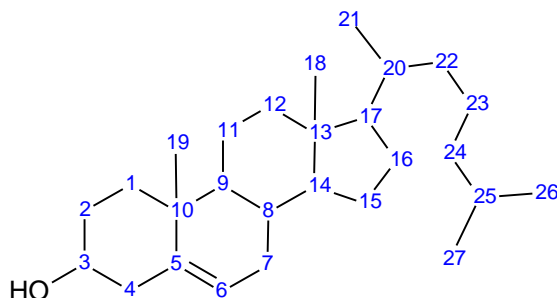


## 8 Metabolismus cholesterolu, ikosanoidy

Cholesterol i ikosanoidy mají mnoho společného s lipidy (cholesterol stejně jako ony vzniká z Ac-CoA; ikosanoidy vznikají z PUFA apod.), přesto se jim budeme věnovat v samostatné kapitole.

### 8.1 Cholesterol

Cholesterol je **27 uhlíkatá sloučenina**, systematickým názvem **5-cholesten-3 $\beta$ -ol**.



Je nezbytnou **komponentou všech membrán** a **výchozí látkou pro syntézu žlučových kyselin, steroidů a vitamínu D<sub>2</sub>**.

Hlavními zdroji cholesterolu **jsou žloutek, živočišné tuky, tučné maso, tučné mléčné výrobky, majonéza** a další. Denně bychom měli přijmout cca **300–500 mg cholesterolu**, poměrně velké množství (asi **1000 mg**) si sami syntetizujeme.

#### 8.1.1 Biosyntéza cholesterolu

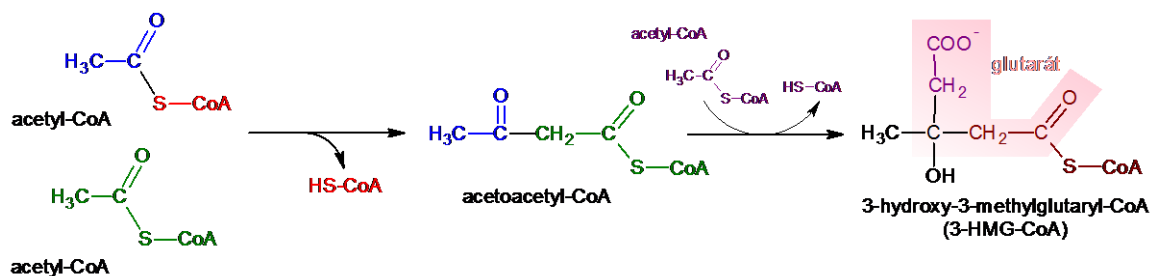
Probíhá ve **všech buňkách s normální organelovou výbavou** (tedy např. ne v erythrocytech, kterým chybí mitochondrie), hlavně v buňkách **jater** a dále **kůry nadledvin, enterocytech a gonádách** (tedy v místech produkce steroidních hormonů).

Buněčná lokalizace: **cytoplazma + membrána ER** (některé enzymy)

**Výchozí látkou** pro syntézu cholesterolu je **acetyl-CoA** a na syntézu jedné molekuly **cholesterolu** **potřebujeme** těchto molekul **celkem osmnáct**, k tomu pak **36 ATP** a **16 NADPH+H<sup>+</sup>**. Vidíme tedy, že syntéza cholesterolu je **vysoce energeticky náročný děj** (skoro 1,5 ATP na jeden uhlík).

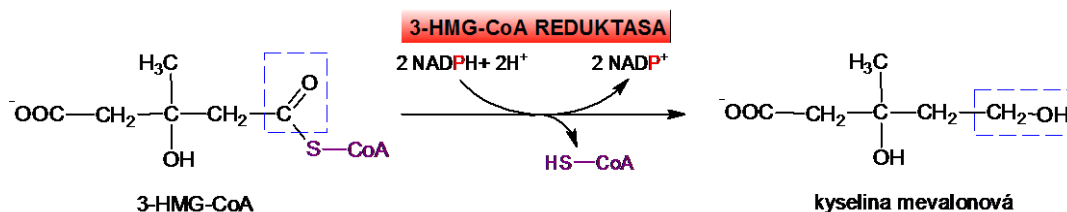
**Jednotlivé reakce vedoucí ke vzniku cholesterolu:**

- 1) V prvním kroku syntézy cholesterolu **vzniká 3-HMG-CoA**. Reakce probíhá **na membráně endoplazmatického retikula**.



*Poznámka: Při syntéze ketoláték rovněž vzniká 3-HMG-CoA, ale k jeho syntéze **dochází v mitochondrii!** Účastní se jí tedy **zcela jiné enzymy**.*

- 2) Z 3-HMG-CoA **dvojitou redukcí karboxylové skupiny na primární alkoholovou skupinu** a odštěpením Co-A vzniká **kyselina mevalonová**. Pro redukcí (hydrogenaci) je potřeba **kofaktoru NADPH+H<sup>+</sup>**.



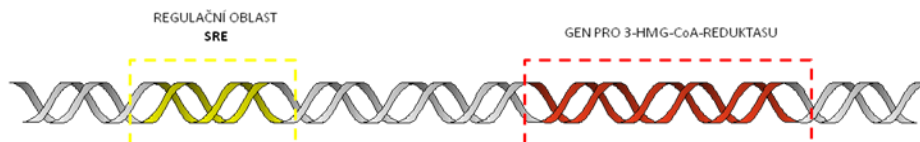
Syntéza kyseliny mevalonové (mevalonátu) **určuje rychlost syntézy cholesterolu** (jedná se o její nejpomalejší krok). Enzym **3-HMG-CoA-reduktasa** je **vázán na membránu ER**, je ovlivňován **čtyřmi různými způsoby** a jelikož cholesterol činí v poslední době mnoho problémů, je právě tento enzym **cílem mnoha farmak**.

Mechanismy regulace 3-HMG-CoA-reduktasy jsou:

a) **Regulace syntézy enzymu hladinou sterolů**

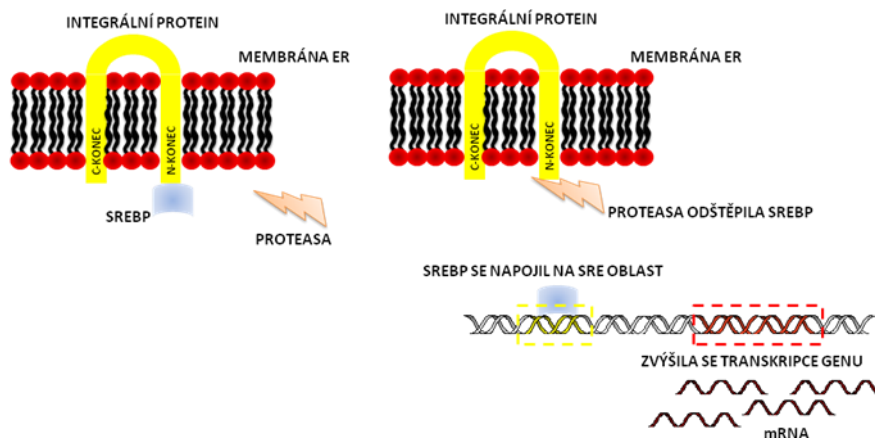
Chceme-li ovlivnit syntézu enzymu (obecně), je potřeba dostat se do jádra na DNA a zablokovat/aktivovat transkripci genu. Transkripci lze ovlivnit na dvou místech – v **oblasti promotoru** (nacházející se hned vedle genu) nebo v **regulační oblasti** (tzv. **HRE-oblast** – „**hormone regulatory element**“; která se **nenachází přímo u genu**).

Syntézu enzymu 3-HMG-CoA-reduktasy ovlivňuje **transkripční faktor** jménem **SREBP** (Sterol Regulatory Element Binding Protein). Jedná se o **protein, který se váže do regulační oblasti genu** (konkrétně SRE-oblasti; „Sterol Regulatory Element – oblasti“) pro 3-HMG-CoA-reduktasu.

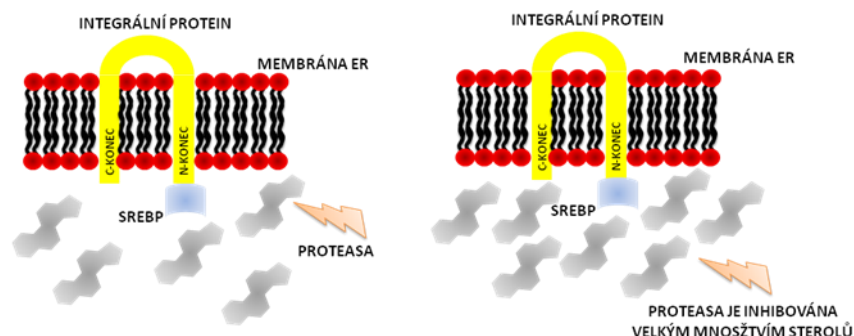


V **membráně ER** se nachází celá řada **integrálních proteinů**. Jeden z těchto integrálních proteinů je **prekurzorem SREBP** (SREBP tvoří jeho **N-terminální konec** zasahující do cytoplazmy).

Je-li v **buňce nízká hladina cholesterolu**, nic nebrání **proteasám** v **odštěpení SREBP** od integrálního proteinu. Uvolněný SREBP pak putuje do jádra, napojuje se do regulační oblasti a **zvýší transkripci genu pro 3-HMG-CoA-reduktasu**, čímž urychlí syntézu cholesterolu.



