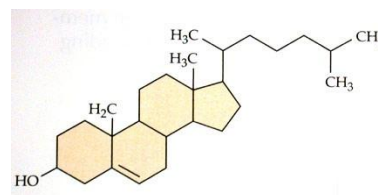


## Regulace biosyntézy cholesterolu u člověka

Cholesterol je důležitá biomolekula. Je součástí živočišných membrán, prekurzor pro syntézu steroidních hormonů (př. progesteron, kortisol, aldosteron, testosteron,...) a žlučových kyselin resp. jejich solí, které slouží v organismu jako biologické detergenty. Celková hladina cholesterolu v těle se odvíjí od dvou faktorů: množství cholesterolu přijímaného ve stravě a *de novo* syntézy. Dieteticky přijímaný cholesterol je vstřebáván tenkým střevem a po těle transportován pomocí lipoproteinových částic (Chilomikrony, Very low density lipoproteins – VLDL, Low density lipoproteins (LDL), Intermediate density lipoproteins (IDL), High density lipoproteins (HDL)).



## Biosyntéza cholesterolu

Skoro polovina celkového cholesterolu v organismu pochází z jeho *de novo* biosyntézy. Největší podíl přitom představují játra a tenké střevo. Vzhledem k tomu, že syntéza cholesterolu vyžaduje redukční prostředí, je celý komplex reakcí lokalizován do cytosolu, přičemž první sloučenina potřebná pro biosyntézu – acetyl koenzym A (acetyl-CoA), musí být transportován z mitochondriální matrix, kde je nedílnou součástí citrátového cyklu. Jeho zdrojem je tak například pyruvát z glykolýzy nebo mastné kyseliny podléhající zde  $\beta$ -oxidaci.

