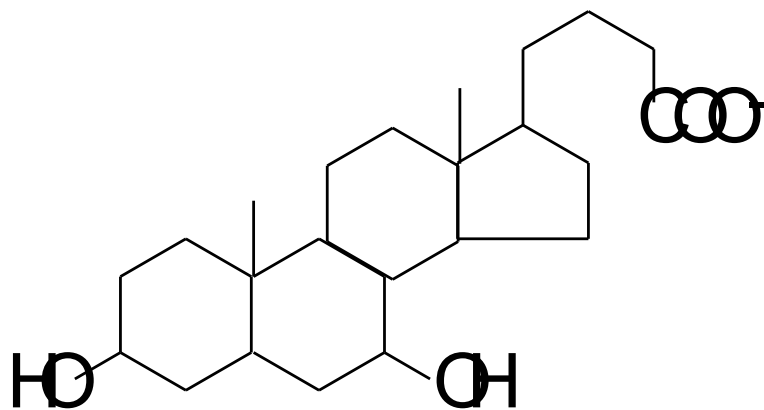
JÁTRA



Další hydroxylace (pozice α),
redukce, štěpení postr. řetězce

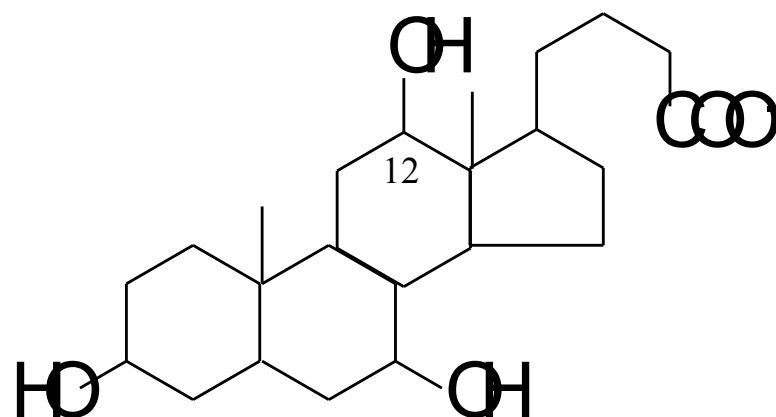
24 C

Primární ŽK



chenodeoxycholát

$pK_A \approx 6$



cholát

$pK_A \approx 6$

JÁTRA

Konjugace s glycinem a taurinem

ŽLUČ

TENKÉ
STŘEVO

dekonjugace a částečná redukce

bakterie

lithocholát

chenodeoxycholát

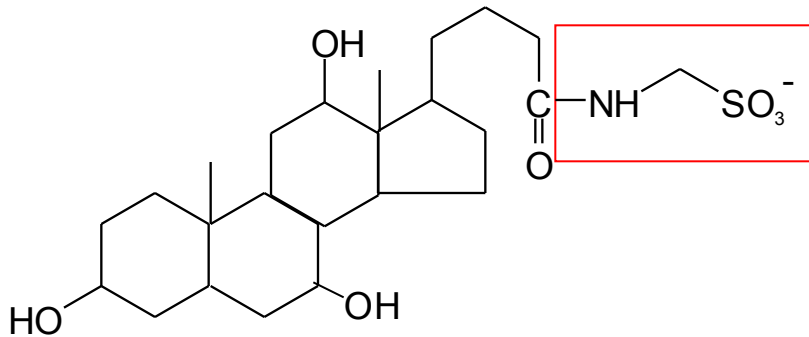
cholát

deoxycholát

stolice

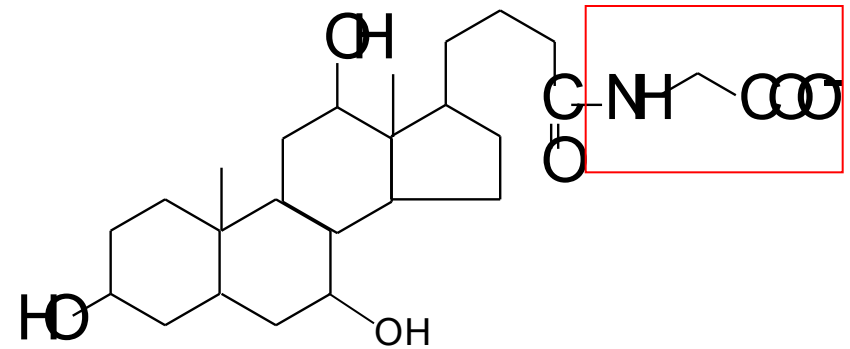
enterohepatální
oběh

Konjugované žlučové kyseliny



taurocholová

$\text{pK}_A \approx 2$

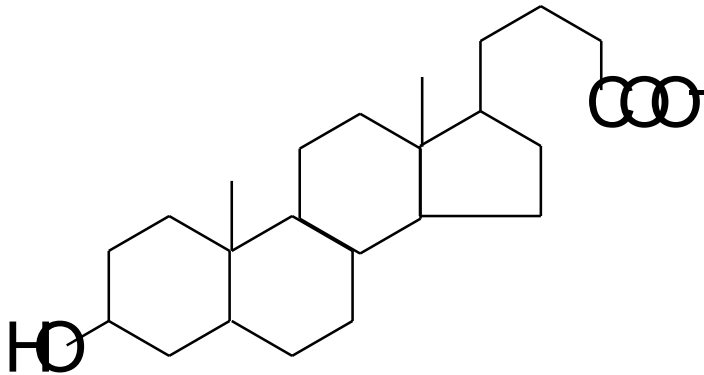


glykocholová

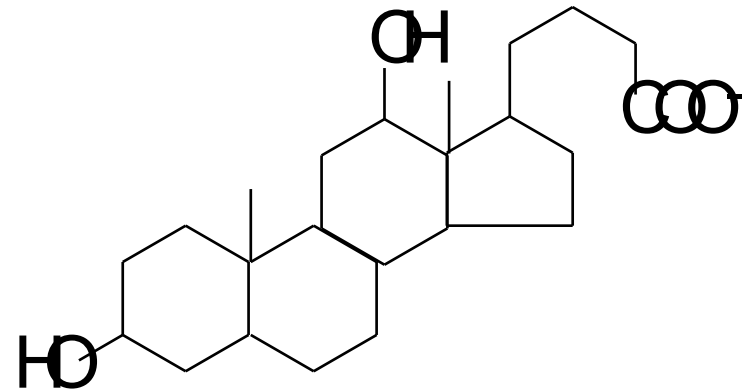