Je-li však v buňce velké množství cholesterolu (sterolů), stojí tento cholesterol v cestě proteasám, které tak nemohou odštěpit SREBP, který tudíž zůstává na membráně a nemůže ovlivnit transkripci genu.



b) **Regulace proteolýzy enzymu hladinou sterolů**

Steroly ovlivňovaly uvolnění SREBP a ten ovlivňoval **syntézu** enzymu. Kromě toho **ovlivňují steroly i degradaci enzymu**.

**Enzym obsahuje „transmembránovou sterol-senzitivní oblast**, která hraje roli při aktivaci jeho proteolýzy cestou proteazomu“. Tato moudrá věta více méně znamená: na enzymu se nachází místo, do kterého se váže **mevalonát, cholesterol** nebo **farnesol** (pouze při jejich vysoké koncentraci). Po té, co se napojí, **odehraje se v enzymu konformační změna**, kvůli které se na enzym **snáze napojí ubikvitin**. A snazší napojení ubikvitinu znamená dřívější odbourání v proteasomu (tedy rychlejší degradaci enzymu). **Vysoká hladina sterolů tímto způsobem urychluje degradaci enzymu**.

c) **Regulace aktivity enzymu kovalentní modifikací (fosforylace)**

Jak jsme se s tím již setkali u syntézy glykogenu, je možné **ovlivňovat aktivitu enzymu kovalentní modifikací**, nejčastěji se jedná o **fosforylaci**.

HGM-CoA-reduktasa je **aktivní v případě, že je defosforylovaná**; neaktivní je v případě, že je **fosforylovaná**.

Aktivitu HMG-CoA-reduktasy tak **zvyšují insulin a thyroídní hormony**, které aktivují **enzym fosfatasu**, která od HMG-CoA-reduktasy odštěpí fosfát a **tím ji defosforyluje (=aktivuje)**

Aktivitu HMG-CoA-reduktasy **snižují glukagon, intracelulární steroly (cholesterol, žlučové kyseliny) a glukortikoidy**, které aktivují **cAMP dependentní kinasu**, která na HMG-CoA-reduktasu připojí fosfát a tím ji **fosforyluje (=deaktivuje)**

d) **Kompetitivní inhibice enzymu léky (statiny; např. lovastatin, pravastatin, cerivastatin)**

Různé léky působí jako **kompetitivní inhibitory HMG-CoA-reduktasy**. Působí především v játrech, vážou se na něj a **snižují tak buněčnou koncentraci cholesterolu** (zastaví jeho tvorbu), což se projeví i **snížením hladiny cholesterolu v krvi**.

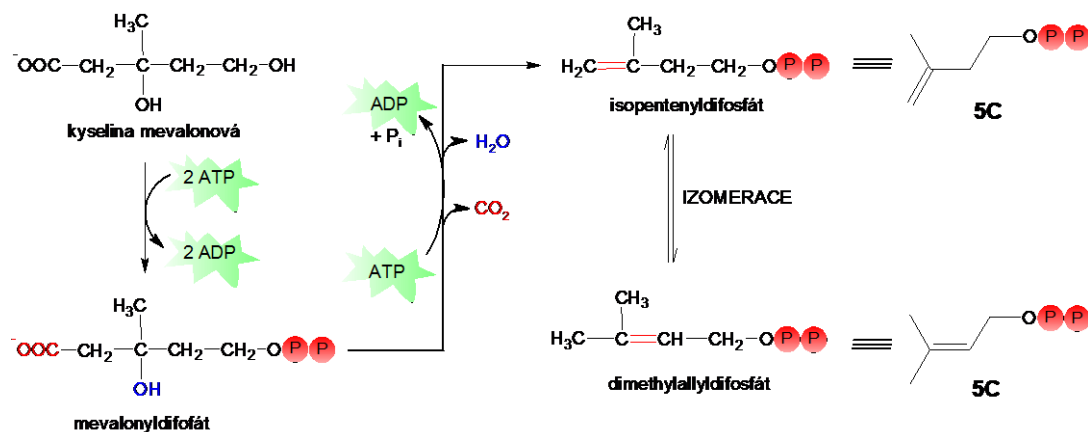
Léky se obecně nazývají **statiny**, přičemž princip jejich působení tkví v tom, že části jejich molekul jsou **analogicky podobné mevalonátu**.

Prvními statiny byly přírodní látky a po té, co byla zjištěna jejich struktura, se začaly vytvářet i syntetické (nebo semi-syntetické) přípravky.

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

### 3) Syntéza pětiuhlíkatých jednotek

**Mevalonát** je potřeba pro další syntézu cholesterolu **aktivovat** za pomoci **dvou ATP** na **mevalonyldifosfát**. Z mevalonyldifosfátu (6C) je pak za účasti dalšího ATP (ATP dodává energii) odštěpena voda a oxid uhličitý (dehydratace a dekarboxylace) za vzniku **isopentenyldifosfátu (5C)**, který může izomerovat na **dimethylallyldifosfát (5C)**.



Isopentenyldifosfát a dimethylallyldifosfát tvoří **základní pětiuhlíkaté jednotky**, ze kterých se syntetizují jednotky složitější. Tyto dvě struktury jsou základem struktury **isoprenoidů**<sup>1</sup>

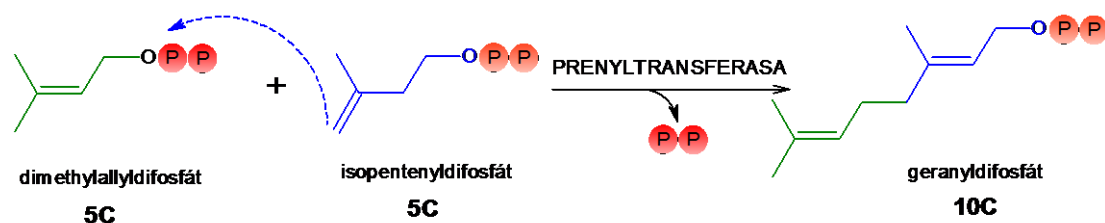
### 4) Syntéza desetiuhlíkaté jednotky

Pětiuhlíkaté jednotky se nyní spojují **principem „hlava + ocas“** (na dimethylallyldifosfátu i na isopentenyldifosfátu lze rozlišit rozvětvení (hlavu) a nevětvený konec (ocas)).

Při spojování jednotek dochází k:

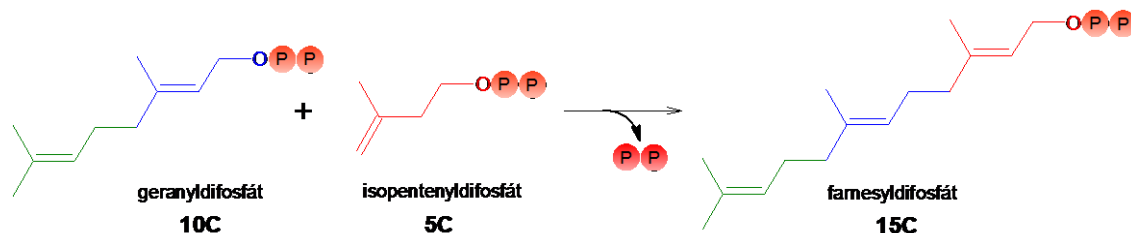
- odštěpení difosfátu  $\text{PP}_i$  z molekuly dimethylallyldifosfátu
- přesunu dvojné vazby „z hlavy na ocas“ u isopentenyldifosfátu

Vzniká **geranyldifosfát (10C)**<sup>2</sup>. Reakce se účastní enzym **prenyltransferasa**.



### 5) Syntéza patnáctiuhlíkatých jednotek

Spojením **geranyldifosfátu (10C)** s **isopentenyldifosfátem (5C)** vzniká **farnesyldifosfát (15C)**.



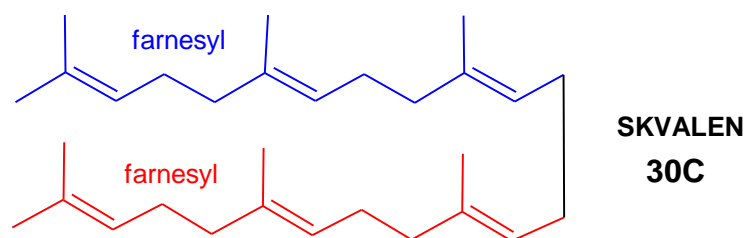
Farnesyldifosfát se může účastnit prenylace proteinů a kromě toho se **účastní i syntézy ubichinonu**.

<sup>1</sup> I dále vznikající desetiuhlíkaté, patnáctiuhlíkaté a třicetiuhlíkaté jednotky patří do skupiny isoprenoidů.

<sup>2</sup> Geranyl (10C) a farnesyl (15C) se mohou **účastnit prenylace proteinů** (viz dále).

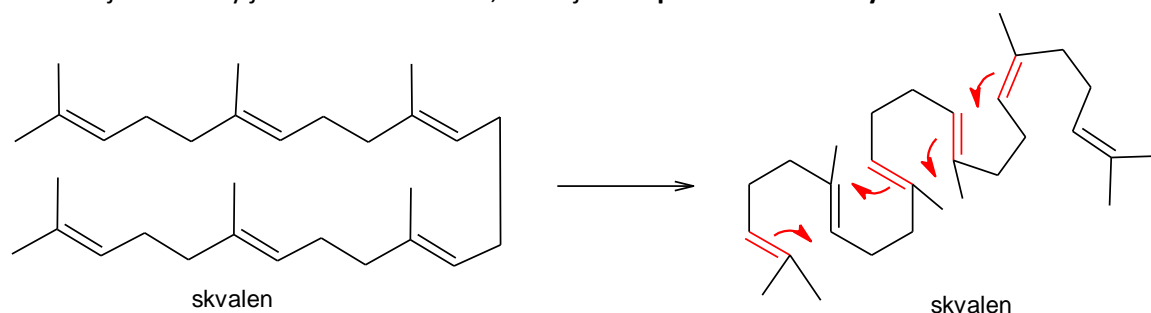
## 6) Syntéza třicetihlíkaté jednotky

Spojením dvou molekul farnesyldifosfátu vzniká **skvalen** (ke spojení tentokrát nedochází stylem „hlava + ocas“ ale „ocas + ocas“ což způsobí, že se odštěpí všechny fosfáty). Skvalen má **30 uhlíků**.