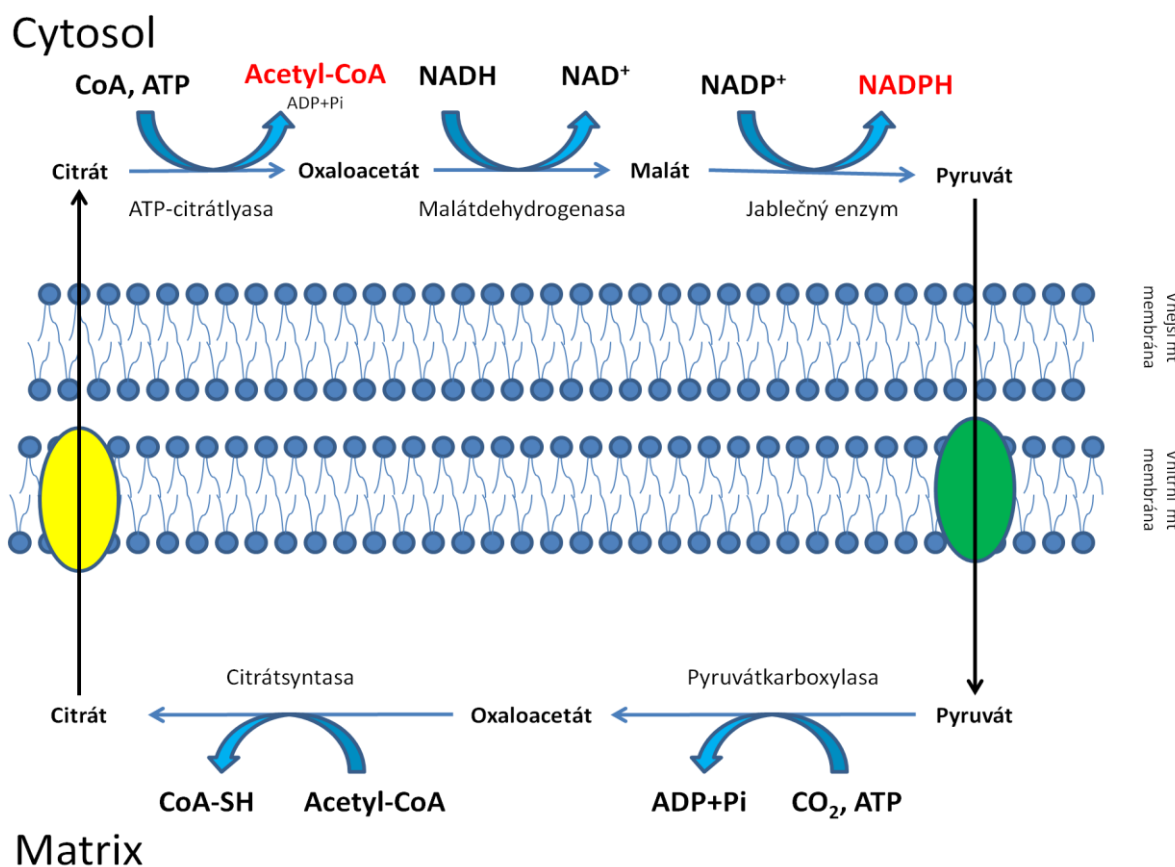
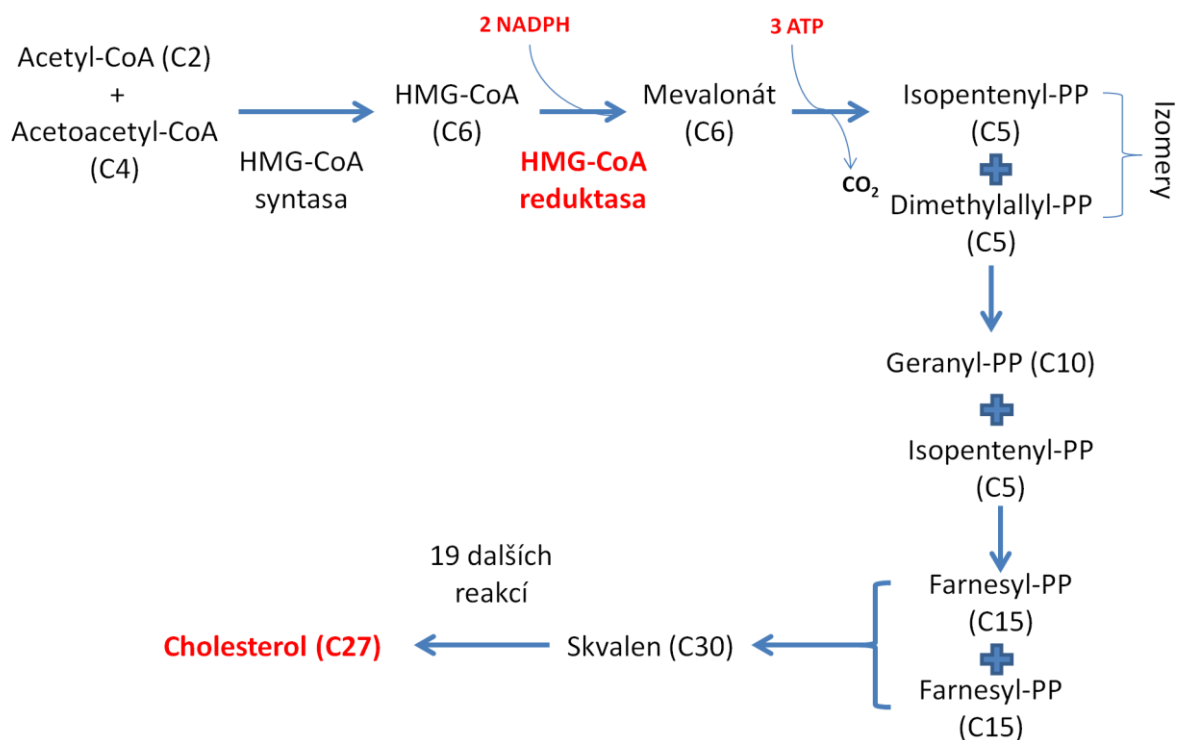


Schéma transportu acetyl-CoA z matrix do cytosolu. Acetyl-CoA může být použit jak pro biosyntézu cholesterolu, tak i pro syntézu mastných kyselin. Elektrony potřebné pro redukci zajišťuje mj. vznikající NADPH. (Vlastní obrázek).