$\text{pK}_A \approx 4$

Konjugace snižuje hodnoty pK_A , zvyšuje detergenční účinnost

Sekundární žlučové kyseliny – nemají OH na C-7



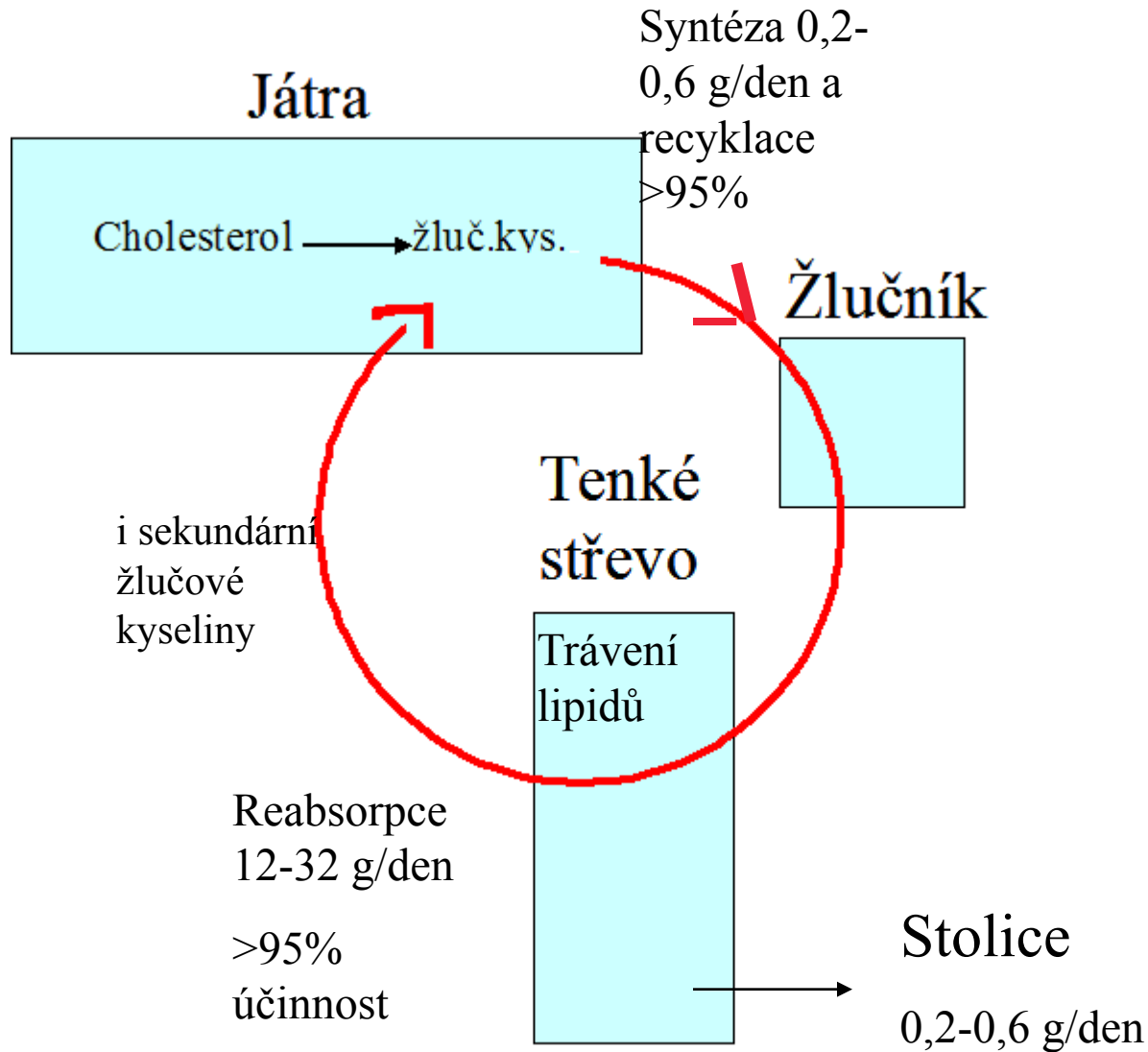
lithocholát



deoxycholát

Méně rozpustná, více
vylučována stolicí

Enterohepatální oběh žlučových kyselin



Látky snižující resorpci žlučových kyselin

Iontoměniče (Cholestyramin, Colestipol)

1g je schopen vázat 100 mg žlučových kyselin

Způsob účinku: po požití se neresorbují, zůstávají ve střevě a vyměňují chloridové ionty za žlučové kyseliny

Tím se zamezí resorpci žlučových kyselin.

Výsledkem je zvýšená konverze cholesterolu na žlučové kyseliny a snížení plazmatické hladiny cholesterolu