## 7) Cyklizace skvalenu a další reakce vedoucí ke vzniku cholesterolu

Skvalen jako takový je **lineární molekula**, která je **schopná sbalit se do cyklické formace**.



*Poznámka k obrázku: Červeně jsou znázorněny dvojně vazby, které se podílí na cyklizaci a které zaniknou.*

Cyklizace je ale **pouze prvním z asi 19 kroků vedoucích k cholesterolu**. Další kroky zahrnují **zkrácení uhlíkatého řetězce z 30 na 27 uhlíků**, **přesuny dvojných vazeb**, **redukcí dvojných vazeb** a další různé reakce. Všechny jsou lokalizovány v **endoplazmatickém retikulu**.

Jmenujme si alespoň některé meziproducty těchto 19 reakcí:



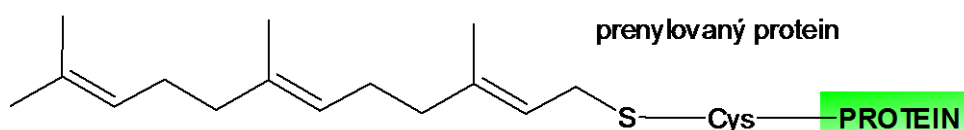
### 8.1.2 Další využití 10C a 15C meziproductů syntézy cholesterolu

#### A) Prenylace proteinů

**Geranyldifosfát (10C) a farnesyldifosfát (15C)** mohou sloužit k **prenylaci proteinů**.

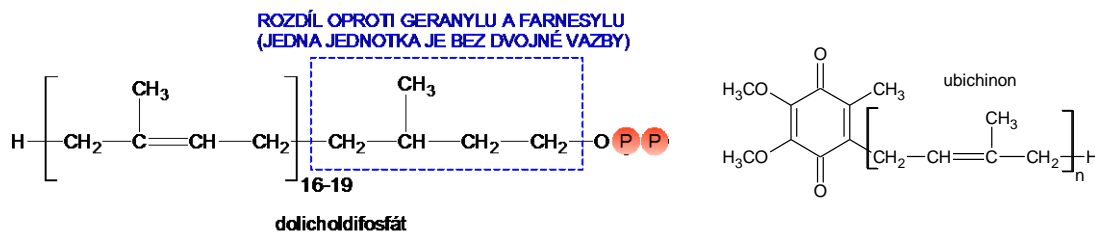
Prenylace proteinů je jednou z jejich možných **kovalentních modifikací** (jako např. **karbamylace**, **glykosylace apod.**). Farnesyl nebo geranyl jsou při ní **navázány na SH-skupinu cysteinu**, což umožňuje **interakci proteinů s membránou (zakotvení)**.

Zvláštní význam má prenylace u **proteinů zprostředkujících mezibuněčnou proliferaci** – jedná se např. o proteiny RAS, RAC, RHO apod. Některá farmaka **cíleně omezují prenylaci**, čímž **zpomalují buněčnou proliferaci**. Lze tak předcházet osteoporose, rakovině a některým kardiovaskulárním chorobám.



#### B) Syntéza dolicholu a ubichinonu

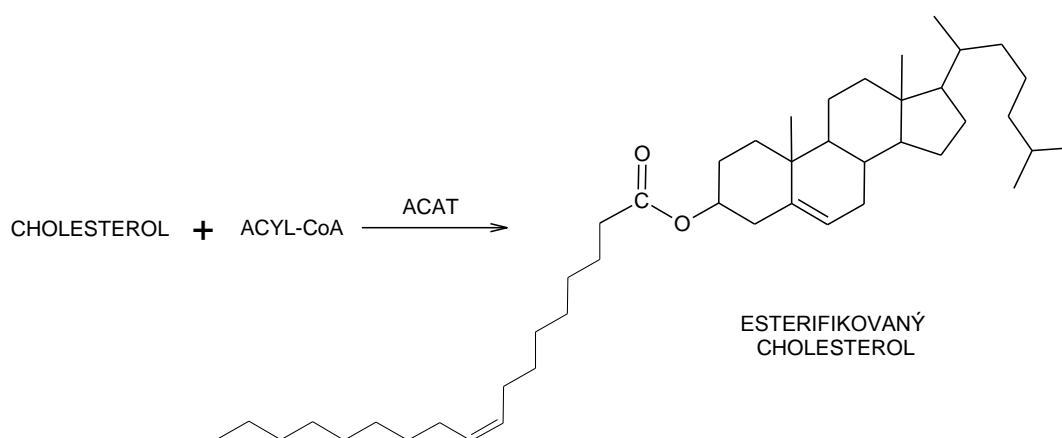
Farnesylu je součástí **dolicholu**, který se uplatňuje při **glykosylaci proteinů** a dále je součástí **ubichinonu**, který hraje významnou roli v **dýchacím řetězci**.



### 8.1.3 Další přeměny cholesterolu v těle

#### A) Esterifikace cholesterolu

Po té, co je cholesterol syntetizován (nebo přijat potravou) dochází v těle k jeho rychlé **esterifikaci**, při které se na volnou –OH skupinu napojuje **kyselina linolová nebo linoleová** (nejčastěji). Reakce **probíhá v endoplazmatickém retikulu** a katalyzuje ji enzym **ACAT** (**acyl-CoA-cholesterolacyltransferasa**).



Před esterifikací měl cholesterol volnou –OH skupinu, byl tedy alespoň trochu polární. Po esterifikaci –OH skupina „zanikla“ – esterifikovaný cholesterol je proto **hydrofobnější (nepolárnější)** než cholesterol.

Tento fakt se projevuje v tom, že **neesterifikovaný** cholesterol můžeme najít v **obalu** lipoproteinů, **esterifikovaná** cholesterol jen v jejich **jádře**.

#### B) Transport cholesterolu krví

Jak již víme z kapitoly 7, jsou lipidy (a stejně tak i **cholesterol**) transportovány krví **pomocí lipoproteinů**. Cholesterol je transportován hned v několika typech, z 20-40% ve formě **esterifikovaného cholesterolu**:

- z jater do tkání je **transportován ve formě VLDL**, který se po odbourání většiny triacylglycerolů mění na **LDL**, v podobě LDL se pak cholesterol dostává do tkání
- z tkání do jater je **transportován ve formě HDL** (mluvíme o **zpětném** neboli **reverzním transportu**)

Transport cholesterolu je pro tělo důležitý – většina cholesterolu vzniká v játrech (mají na to dostatek energie), odkud je transportován do tkání; zde je využit a následně se vrací do jater, **protože jen játra jej umí eliminovat**.

### C) Hladina cholesterolu v krvi

Doporučená koncentrace cholesterolu v krvi je **pod 5 mmol/l**. Při nálezu hladiny **vyšší jak 5 mmol/l** je potřeba provést vyšetření metabolismu lipidů.

Jak bylo řečeno v části B, vyskytuje se cholesterol v krvi v podobě **LDL** a **HDL**. O LDL mluvíme jako o „**zlém cholesterolu**“ a **HDL** jako o „**hodném cholesterolu**“. Při zjištění zvýšené hladiny cholesterolu, je mj. potřeba provést vyšetření, zda se jedná o HDL nebo LDL, neboť je-li zvýšena hladina HDL, jedná se o **prognosticky příznivý faktor**.

*Poznámka:*

*LDL je „zlý“ proto, že se v krvi vyskytuje po dobu 2-3 dní. Tím, že je tak dlouho v krvi, je dlouhodobě v ohrožení např. ataku volných radikálů, které jej mohou poškodit. Poškozený LDL je následně vychytáván makrofágy (které pro něj mají specializované receptory). Ty se po nějaké době mění na „bublinové buňky“ s vysokým obsahem cholesterolu.*

*Receptory na povrchu makrofágů mohou být poškozeny nebo se nevytvářejí vůbec – mluvíme o familiární hypercholesterolemii (dědičná choroba). V krvi proto koluje velké množství LDL cholesterolu, který není možné vychytat. Tím, že jej není možné vychytat, není možné jej znovu použít a buňka je tak nucena vytvářet stále více a více nového cholesterolu. To vede k dalšímu hromadění v krvi a následně i ve šlachách (vznikají xantomata). Vysoká hladina LDL navíc zvyšuje riziko srdečního infarktu.*

#### 8.1.4 „Odbourávání cholesterolu“

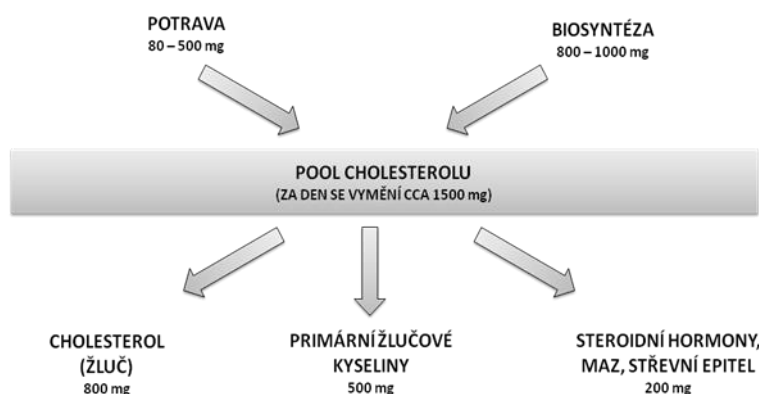
**Tělo neumí cholesterol (ani jinou steroidní strukturu) odbourat na vodu a oxid uhličitý!**

Díky játrům je možné **cholesterol z těla eliminovat** dvěma hlavními způsoby (přičemž oba způsoby v sobě zahrnují vyloučení cholesterolu žlučí):

- přeměnou na žlučové kyseliny**, které jsou následně exkretovány do trávicího traktu a vyloučeny z těla
- vylučováním cholesterolu** (nezměněného) **přímo do žluče** (a tím do střeva)

Vedlejšími způsoby eliminace cholesterolu je jeho **přeměna na steroidní hormony** (ty konjugují s kyselinou glukuronovou a je možné je vyloučit **močí**) nebo **vylučování kožním a ušním mazem**, či **odloučením střevním epitelem**.