Jednotlivé kroky biosyntézy cholesterolu je možné rozdělit takto:

- Reakce acetoacetyl-CoA (C4) s acetyl-CoA (C2) za vzniku (C6) 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA).
- Redukce HMG-CoA a vznik mevalonátu (C6). Spotřeba NADPH.
- Přeměna mevalonátu na isopentenyl pyrofosfát (IPP), tzv. „aktivní isopren“ (dekarboxylace C6 na C5) a spotřeba ATP.
- Přeměna IPP na skvalen (postupná kondenzace C5 molekul – geranyl pyrofosfát C10 a následně farnesyl pyrofosfát C15 až na C30 skvalen).
- Tvorba cholesterolu (C27) ze skvalenu (C30) – zahrnuje 19 postupných reakcí.

Schematicky je možné celý proces tvorby cholesterolu znázornit takto:



Zjednodušené schéma biosyntézy cholesterolu. Celý proces je velmi energeticky náročný - dochází ke spotřebě NADPH i ATP. NADPH je kofaktorem enzymu 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductasy (HMG-CoA reductasa) a slouží jako zdroj elektronů pro redukci HMG-CoA. ATP se využívá k fosforylaci mevalonátu, což je nezbytný krok k aktivaci - rozpuštění jinak nepolárních intermediátů v buněčném prostředí. (Vlastní obrázek).

## Regulace biosyntézy cholesterolu

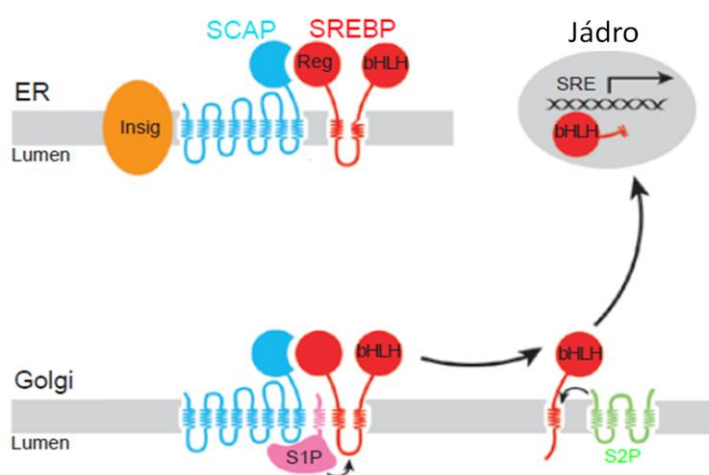
Na vyšší úrovni je biosyntéza cholesterolu regulována několika mechanismy. Ovlivňuje ji například antagonismus hormonů insulinu a glukagonu a také epinefrin. Množství nově produkovaného cholesterolu je závislé na jeho koncentraci v těle. Proto je možné do regulačních mechanismů zahrnout i počet LDL-receptorů na povrchu buňky a regulaci jejich transkripce. Dále to může být dostupnost substrátu pro samotnou reakci syntézy – acetyl CoA, množství energie v podobě ATP, redukční síla v podobě NADPH a regulace exprese enzymů katalyzujících biosyntetickou reakci.

Pro samotnou reakci biosyntézy je hlavním kontrolním uzlem HMG-CoA reductasa. Tento enzym je lokalizován na endoplasmatickém retikulu a pro svou správnou funkci vyžaduje NADPH jako kofaktor.