Cholesterolová bilance za 24 hodin by měla vypadat následovně:



O žlučových kyselinách se budeme dále bavit v kapitole 8.1.5, nyní se zaměříme na případ, že tělo vyloučilo do trávicího systému **volný cholesterol**.

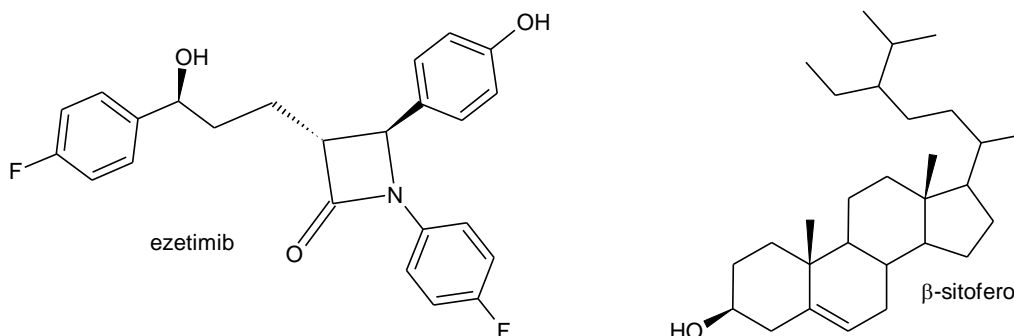
Takto vyloučený cholesterol mohou potkat jen 2 různé osudy (ve střevě):

- je **zpětně vstřebán** („tělu je jedno, jestli přijme nový cholesterol z potravy nebo zpětně přijme ten, který již vyloučilo)
- je **střevními bakteriemi** přeměněn na **koprostanol** (redukce dvojná vazby) a **vyloučen stolicí**

ADa)

**Zpětné vstřebávání** (a **vstřebávání** cholesterolu z potravy vůbec) zajišťují **NPC1L1 transportéry** (Niemann-Pick **C1 Like 1** protein). Cholesterol je přes ně transportován v **podobě směsných micel**.

Vstřebávání cholesterolu je jedním z **cílů různých léčiv**. Např. **ezetimibu**, případně i **rostlinných sterolů**.



**Ezetimib** blokuje NPC1L1 receptory a brání tak resorpci cholesterolu. Používá se i v ČR (Ezetrol) a je vysoce specifický. Spolu s ním jsou podávány i **statiny**, které inhibují syntézu **cholesterolu** (protože v okamžiku, kdy snížíme jeho resorpci, začne si jej tělo více vytvářet).

**Fytosteroly** rovněž snižují **resorpci cholesterolu**. Jedná se o látky velmi blízké chemické struktury. **Vmezežují se proto do směsných micel** a jsou transportovány do enterocytů místo cholesterolu. Zdrojem fytosterolů v potravě jsou především **klíčkové oleje** (pšeničný a kukuřičný), dále olej **řepkový, sojový a olivový** a potraviny **obohacené o fytosteroly** (roztíratelné tuky – u nás Flora, mléko, majonézy a mléčné výrobky).<sup>3</sup>

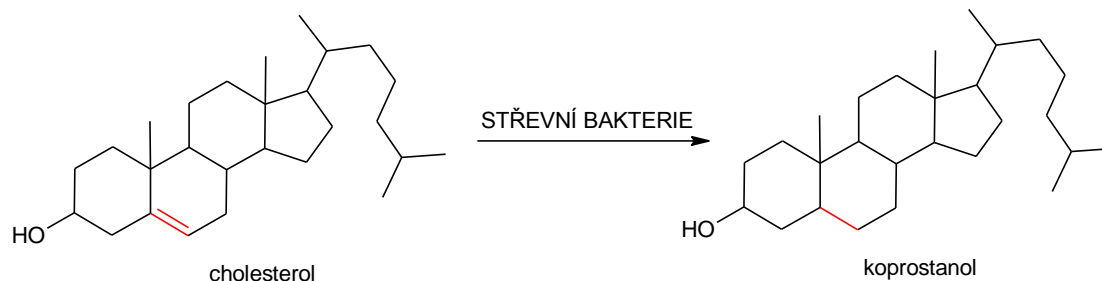
Steroliny

Jelikož naše tělo **neumí fytosteroly zpracovávat** (a nejen proto), mají buňky střevní sliznice na svém povrchu ještě jednu skupinu **transportérů** zvanou **steroliny**. Jedná se o transportéry ze skupiny **ABC-transportérů** (ATP-Binding Cassete proteiny), které využívají energii z ATP a „pumpují“ z buňky nepoužitelné steroly (tedy fytosteroly, ale i **nadbytečný cholesterol**) zpět do lumen střeva. Příkladem steroliny jsou např. ABCG5 a ABCG8 transportéry.

**Vyskytne-li se porucha v tvorbě steroliny** (jsou nefunkční, nebo se netvoří) dochází k **sitosterolemii** – vzácnému autozomálně recesivnímu onemocnění, které se projevuje **akumulací fytosterolů ve tkáních**.

ADb)

**Přeměna na koprostanol:**



Na koprostanol může být přeměněn jen vyloučený cholesterol, nikoliv vyloučení žlučové kyseliny.

<sup>3</sup> Osobám se zvýšenou hladinou cholesterolu se doporučuje konzumace 2g fytosterolů denně.



### 8.1.5 Žlučové kyseliny

Druhým hlavním způsobem, jak dostat cholesterol ven z těla, je **přeměnit jej na žlučové kyseliny**. Obecně se jedná o pochody zahrnující **hydroxylace** (v polohách 7, 3 a 12), **redukcí** dvojných vazeb a **zkrácení postranního řetězce** (primární žlučové kyseliny mají 24C, původní cholesterol 27C).

Rozlišujeme:

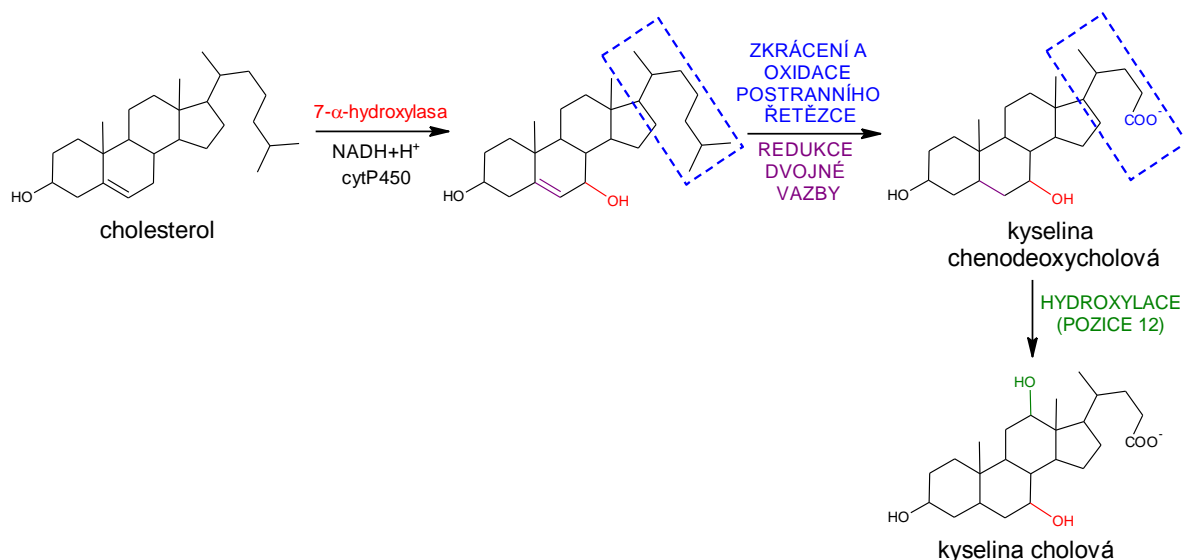
- primární** žlučové kyseliny (vznikly přímo z cholesterolu)
- konjugované** žlučové kyseliny (primární žlučové kyseliny konjugované s dalšími látkami)
- sekundární** žlučové kyseliny (vznikly z primárních či konjugovaných žlučových kyselin ztrátou –OH skupiny na sedmém uhlíku)

#### Syntéza primárních žlučových kyselin:

Probíhá na **endoplazmatickém retikulu jaterních buněk**.

Nejprve dochází k **hydroxylaci na sedmém uhlíku**. Této hydroxylaci se účastní **NADH+H<sup>+</sup>** a **cytochrom P450** (tyto dvě struktury společně vytvářejí tzv. **monooxygenasový systém**), enzymem je **7- $\alpha$ -hydroxylasa<sup>4</sup>**.

Po této hydroxylaci dochází ke **zkrácení postranního řetězce** (a oxidaci uhlíku v pozici 24) a **redukcí dvojných vazeb**, čímž vzniká **chenodeoxycholát**. Další hydroxylací v **pozici 12** vzniká **cholát**.



**Chenodeoxycholát** a **cholát** jsou zástupci **primárních žlučových kyselin**. Kyseliny se jim říká mj. pro jejich hodnoty **pK<sub>A</sub>  $\approx$  6**. Tuto hodnotu je možné ještě **snížit konjugací** (viz dále).

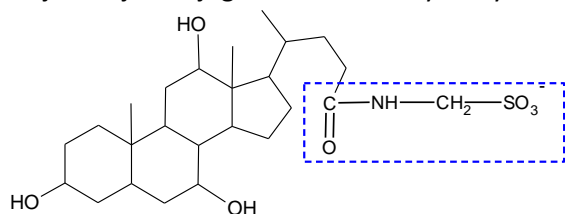
#### Konjugace žlučových kyselin

Ještě před vyloučením do střeva, se v **játrech** odehrává proces tzv. **konjugace žlučových kyselin**. Cholová kyselina (její karboxylová skupina na 24 uhlíku) se spojuje pomocí **amidové vazby** s **glycinem** a **taurinem** (nejčastěji), vzniká tak **taurocholát** a **glykocholát**.

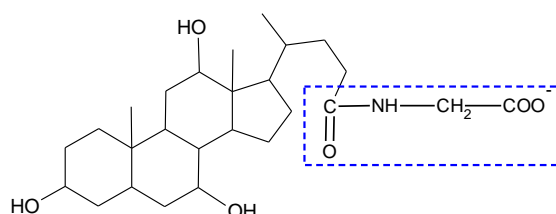
**Význam** konjugace spočívá v tom, že konjugované žlučové kyseliny mají **nižší pK<sub>A</sub>** (taurocholová cca 2; glykocholová cca 4), což **zvyšuje jejich detergentní vlastnosti**.

<sup>4</sup> Řecké písmeno  $\alpha$  v názvu enzymu značí, že –OH skupina bude umístěna **pod rovinu kruhu**

Nejběžnější konjugované žlučové kyseliny:



kyselina taurocholová

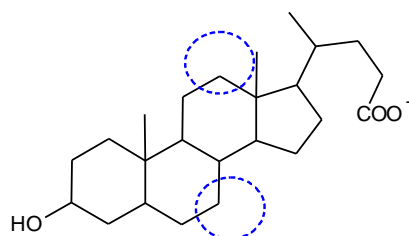


kyselina glykocholová

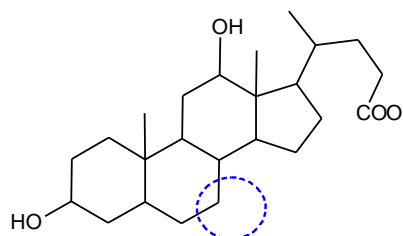
### Vznik sekundárních žlučových kyselin

**Kojugované** a **primární** žlučové kyseliny byly po svém vzniku vyloučeny žlučí do **tenkého střeva**. Ve střevě však žijí **různé bakterie**, které mohou **primární žlučové kyseliny** částečně **redukovat** (odstranit -OH skupinu na C7) a **konjugované žlučové kyseliny** mohou **dekonjugovat** a rovněž **částečně redukovat**.

Jejich působením vznikají především dvě žlučové kyseliny a to **lithocholát** (chenodeoxycholát bez -OH skupiny na C7) a **deoxycholát** (cholát bez -OH skupiny na C7).

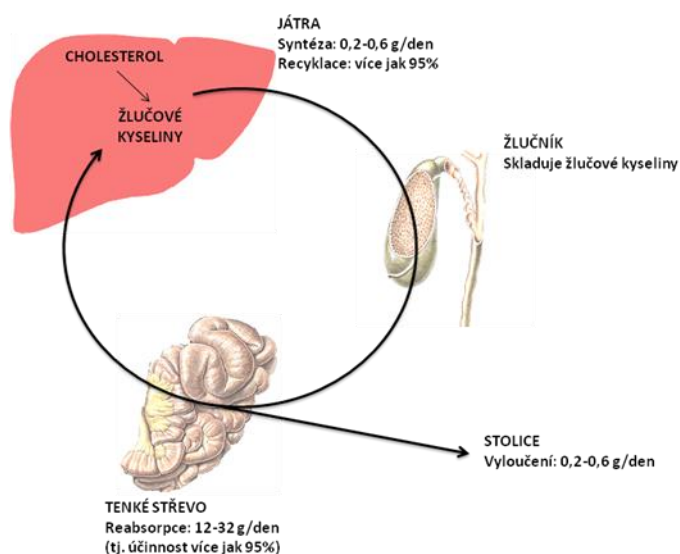


kyselina lithocholová



kyselina deoxycholová

Lithocholát má jen jednu -OH skupinu, je tedy **méně rozpustný** než zbytek žlučových kyselin a je proto **nejvíce vylučován stolicí**. Ostatní žlučové kyseliny (primární a sekundární) se mohou zpětně vrátit do jater v tzv. **enterohepatálním oběhu žlučových kyselin**:



K obrázku:

Během dne cirkuluje v enterohepatálním oběhu asi 30 gramů žlučových kyselin. Z těchto 30 g je pouze 0,2 – 0,6 g denně nově syntetizováno a stejné množství je přitom denně vyloučeno. Zpětné vstřebávání ve střevě tedy probíhá z více jak 95% (30 g je vyloučeno do střeva z jater, zhruba 29 g se vrátí do jater ze střeva).

I **žlučové kyseliny** a jejich oběh jsou cílem **léčiv**, která mají za úkol snížit hladinu cholesterolu. Jelikož zpětná resorpce žlučových kyselin je velká (více jak 95%) a jejich syntéza malá (asi 0,2 g), tak léčiva, která **dokážou snížit** jejich **resorpci**, způsobí **zvýšení** jejich **syntézy** (tělo chce zachovat enterohepatální oběh). Tím, že se **zvýší syntéza žlučových kyselin**, na kterou je potřeba cholesterol, čímž **poklesne hladina cholesterolu v krvi**.

Užívaná léčiva jsou většinou **iontoměníče** (např. **Cholestyramin** a **Colestipol**).

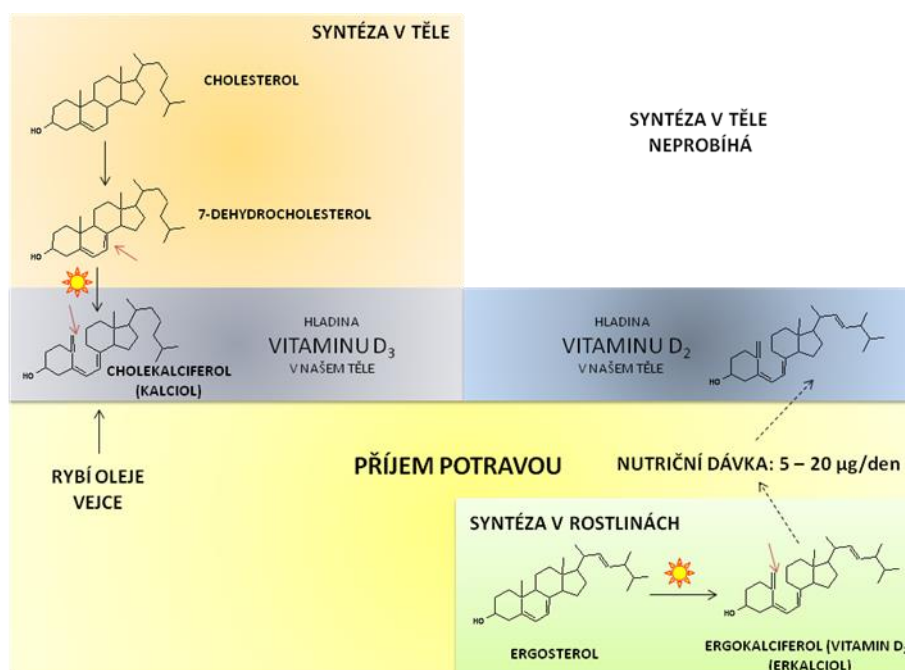
Princip účinku: po požití **nejsou vstřebávány ze střeva**, zůstávají v jeho lumen a **uvolňují ze svého povrchu chloridové ionty**, přičemž „na oplátku“ na sebe **vážou žlučové kyseliny**. Na **1 g** léčiva se může navázat až **100 mg žlučových kyselin!!!**

### 8.1.6 Vitaminy D

**Vitaminy D** tvoří zvláštní skupina sterolů zvaná **kalciole**. V jejich steroidním skeletu **došlo vlivem ultrafialového záření** ( $\lambda = 290 \text{ nm}$ ) k **narušení B kruhu** (konkrétně k rozštěpení vazby mezi uhlíkem 9 a 10).