Regulace HMG-CoA reductasy je řízena čtyřmi hlavními mechanismy:

1. Zpětnovazebná inhibice cholesterolem
2. Kontrola genové exprese HMG-CoA reductasy
3. Proteolytická degradace HMG-CoA reductasy
4. Aktivace/inaktivace pomocí kovalentních modifikací

První tři mechanismy jsou realizovány jen díky přítomnosti cholesterolu v buňce. HMG-CoA reductasa obsahuje ve své struktuře místo SSD (Sterol Sensing Domain). Pokud je cholesterol v nadbytku, naváže se do tohoto místa a ubiquitin-ligasový komplex pak postupným navazováním ubiquitinů na vybraná lysinová residua označí enzym pro degradaci. Regulace genové exprese je řízena díky SREBP (Sterol Regulated Element Binding Protein). Tento protein je součástí několika doménového proteinu na membráně endoplasmatického retikula a v klidovém stavu tj. za dostatku cholesterolu je udržován vazbou s regulačním SCAP (SREBP Cleavage Activating Protein) obsahujícím také SSD doménu, přes molekulu cholesterolu s Insig (Insulin Regulated Protein). Při potřebě syntézy cholesterolu nedochází k interakci s Insig a SREBP-SCAP komplex putuje do Golgiho aparátu, kde dochází k proteolytickému štěpení SREBP a uvolnění N-koncového bHLH motivu do cytosolu, který je následně translokován do jádra, kde dimerizuje a společně s transkripčními koaktivátory vede k přepisu genů obsahující SRE motiv včetně genu pro HMG-CoA reductasu.



*Při nízké hladině cholesterolu dochází k rozvolnění interakce mezi SCAP a Insig. Komplex SCAP-SREBP putuje do Golgiho komplexu, kde za účasti dvou proteas – S1P a S2P dochází k uvolnění bHLH domény, která může následně vstoupit do jádra a řídit transkripci genů obsahujících SRE doménu. (R. A DeBose-Boyd – převzato, upraveno)*

Regulace pomocí kovalentních modifikací je řízena fosforylací resp. defosforylací HMG-CoA reduktasy. HMG-CoA reduktasa je neaktivnější v nemodifikovaném stavu, fosforylace aktivitu snižuje. Fosfát je přenášen AMPK-aktivovanou proteinkinasou, též označovanou jako HMGR kinasa, defosforylaci a aktivaci zajišťuje HMGR fosfatasa. AMPK je aktivována fosforylací katalyzovanou dvěma enzymy: LKB1 (sensitivní na hladinu AMP) a CaMKK (Calmodulin Dependent Protein Kinase Kinase, sensitivní na hladinu  $Ca^{2+}$ ). Zvýšená aktivita PPI-1 (Phosphoprotein Phosphatase Inhibitor 1) v odpovědi na působení hormonů glukagonu a epinefrinu, vede k inhibici příslušných fosfatas a postupnou aktivací kinasové kaskády, k inhibici HMG-CoA reduktasy a biosyntézy cholesterolu.

## Závěr

Cholesterol je jedna ze základních molekul u živočichů, která má důležitou stavební i metabolickou úlohu. Metabolismus cholesterolu a jeho biosyntéza jsou ve zdravém organismu vysoce regulované mechanismy na několika úrovních – hormonální, signální, transkripční, proteolytické a zpětně-inhibiční. I když se v poslední době hovoří o cholesterolu jako o strašáku moderní doby ve vztahu ke kardiovaskulárním onemocněním, je nutno podotknout, že cholesterol je látkou esenciální a jako prevence proti těmto chorobám je nutná především rovnováha mezi cholesterolem přijímaným v potravě a množstvím nově syntetizovaným.

## Použité zdroje:

**Biochemistry** – Voet & Voet, 1991

**Biochemie** – L. Stryer, 2. Korrigierter Nachdruck 1994

R. A DeBose-Boyd

**Feedback regulation of cholesterol synthesis: sterol-accelerated ubiquitination and degradation of HMG CoA reductase.**

Cell Research (2008) 18:609-621

R. H. Knopp

**Drug treatment of lipid disorders.**

The New England Journal of Medicine (1999) 7:498-511

Goldstein & Brown

**Regulation of the mevalonate pathway.**

Nature (1990) 343:425-430