K výše popsanému rozštěpení dochází **nejčastěji** v případě, že se v B kruhu nachází dvě dvojně vazby v polohách 5 a 7. V lidském těle tuto podmínku splňuje látka zvaná **7-dehydrocholesterol** (prekurzor vitamínu D<sub>3</sub>), u rostlin látka **ergosterol** (prekurzor vitamínu D<sub>2</sub>). Tímto způsobem vzniklé vitaminy jsou pak v organismu dále upravovány, nejvíce do podoby **kalcitriolu**.

To, jakým způsobem se do našeho těla dostávají vitaminy D, znázorňuje následující schéma:



Ke schématu:

Vitamin D<sub>3</sub> (levá část schématu):

- syntéza v těle začíná u cholesterolu, který je přeměněn na 7-dehydrocholesterol; ten je vlivem slunečního záření přeměněn na **kalciole** (tato přeměna se odehrává v kůži)
- zdroje v potravě: rybí oleje; vejce

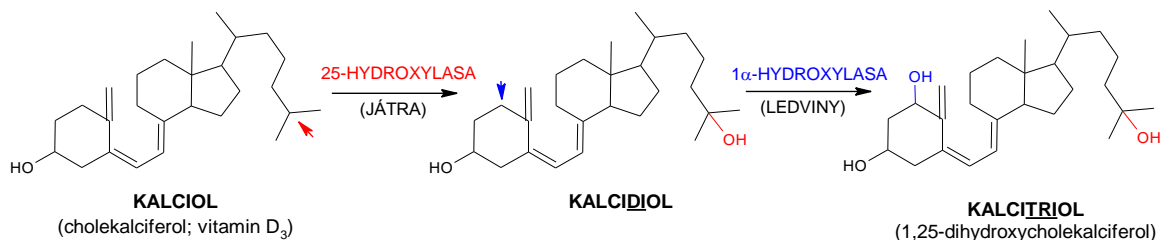
Vitamin D<sub>2</sub> (pravá část schématu)

- v těle si jej sami vyrobíme neumíme, musíme jej přijímat jako složku potravy
- v rostlinách vzniká působením slunečního záření na ergosterol (otevře se kruh a vznikne erkalciole, neboli vitamin D<sub>2</sub>); denně bychom měli přijímat 5 – 20 µg

Poznámka: malé červené šipky naznačují, kde ve struktuře došlo ke změně

## Vznik a význam kalcitriolu

**Kalcitriol** je významnou látkou, která se (jak název napovídá) podílí na **hospodaření s vápníkovými ionty**. Vzniká z vitamínu D<sub>3</sub>:



V průběhu přeměny dochází k dvěma **hydroxylačním reakcím** v polohách **25** a **1**. První přeměna probíhá v **játrech** (hydroxylace na C25), po té je vzniklý meziprodukt (kalcidiol) transportován do **ledvin**, kde je provedena finální hydroxylace na C1 (vzniká kalcitriol).

Kalcitriol ovlivňuje hospodaření s vápníkem především v **tenkém střevě, ledvinách a kostech**.

### Tenké střevo:

- indukuje změnu **konformace cytosolového kalmodulinu**, čímž usnadňuje průchod Ca<sup>2+</sup> iontů cytoplazmatickou membránou
- indukuje syntézu **kalbindinu**, který usnadňuje transport Ca<sup>2+</sup> iontů v enterocyту
- indukuje syntézu **Ca<sup>2+</sup>-ATPasy**, která čerpá Ca<sup>2+</sup> ionty z enterocyту do extracelulárního prostoru

### Ledviny:

- reguluje resorpci Ca<sup>2+</sup>

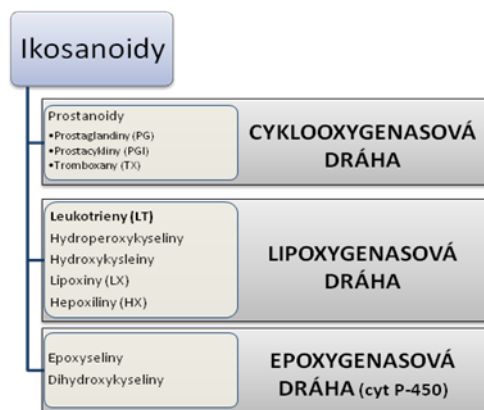
### Kost

- reguluje **resorpci Ca<sup>2+</sup>** a **novotvorbu kostní tkáně**
- v nadměrném množství (při předávkování) **inhibuje mineralizaci kosti** (patrně narušuje diferenciaci osteoblastů)

## 8.2 Ikosanoidy

Ikosanoidy jsou látky, které **působí jako lokální hormony** prostřednictvím **G-proteinů**.

Ikosanoidy bychom mohli rozdělit následovně:



Všechny ikosanoidy jsou **syntetizovány z PUFA** (k. eikosatrienová, k. arachidovoá, EPA). Rozdíl je v následné úpravě PUFA:

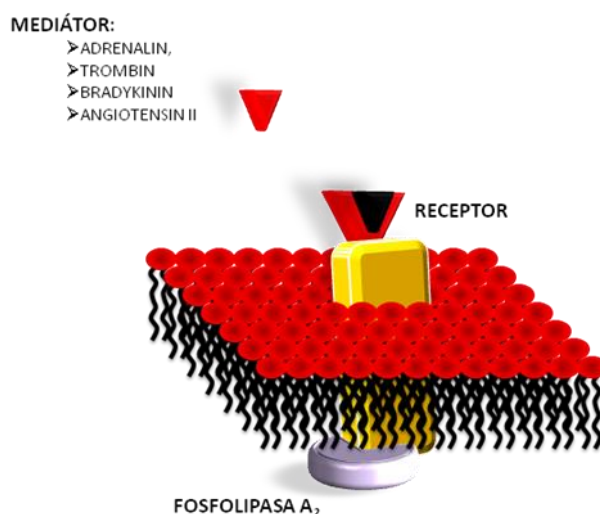
- prostanoidy vznikají vlivem enzymu **cyklooxygenasy**
- leukotrieny (a mnohé další skupiny sloučenin) vznikají vlivem enzymu **lipoxygenasy**
- epoxykyseliny a dihydroxykyseliny vznikají vlivem enzymu **epoxygenasy**

Na syntézu **prostanoidů a leukotrienů** se nyní podíváme podrobněji. Ostatní skupiny jsou uvedeny pro úplnost.

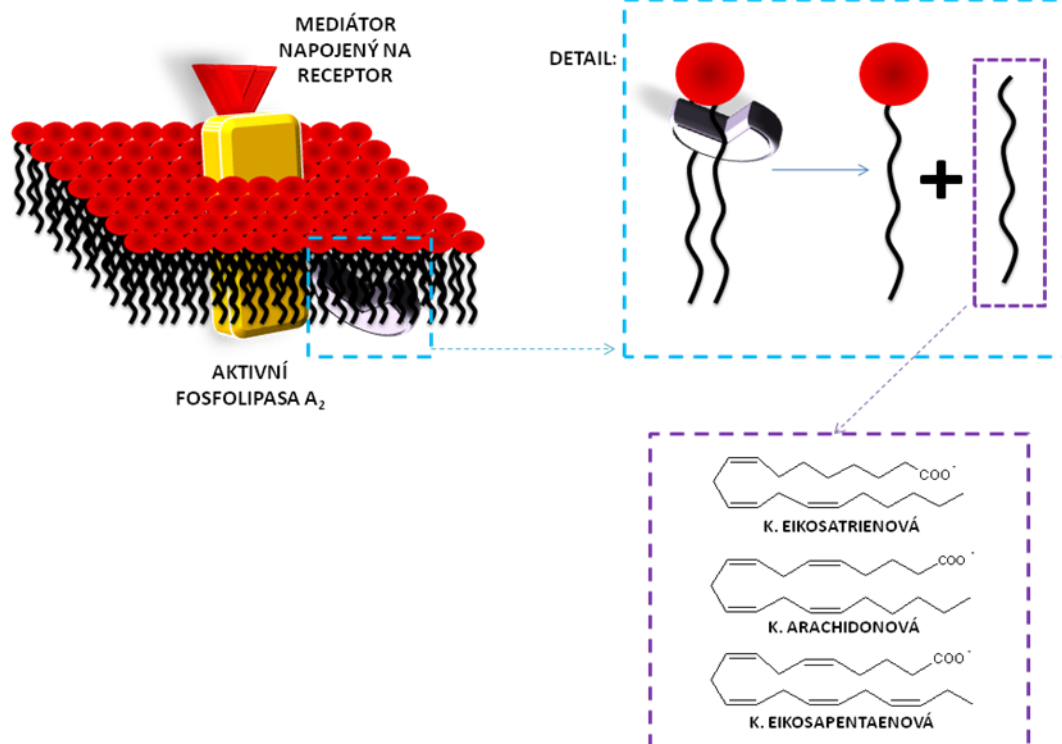
### 8.2.1 Syntéza ikosanoidů

Začátek syntézy obou skupin ikosanoidů je shodný – je potřeba **odštěpit PUFA** (s 20 uhlíky) **z membránového fosfolipidu**. Jak již víme, jsou **nenasycené zbytky** mastných kyselin navázány většinou na **druhém uhlíku** glycerolového základu fosfolipidu, z čehož vyplývá, že k jejich odštěpení **potřebujeme enzym FOSFOLIPASU A<sub>2</sub>** (viz kap. 7.18; Štěpení fosfolipidů)

Fosfolipasa A<sub>2</sub> se vyskytuje na buněčné membráně a je spojena s **receptorem**, na který se váže např. **adrenalin, trombin, bradykinin a angiotensin II**. Tyto látky svým navázáním na receptor způsobí aktivaci fosfolipasy A<sub>2</sub>, která tak může z membránového fosfolipidu odštěpit PUFA.



K obrázku: Stav před navázáním mediátoru.



K obrázku:

Mediátor se napojil na receptor, čímž došlo k aktivaci fosfolipasy. Ta odštěpila dvacetihlíkatou PUFA (k. eikosatrienovou, k. arachidonovou, k. eikosapentaenovou) z fosfolipidu.

**Fosfolipasa A<sub>2</sub>** je významným enzymem (stojí na počátku metabolických drah všech ikosanoidů), je tedy potřeba vědět, jak její funkci **inhibovat** a **aktivovat**.

**Inhibici** zajišťuje **bílkovina lipokortin**. Syntézu lipokortinu **vyvolávají kortikoidy** a právě **steroidní protizánětlivé látky**<sup>5</sup> (jako **hydrokortisol** a **prednison**) jsou látky ze skupiny kortikoidů. Při podání jako léčiva, způsobí vznik lipokortinu, který inhibuje fosfolipasu A<sub>2</sub> a ta zabrání vzniku ikosanoidů. **Aktivaci** fosfolipasy A<sub>2</sub> umožňují **vápenaté ionty**.

### 8.2.1.1 Účinky a syntéza prostanoidů

Syntéza prostanoidů probíhá na **cisternách ER** téměř všech buněk. Jejich účinky jsou ale značně odlišné (někdy až protichůdné), neboť buňky pro ně mají mnoho typů receptorů. Abychom se mohli na jejich účinky odkazovat, uvedeme si je ještě před vlastní syntézou.

**Tabulka 1 - Přehled biologických účinků některých prostanoidů**

Prostanoid	Účinek
<b>TXA<sub>2</sub></b>	agregace trombocytů; kontrakce hladkého svalstva
<b>PGI<sub>2</sub>/PGI<sub>3</sub></b>	antiagregační účinek; vyvolání relaxace hladkého svalstva; zvýšení intenzity a trvání bolesti
<b>PGE<sub>2</sub></b>	inhibice kontrakce hladkého svalstva, vasodilatace, inhibice sekrece HCl a stimulace sekrece mucinu (=ochrana žaludeční sliznice), zvýšení teploty, zvýšení intenzity a trvání bolesti, zvýšení permeability cév (=červenání při zánětu)
<b>PGD<sub>2</sub></b>	navození spánku, kontrakce bronchiálního svalstva
<b>PGF<sub>2</sub></b>	kontrakce hladkého svalstva, zvýšení tělesné teploty

<sup>5</sup> Steroidní protizánětlivé látky bývají nazývány **steroidní antiflogistika**.

Účinky některých prostanoidů (*podrobněji*):

### TXA<sub>2</sub> a PGI<sub>2</sub>

TXA<sub>2</sub> je produkován **trombocyty**, vyvolává vasokonstrikci a aktivaci destiček, jeho biologický poločas<sup>6</sup> je asi **30-60 sekund**. PGI<sub>2</sub> je produkován **cévním endotelem** a má **opačné účinky, než TXA<sub>2</sub>**, jeho poločas je delší (asi **3 minuty**).

Tyto dva prostanoidy **působí jako antagonisté (proti sobě)** a jejich **vyvážený účinek** se podílí na **krevním srážení**. Ovlivňování tohoto „vyvážení“ je principem účinky kyseliny acetylsalicylové (viz dále).

### PGE<sub>2</sub>

PGE<sub>2</sub> je prostanoidem, který **sníží riziko vzniku žaludečního vředu**:

- sníží sekreci HCl (méně HCl, menší šance natrávení žaludeční sliznice)
- zvýší sekreci mucinu (více mucinu, menší šance natrávení žaludeční sliznice)

### PGE<sub>2</sub> a PGF<sub>2α</sub>

Tyto dva prostanoidy jsou **tvořeny mj. v endometriu**, kde **indukují kontrakce dělohy**. V plodové vodě se normálně vyskytuje jen jejich **nízká koncentrace**, která ale před porodem **masívně stoupá** – což znamená, že spolu s oxytocinem se podílejí na **indukci porodu** (oproti oxytocinu **vždy kontrahují dělohu**).

Této znalosti je využíváno v případech, kdy je potřeba vyvolat **potrat** (jsou podány buď intravenózně nebo intravaginálně).

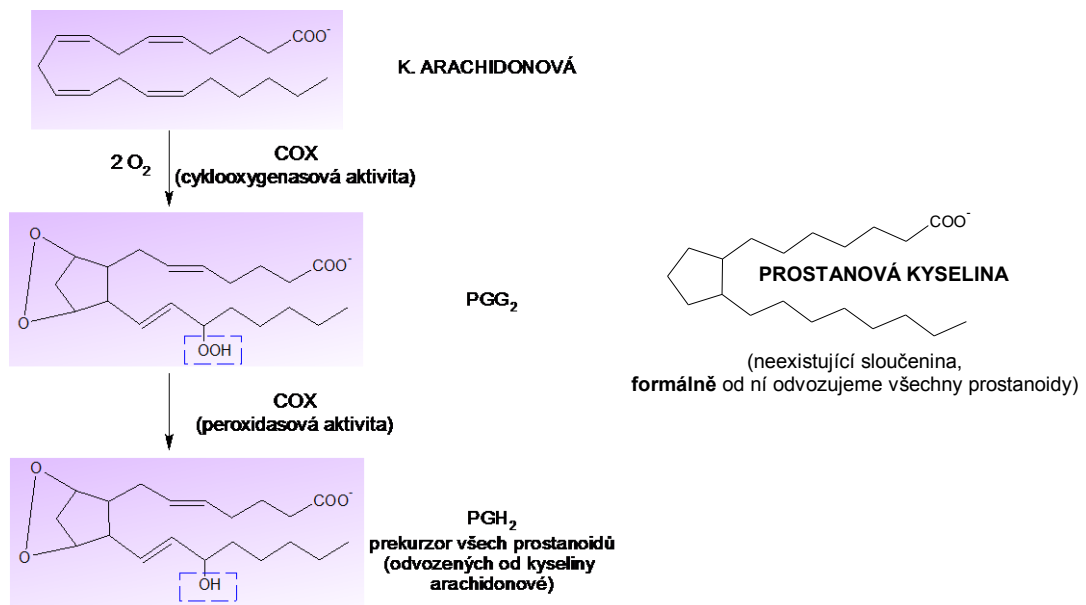
### Syntéza prostanoidů (cyklooxygenasová dráha):

K biosyntéze potřebujeme 20C PUFA (kterou jsme si odštěpili z fosfolipidu v předchozím kroku).

Na odštěpenou PUFA následně začne působit enzym **COX (cyklooxygenasa)**.

COX je enzym, který má **dvě různé enzymové aktivity**:

- cyklooxygenasovou** (způsobí vznik cyklu a oxygenaci)
- peroxidasovou** (způsobí zánik peroxidu R-OOH)



*Poznámka: Všechny prostanoidy se „formálně“ odvozují od prostanové kyseliny.*

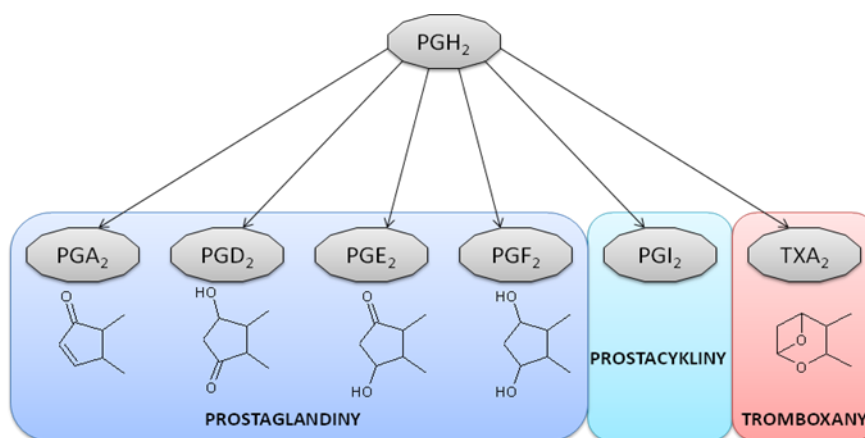
<sup>6</sup> Biologický poločas prostanoidů je **obecně velmi krátký** („musí zapůsobit a zmizet“); enzymově katalyzovaný rozklad trvá asi 0,1 – 10 minut; neenzymová hydrolýza od pár sekund po několik minut

Je vhodné si uvědomit, že vlivem COX **zaniknou v molekule dvě dvojně vazby**. To se projeví v názvu vzniklého prostanoidu, z něhož pak můžeme zpětně odvodit, ze které PUFA vznikl. Např.  $\text{PGA}_2$  = prostaglandin, v jehož molekule se nacházejí 2 dvojně vazby, vznikl tedy z kyseliny arachidonové (původně 4 dvojně vazby). Obdobně pak  $\text{PGA}_1$  vznikl z eikosatrienové a  $\text{PGA}_3$  vznikl z EPA.

*Jak bylo řečeno v odstavci výše a jak vyplývá z příkladu kyseliny arachidonové:*

- **kyselina eikosatrienová je prekurzorem prostanoidů skupiny 1**  
k. eikosatrienová  $\rightarrow$   $\text{PGG}_1 \rightarrow \text{PGH}_1$
- **kyselina arachidonová je prekurzorem prostanoidů skupiny 2**  
k. arachidonová  $\rightarrow$   $\text{PGG}_2 \rightarrow \text{PGH}_2$
- **kyselina eikosapentaenová je prekurzorem prostanoidů skupiny 3**  
k. eikosapentaenová  $\rightarrow$   $\text{PGG}_3 \rightarrow \text{PGH}_3$

$\text{PGH}_{1-3}$  jsou pak prekurzory dalších **typů prostanoidů**, jejichž syntéza je již složitější (proto se jí nebudeme dopodrobna zabývat). Příklad vznikajících látek si uvedeme na  $\text{PGH}_2$ :



Ne všechny typy prostanoidů vznikají ve všech tkáních! Např. v krevních destičkách se nachází pouze **tromboxansynthasa** (vznik  $\text{TXA}$ ), v cévním endotelu **prostacyklinsynthasa** (vznik  $\text{PGI}$ ). Pouze plíce a slezina mají téměř všechny enzymy potřebné pro syntézu všech prostanoidů.

### Několik slov o cyklooxygenase

Cyklooxygenasa se vyskytuje ve dvou formách:

#### a) COX-1

COX-1 je **konstitutivní forma** (je **stále přítomna v organismu**), jejímž úkolem je zajišťovat **syntézu prostanoidů pro normální fyziologické funkce** (jako je srážení krve, ochrana žaludeční sliznice apod.)

#### b) COX-2

COX-2 je **indukovatelná forma**, jejíž **tvorba je indukována při zánětu** (aktivátory vyvolávající její syntézu jsou např. **cytokininy a růstové faktory**).

To, že existuje COX, se ví již delší dobu – za tuto dobu bylo vytvořeno velké množství léků, které působí jako její inhibitory (**obou forem!**).

Inhibice těmito léky může být **ireverzibilní** nebo **reverzibilní**:



**a) Ireverzibilním inhibitorem COX je acetylsalicylová kyselina (ASA).**

Principem působení ASA je **ovlivnění vzájemného účinku tromboxanu TXA<sub>2</sub> a prostacyklinu PGI<sub>2</sub>** při vytváření trombů v krevním řečišti – **zeslabuje se účinek tromboxanu** tím, že je snížena jeho **produkce v trombocytech**.

Po té, co se ASA dostane do těla:

- dostane se do trombocytů a endotelu cévního řečiště (pouze ale do **portální krve**, většina ASA je totiž rozložena v játrech a periferie je tak jen minimálně zasažena)
- v trombocytech inhibuje COX<sup>7</sup>, čímž jim zabrání v syntéze tromboxanu
- v endotelu inhibuje COX, čímž mu zabrání v syntéze PGI<sub>2</sub>, ale endotelové buňky (oproti trombocytům) mají jádro a jsou schopny **nesyntetizovat si novou COX de novo**; po nějaké době je tedy nefunkční COX nahrazena novou a syntéza PGI<sub>2</sub> se obnoví
- tím je zajištěno, že je asi 10x více syntetizováno PGI<sub>2</sub> než TXA<sub>2</sub>, což vede ke snížení tvorby trombů (a dalším efektům), které se projeví jako úleva

Pozn. Bylo prokázáno, že acetylsalicylová kyselina (Acylpyrin a podobné léky) má příznivý vliv při **prevenci kardiovaskulárních chorob**, je-li **podávána v malých dávkách** (81-325 mg denně).

**b) Reverzibilními inhibitory COX jsou:**

- Ibuprofen
- Diklofenak
- Indometacin

Tím, že inhibujeme COX výše uvedenými léky, zabráníme tvorbě prostanoidů. To děláme cíleně v případě, že chceme **snížit teplotu, potlačit projevy zánětu, zmenšit bolest atd.** Avšak vedlejším efektem užívání těchto léků je **snížená ochrana epitelu střevní sliznice, snížení agregability (srážecí schopnosti) trombocytů** apod.

Je to dáno tím, že výše uvedené léky inhibují COX-1 i COX-2. To, že existují dvě formy COX, se zjistilo poměrně nedávno – od té doby se vytvářejí **léky, které cíleně inhibují pouze COX-2** (to by mělo vést k tomu, že COX-1 zajistí normální fyziologické funkce, čímž se odstraní možné vedlejší efekty, které se objevovaly u původních léků).

Prvními takovými léky (zaměřenými čistě na COX-2; tedy **COX-2 specifické**) byly **Coxiby (Rifecoxib, Celecoxib)**, které se však přestaly užívat vzhledem k prokázanému **kardiovaskulárnímu riziku** (byly tedy účinné, ale škodlivé).

Nové léky jako jsou **Nimesulid a Meloxicam**, které jsou **COX-2 preferenční** (inhibují především COX-2, ale mohou inhibovat i COX-1) a jsou zatím používány, i když se ukazuje, že mají (pravděpodobně) negativní vliv na **jaterní buňku**.

### 8.2.1.2 Účinky a syntéza leukotrienů

**Leukotrieny** vznikají z 20C PUFA v **leukocytech** nebo **žirných buňkách** vlivem enzymu **lipoxygenasy** (lipoxygenasová dráha).

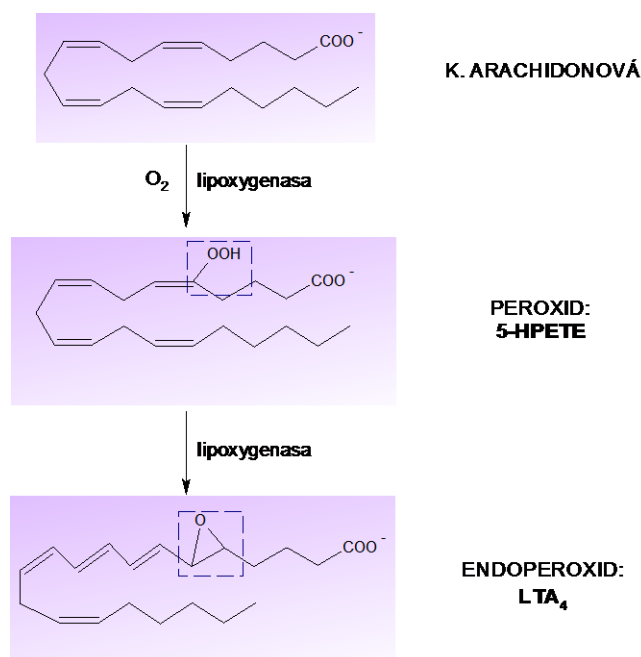
Lipoxygenasa způsobí, že v molekule PUFA **dojde k izomeraci tří dvojných vazeb** a z izolované polohy se stane poloha **konjugovaná** (odtud **leukotrieny**), navíc se na molekulu „napojí“ **1-2 –OH skupiny v polohách 5 a 12**.

<sup>7</sup> Inhibice COX se nazývá **ireverzibilní acetylce**: **ASA + COX-OH → COX-Ac + zbytek ASA**

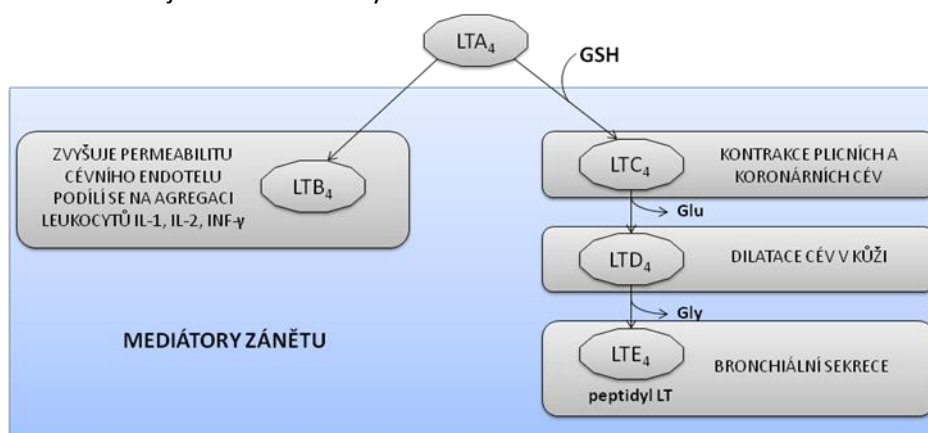
My se budeme zabývat pouze leukotrieny vzniklými z kyseliny arachidonové (která má 4 dvojně vazby), protože všechny názvy vzniklých leukotrienů ponесou index 4 (např.  $LTA_4$ ). Bude-li ve vzniklé molekule jedna  $-OH$  skupina (poloha 5), užijeme písmenko A, budou-li dvě (polohy 5 a 12), užijeme písmenko B.

### Syntéza leukotrienů:

Syntéza leukotrienů začíná od polynenasycené PUFA (uvolněné z fosfolipidu výše popsaným způsobem). Na PUFA následně působí enzym **lipoxigenasa**, která nejprve **vytvoří peroxid**, který se následně **zacyklí v endoperoxid**, přičemž spolu s cyklizací dochází k přesunu dvojných vazeb a vzniku **konjugovaného systému**. **Tak vznikne endoperoxid  $LTA_4$** , který je prekurzorem všech ostatních leukotrienů odvozených od kyseliny arachidonové<sup>8</sup>.



Z  $LTA_4$  následně vznikají další leukotrieny:



Jelikož jsou leukotrieny spojeny se vznikem zánětu, existuje skupina léků zvaná **antileukotrieny**, které obsazují leukotrienové receptory a tím inhibují jejich funkci.

<sup>8</sup> Písmenko A v názvu tentokrát naznačuje přítomnost jednoho atomu kyslíku (který by poskytl jednu  $-OH$  skupinu hydrogenací)

Na závěr kapitoly malé shrnutí metabolismu ikosanoidů:

