

Received: 2010.03.25
Accepted: 2010.09.28
Published: 2010.10.29

Biosynteza kwasów żółciowych i jej regulacja*

Bile acid biosynthesis and its regulation

Areta Hebanowska

Katedra i Zakład Biochemii, Gdański Uniwersytet Medyczny

Streszczenie

Biosynteza kwasów żółciowych jest głównym szlakiem katabolizmu cholesterolu. Są one lepiej rozpuszczalne w wodzie niż cholesterol, a więc łatwiejsze do usunięcia z organizmu. Jako cząsteczki amfipatyczne biorą udział w trawieniu i wchłanianiu lipidów w jelicie oraz umożliwiają rozpuszczanie wolnego cholesterolu w żółci (szczególnie pęcherzykowej). Są także ligandami receptorów jądrowych regulujących ekspresję wielu genów zaangażowanych w metabolizm cholesterolu. Przemiana cholesterolu do kwasów żółciowych jest ważnym elementem jego homeostazy. W procesie tym udział bierze 17 enzymów, a wiele z nich to białka należące do rodziny cytochromu P-450. Inicjacja biosyntezy kwasów żółciowych może przebiegać drogą klasyczną, rozpoczynającą się hydroksylacją cholesterolu w pozycji 7 α lub alternatywną, rozpoczynającą się hydroksylacją cholesterolu w pozycji 27. Istnieją także dwie dodatkowe drogi o niewielkim znaczeniu ilościowym (inicjowane hydroksylacją w pozycji 24 i 25). Powstające oksysterole są nie tylko metabolitami pośrednimi biosyntezy kwasów żółciowych, ale także ważnymi regulatorami metabolizmu. Biosynteza kwasów żółciowych zachodzi w wątrobie, ale niektóre enzymy tego szlaku są umiejscowione także w innych narządach, gdzie biorą udział w regulacji metabolizmu cholesterolu. Enzymy te są potencjalnym celem dla nowych leków stosowanych w leczeniu zaburzeń jego metabolizmu. Przedstawiony artykuł jest syntetycznym opisem biosyntezy kwasów żółciowych i enzymów biorących udział w tym szlaku metabolicznym.

Słowa kluczowe:

kwasy żółciowe • cytochrom P-450 • hydroksylacja

Summary

Bile acid biosynthesis is the main pathway of cholesterol catabolism. Bile acids are more soluble than cholesterol so are easier to excrete. As amphipathic molecules they participate in lipid digestion and absorption in the intestine and they help to excrete free cholesterol with bile. They are also ligands for nuclear receptors regulating the expression of genes involved in cholesterol metabolism. Interconversion of cholesterol into bile acids is an important point of its homeostasis. Seventeen enzymes are engaged in this process and many of them are cytochromes P450. Bile acid synthesis initiation may proceed with the "classical" pathway (starting with cholesterol hydroxylation at the C7 α position) or the "alternative" pathway (starting with cholesterol hydroxylation at the C27 position). Two additional pathways are possible, though their quantitative significance is small (initiated with cholesterol hydroxylations of C24 and C25 positions). Oxysterols produced are not only intermediates of bile acid biosynthesis but also important regulators of metabolism. Bile acid biosynthesis takes place in the liver, but some enzymes are also present in other organs, where they participate in regulation of cholesterol metabolism. Those enzymes are potential targets for new drugs against cholesterol metabolism disturbances. This article is a brief description of the bile acid biosynthesis pathway and participating enzymes.

Key words:

bile acid • cytochrome P450 • hydroxylation

* Praca powstała w ramach realizacji projektu ST-41.

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=922007>

Word count: 3261

Tables: 1

Figures: 7

References: 47

Adres autorki: dr n. med. Areta Hebanowska, Katedra i Zakład Biochemii, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Dębinki 1, 80-211 Gdańsk; e-mail: areta@gumed.edu.pl

Wykaz skrótów: **ABC** – białka transportowe mające kasetę wiążącą ATP; **ACOX1** – peroksysomalna oksydaza nierozgałęzionych kwasów tłuszczowych; **ACOX2** – peroksysomalna oksydaza rozgałęzionych acylo-CoA; **AKR1C4** – dehydrogenaza 3 α -hydroksysteroidowa; **AKR1D1** – 5 β -reduktaza Δ^4 -3-oksosteroidowa; **ATP** – adenylotryfosforan; **BACS** – homolog 2 syntetazy długołańcuchowych acylo-CoA; **BSEP** – pompa eksportu soli kwasów żółciowych (bile salt export pump); **CH25H** – 25-hydroksylaza cholesterolowa; **CYP7A1** – 7 α -hydroksylaza cholesterolowa; **CYP7B1** – 7 α -hydroksylaza oksysterolowa; **CYP8B1** – 12 α -hydroksylaza sterolowa; **CYP27A1** – 27-hydroksylaza sterolowa; **CYP39A1** – 7 α -hydroksylaza oksysterolowa; **CYP46A1** – 24-hydroksylaza cholesterolowa; **DHCA** – kwas 3 α ,7 α -dihydroksycholowy; **DHEA** – dehydroepiandrosteron; **ER** – retikulum endoplazmatyczne; **FAD** – dinukleotydy flawinoadeniny; **FXR** – farnesoidowy receptor X; **HSD3B7** – oksydoreduktaza 3 β -hydroksy- Δ^5 -C27 steroidowa; **HSD17B4** – D-bifunkcyjny enzym (D-3-hydroxyacyl-CoA dehydrataza); **LDL** – lipoproteiny o niskiej gęstości (low density lipoprotein); **MLN64** – homolog StAR; **MRP2** – białko oporności wielolekowej 2 (multi-drug resistance protein-2); **MRP3** – białko oporności wielolekowej 3 (multi-drug resistance protein-3); **MRP4** – białko oporności wielolekowej 4 (multi-drug resistance protein-4); **Ntcp** – kotransporter Na⁺/kwas żółciowy (Na⁺/bile acid cotransporter); **Oatp** – transporter anionów organicznych (organic anion transporter); **Ost α / β** – transporter α / β organicznych substancji rozpuszczonych i steroidów (organic solute and steroid transporter); **PPAR α** – receptor aktywowany przez proliferatory peroksysomalne α (peroxisome proliferator activated receptor α); **SCP-2** – białko przenoszące sterole (sterol carrier protein-2); **SCP χ** – białko przenoszące sterole (sterol carrier protein- χ); **StAR** – białko przenoszące cholesterol (sterol acute regulatory protein); **THCA** – kwas 3 α -,7 α -,12 α -trihydroksycholowy; **VLCS** – syntetaza długołańcuchowych acylo-CoA (very long-chain – acyl-CoA synthetase).

WSTĘP

Jedną z istotnych funkcji wątroby jest synteza i wydzielanie żółci. Sole kwasów żółciowych jako detergenty i aktywatory uczestniczą w procesie trawienia i wchłaniania lipidów w jelicie cienkim. Kwasy żółciowe są także ligandami czynników transkrypcyjnych regulujących ekspresję genów zaangażowanych w ich przemiany. Odpowiedni stosunek stężenia cholesterolu i kwasów żółciowych w żółci zapobiega wytrącaniu się cholesterolu w pęcherzyku żółciowym, a w konsekwencji rozwojowi kamicy pęcherzyka żółciowego.

Okolo 95% puli kwasów żółciowych znajdujących się w jelicie jest wchłaniane i z krwią transportowane z powrotem do wątroby. Tam kwasy żółciowe ponownie dostają się do żółci, a następnie do jelita (krążenie jelitowo-wątrobowe). Pozostałe 5% jest z organizmu usuwane, a ubytki są rekompensowane przez syntezę *de novo*, zachodzącą w wątrobie.

Prekursorem kwasów żółciowych jest cholesterol. W ciągu doby, u dorosłego człowieka okolo 500 mg cholesterolu ulega przemianie do kwasów żółciowych i w tej postaci jest wydalana do dwunastnicy. Przemiana cholesterolu do kwasów żółciowych oraz jego wydalanie z żółcią, to

zasadniczy sposób usuwania tego związku z organizmu. Ze względu na udział kwasów żółciowych w regulacji metabolizmu cholesterolu dokładne poznanie przebiegu i regulacji procesu ich biosyntezy jest bardzo istotne. W przyszłości mogłoby pozwolić na opracowanie nowych metod leczenia stanów patologicznych, takich jak hipercholesterolemia i miażdżycy, będących skutkiem zaburzeń metabolizmu cholesterolu [28,38].

W biosyntezie kwasów żółciowych z cholesterolu udział bierze 17 enzymów. W wyniku ich działania powstają tzw. pierwszorzędowe kwasy żółciowe. Rodzaj syntetyzowanych kwasów żółciowych jest gatunkowo swoisty. U ssaków kwasami żółciowymi powstającymi w największej ilości są kwas cholowy i chenodeoksycholowy. Ponadto u niektórych gatunków zwierząt powstają takie kwasy żółciowe jak β -muricholowy (myszy i szczury) czy hyocholowy (świnie). Różnią się one między sobą położeniem grup hydroksylowych, z wyjątkiem grupy 7 α -hydroksylowej obecnej we wszystkich rodzajach pierwszorzędowych kwasów żółciowych [28]. W jelicie na skutek działania bakterii, po dekonjugacji i dehydroksylacji kwasów pierwszorzędowych powstają drugo- i trzeciorzędowe kwasy żółciowe. Głównymi drugorzędowymi kwasami żółciowymi u człowieka są kwasy deoksycholowy i lithocholowy.

Tabela 1. Enzymy szlaku biosyntezy kwasów żółciowych

Enzym	EC	GEN	Lokalizacja narządowa
7 α -hydroksylaza cholesterolowa	1.14.13.17	CYP7A1	głównie wątroba
24-hydroksylaza cholesterolowa	1.14.13.98	CYP46A1	mózg
25-hydroksylaza cholesterolowa	1.14.99.38	CH25H	wiele narządów
27-hydroksylaza sterolowa	1.14.13.15	CYP27A1	wiele narządów
7 α -hydroksylaza oksysterolowa	1.14.13.99	CYP39A1	wiele narządów
7 α -hydroksylaza oksysterolowa	1.14.13.100	CYP39B1	wiele narządów
oksydoreduktaza 3 β -hydroksy- Δ^5 -C ₂₇ steroidowa	1.1.1.181	HSD3B7	wiele narządów
12 α -hydroksylaza sterolowa	1.14.13.96	CYP8B1	wątroba
5 β -reduktaza Δ^4 -3-oksosteroidowa	1.3.1.3	AKR1D1	wiele narządów
dehydrogenaza 3 α -hydroksysteroidowa	1.1.1.52	AKR1C4	wiele narządów
syntetaza długołańcuchowych acylo-CoA	6.2.1.3	SLC27A2	wątroba, nerki
syntetaza kwas żółciowy-CoA (homolog 2 syntetazy długołańcuchowych acylo-CoA)	6.2.1.7	SLC27A5	wątroba
racemaza α -metyloacylo-CoA	5.1.99.4	P5045	wiele narządów
oksydaza rozgałęzionych acylo-CoA	1.17.99.3	ACOX2	wiele narządów
D-bifunkcyjny enzym (D-3-hydroxyacyl-CoA dehydrataze)	4.2.1.107	HSD17B4	wiele narządów
peroksysomalna tiolaza 2	2.3.1.176	SCPX	wątroba
N-acylotransferaza kwas żółciowy-CoA: aminokwas	2.3.1.65	BAAT	wątroba

Różnorodność syntetyzowanych kwasów żółciowych zapewnia precyzyjną regulację szlaku ich biosyntezy oraz dokładną emulgację lipidów pokarmowych [28,38].

ETAPY BIOSYNTETYZOWANIE Kwasów Żółciowych

W procesie biosyntezy kwasów żółciowych z cholesterolu można wyróżnić cztery główne etapy:

- inicjacji,
- modyfikacji pierścieni,
- utleniania i skracania łańcucha bocznego,
- koniugacji z tauryną lub glicyną.

Wszystkie enzymy biorące udział w biosyntezie kwasów żółciowych wymienione są w tabeli 1. Są one umiejscowione w mitochondriach, retikulum endoplazmatycznym, cytosolu i peroksysomach [38].

Inicjacja – pierwszy etap biosyntezy kwasów żółciowych

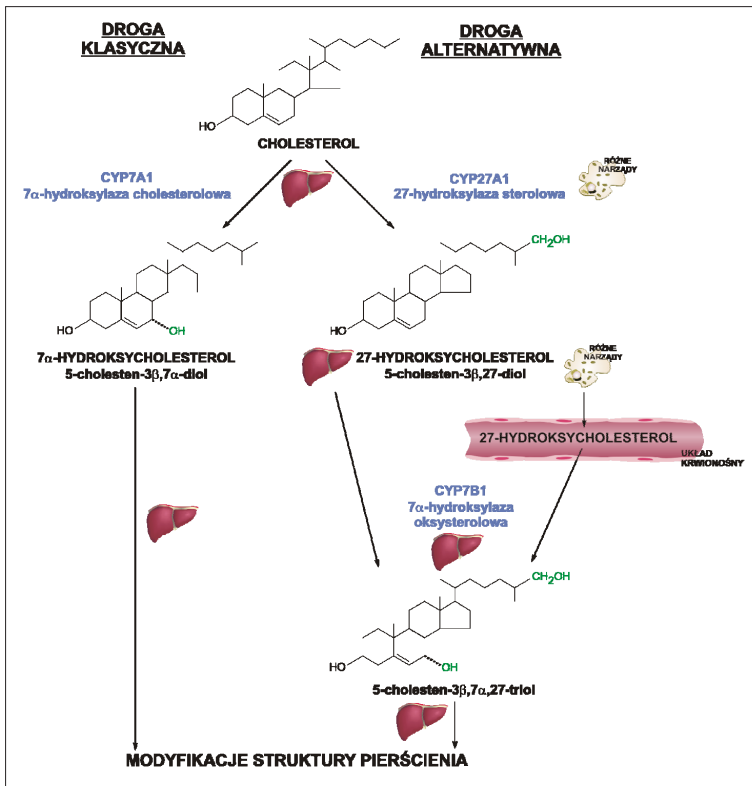
Biosynteza kwasów żółciowych może przebiegać różnymi sposobami. Klasyczny szlak rozpoczyna się od przemiany cholesterolu w 7 α -hydroksycholesterol katalizowany przez 7 α -hydroksylazę cholesterolową (ryc. 1) [33].

7 α -hydroksylaza cholesterolowa jest mikrosomalnym enzymem z rodziny cytochromu P-450. Kodowana jest przez gen *Cyp7a1*, ulegający ekspresji przede wszystkim

w wątrobie, choć istnieją także doniesienia o ekspresji tego genu w komórkach prostaty [42]. Enzym ten charakteryzuje się małą liczbą obrotów, a jego preferowanym substratem jest cholesterol [16,25]. Reakcja katalizowana przez 7 α -hydroksylazę cholesterolową jest etapem ograniczającym biosyntezę kwasów żółciowych. Ekspresja genu kodującego hydroksylazę 7 α -hydroksycholesterolową oraz aktywność enzymu podlegają ścisłej regulacji przez takie czynniki jak kwasy żółciowe, hormony (m.in. glukokortykosteroidy, glukagon, insulina), cykl dobowy, cholesterol (oksysterole) i cytokiny [28,33,38].

Mimo bardzo istotnej roli 7 α -hydroksylazy w metabolizmie cholesterolu brak tego enzymu nie jest letalny. W znanych trzech przypadkach osób pozbawionych całkowicie aktywnego genu *Cyp7a1* (homozygot) następuje jednak znaczący wzrost stężenia cholesterolu całkowitego i frakcji LDL-cholesterol we krwi oraz akumulacja cholesterolu w wątrobie. Zmniejsza się także znacząco ilość wytwarzanych kwasów żółciowych, jednak powstają one stale na skutek aktywacji alternatywnej biosyntezy [35].

Alternatywnym metabolizmem cholesterolu do kwasów żółciowych jest jego przemiana do 27-hydroksycholesterolu (ryc. 1). Reakcja katalizowana jest przez 27-hydroksylazę sterolową (CYP27A1) [28,33,38]. Enzym ten hydroksyluje cholesterol także w pozycjach 24 i 25 [20]. U myszy i szczurów 25–50% całej puli syntetyzowanych przez wątrobę kwasów żółciowych powstaje w wyniku hydroksylacji



Ryc. 1. Klasyczna i alternatywna droga hydroksylacji cholesterolu w procesie biosyntezy kwasów żółciowych. Oba typy hydroksylacji zachodzą w wątrobie, gdzie powstałe oksysterole uczestniczą następnie w dalszych przemianach. Hydroksylacja cholesterolu w pozycji 27 może zachodzić także w narządach innych niż wątroba, konieczny jest więc transport 27-hydroksycholesterolu do wątroby, gdzie zostanie on wykorzystany do syntezy kwasów żółciowych

cholesterolu przez CYP7A1. U ludzi ten udział jest mniejszy i wynosi 5–10% [35,38]. Aktywność 27-hydroksylazy sterolowej jest regulowana przez kwasy żółciowe, cholesterol i hormony (m.in. glukokortykosteroidy, hormony tarczycy, insulinę), przy czym występują różnice międzygatunkowe. W przeciwieństwie do CYP7A1 enzym ten jest obecny w wielu narządach np. śródbłonku naczyń krwionośnych, makrofagach, nerkach, płucach, mózgu, skórze, prostatie i jelicie [28]. Zdolność do hydroksylacji cholesterolu w innych niż wątroba narządach nie jest związana z syntezą kwasów żółciowych, a prawdopodobnie zapobiega jego nadmiernej akumulacji. Powstające oksysterole mogą także wpływać na metabolizm cholesterolu [24]. Nie wiadomo jakie czynniki decydują o zapoczątkowaniu biosyntezy kwasów żółciowych. Być może proces klasyczny (z udziałem 7α-hydroksylazy cholesterolowej) przebiega głównie w warunkach fizjologicznych, natomiast sposób alternatywny (z udziałem 27-hydroksylazy sterolowej) nabiera znaczenia w stanach patologicznych będących skutkami zaburzeń funkcji wątroby [6].

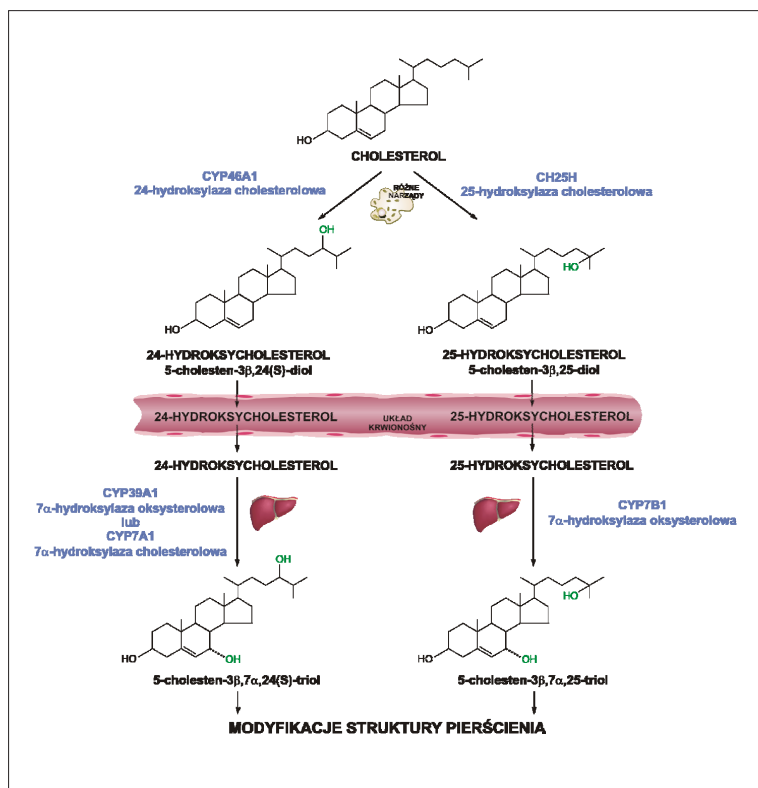
27-hydroksycholesterol powstający w wyniku hydroksylacji cholesterolu w pozycji 27 jest następnie hydroksylowany w pozycji 7α, przez 7α-hydroksylazę oksysterolową (CYP7B1; ryc. 1). Szczególnie dużą aktywność CYP7B1 obserwuje się w wątrobie, a ponadto enzym ten obecny jest w nerkach, śródbłonku naczyń, jelicie cienkim, jądrach i jajnikach, prostatie i innych narządach [33,38]. Enzym ten hydroksyluje także 25-hydroksycholesterol, będący produktem działania 25-hydroksylazy cholesterolowej [39]. Powstające produkty są lepiej rozpuszczalne w wodzie, co ułatwia ich transport z różnych narządów do wątroby, gdzie przekształcane są w kwasy żółciowe. Dodatkowymi substratami CYP7B1 są steroidy, przede

wszystkim DHEA, ale także pregnenolon, 17α-estradiol, testosteron [33]. Aktywność CYP7B1 jest regulowana, podobnie jak CYP7A1, przez kwasy żółciowe, cholesterol, hormony (glukokortykoidy, hormony tarczycy), rytm dobowy [37].

Poza opisanymi wyżej sposobami hydroksylacji cholesterolu istnieją także dwie inne. Są to hydroksylacje katalizowane przez 24-hydroksylazę oraz 25-hydroksylazę cholesterolową (ryc. 2).

24-hydroksylaza cholesterolowa jest enzymem mikrosomalnym, kodowanym przez gen CYP46A1. U ludzi jej obecność stwierdzono przede wszystkim w neuronach mózgu, natomiast u myszy także w wątrobie [21]. Enzym ten katalizując syntezę 24-hydroksycholesterolu odgrywa istotną rolę w transporcie cholesterolu z mózgu do wątroby [5]. 24-hydroksycholesterol po przekroczeniu bariery krew-mózg dociera z krwią do wątroby, a tam przekształcany jest do kwasów żółciowych lub sprzęgany z siarczanem lub glukuronianem [4]. Aktywność tego enzymu nie podlega takiej regulacji jak aktywność wymienionych wcześniej hydroksylaz cholesterolowych. Najważniejszą rolę regulacyjną odgrywają dostępność substratu i stres oksydacyjny [30]. Niedobór tego enzymu nie wpływa znacząco na syntezę kwasów żółciowych. U myszy pozbawionych aktywnego genu *Cyp46a1* wytwarzanie 24-hydroksycholesterolu w mózgu zmniejsza się o 40%, ale jednocześnie nie zmienia się ilość powstających w wątrobie kwasów żółciowych [22]. Potwierdzono również udział CYP46A1 w hydroksylacji niektórych steroidów i ksenobiotyków w wątrobie [26].

Aktywność 24-hydroksylazy cholesterolowej jest też związana z rozwojem choroby Alzheimera. Zaobserwowano,



Ryc. 2. Hydroksylacja cholesterolu w pozycjach 24 i 25. Obie przemiany zachodzą poza wątrobą, a ich produkty są następnie transportowane do wątroby, gdzie prawdopodobnie uczestniczą w biosyntezie kwasów żółciowych

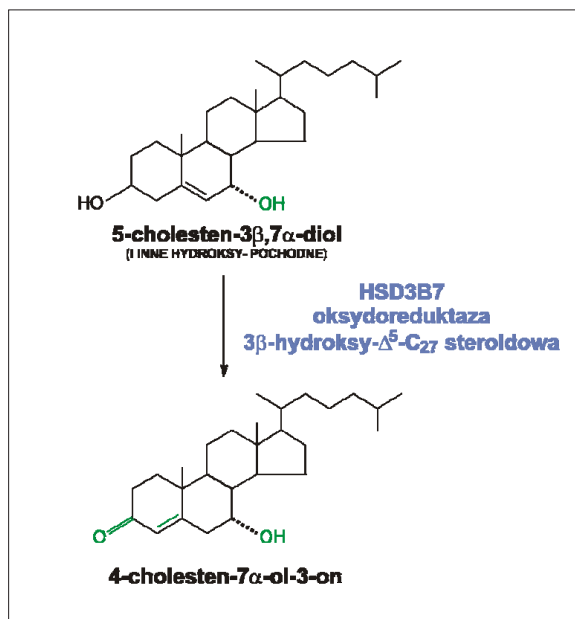
że w mózgu osób chorujących na chorobę Alzheimera enzym ten poza neuronami występował także w komórkach glejowych. Stwierdzono także, że występowanie niektórych wariantów genu kodującego CYP46A1 jest związane z większym ryzykiem rozwoju choroby Alzheimera [17].

24-hydroksycholesterol docierający z mózgu do wątroby jest następnie hydroksylowany w pozycji 7 α . Reakcja ta może być katalizowana przez CYP7A1, ale w wątrobie obecny jest też enzym, dla którego 24-hydroksycholesterol jest podstawowym substratem. Jest to 7 α -hydroksylaza oksysterolowa, CYP39A1 (ryc. 2). Jest to enzym mikrosomalny [28]. Jak dotąd nie zaobserwowano aby aktywność tego enzymu podlegała regulacji. W badaniach dotyczących regulacji transkrypcji CYP39A1 u myszy nie stwierdzono wpływu cholesterolu czy kwasów żółciowych na ekspresję tego genu [33].

25-hydroksylaza cholesterolowa (CH25H) jest enzymem mikrosomalnym, ale nie należy do rodziny cytochromu P-450. Jej niewielką aktywność stwierdzono we wszystkich narządach/tkankach. Enzym ten nie odgrywa większej roli w syntezie kwasów żółciowych, a jego niedobór nie pociąga za sobą jakichkolwiek negatywnych skutków [38]. 25-hydroksycholesterol jest następnie hydroksylowany w pozycji 7 α przez CYP7B1 (ryc. 2). Hydroksylacja oksysteroli w pozycji 7 α jest niezbędna do ich dalszych przemian w szlaku syntezy kwasów żółciowych.

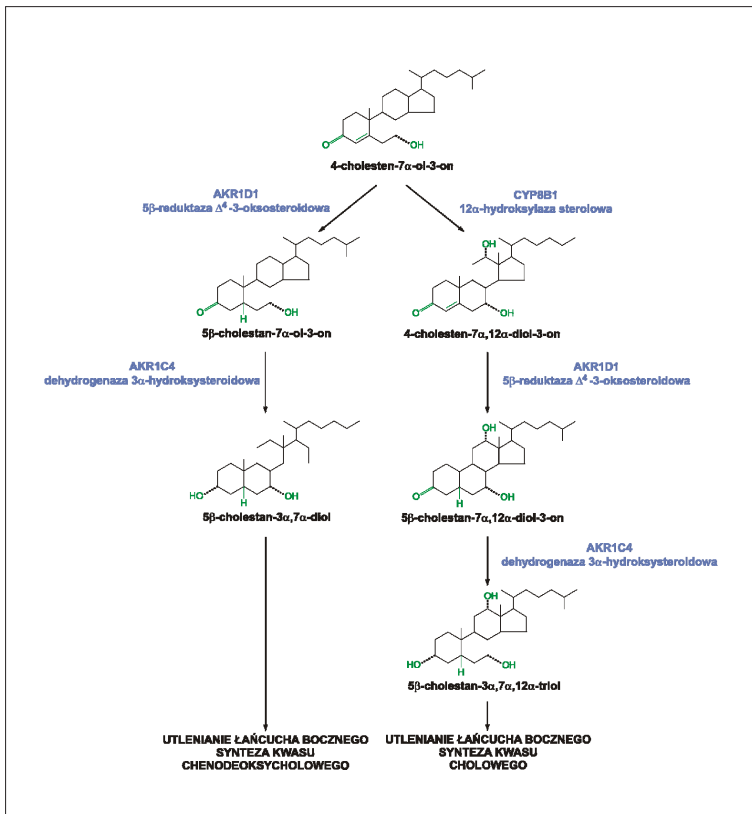
Modyfikacje struktury pierścieni metabolitów 7 α -cholesterolu

Metabolity cholesterolu, hydroksylowane w pozycji 7 α , są w kolejnym etapie przekształcane do 3-okso, Δ^4



Ryc. 3. Reakcja katalizowana przez HSD3B7 w wątrobie. Przemianie ulegają wszystkie oksysterole powstałe we wcześniejszych etapach biosyntezy kwasów żółciowych, warunkiem jest obecność grupy hydroksylowej w pozycji 7

przez mikrosomalną oksydoreduktazę (oksydoreduktazę 3 β -hydroksy- Δ^5 -C27 steroidową, HSD3B7) (ryc. 3). Jedyne ten enzym może przeprowadzić wspomnianą reakcję, a jego substratami są tylko sterole zawierające grupę 7 α -hydroksylową. Brak aktywności HSD3B7 hamuje syntezę wszystkich rodzajów kwasów żółciowych. Struktura



Ryc. 4. Modyfikację pierścieni prekursorów w procesie biosyntezy kwasów żółciowych w wątrobie. Szybkość przemian zachodzących dwoma możliwymi sposobami decyduje o stosunku ilościowym końcowych produktów biosyntezy kwasów żółciowych – kwasu cholowego i chenodeoksycholowego

pierwszorzędowa HSD3B7 wykazuje 34% homologii z odpowiednimi oksydoreduktazami biorącymi udział w metabolizmie hormonów steroidowych [40].

Produkty działania HSD3B7 mogą ulec dwóm rodzajom przemian (ryc. 4).

Pod wpływem 12 α -hydroksylazy steroidowej (mikrosomalny cytochrom P-450, CYP8B1) są przekształcane do kwasu cholowego. 12 α -hydroksylaza jest enzymem wątrobowym, a jej głównym substratem jest 7 α -hydroksycholesterol (produkt klasycznej syntezy kwasów żółciowych) [23]. Aktywność CYP8B1 jest regulowana m.in. przez kwasy żółciowe, insulinę, hormony tarczycy [46]. Przy braku aktywności 12 α -hydroksylazy przemiany prowadzą do powstania kwasu chenodeoksycholowego (człowiek, szczur, chomik), muricholowego (mysz), ursodeoksycholowego (niedźwiedź) lub hiodeoksycholowego (świnia) [23,38]. Aktywność 12 α -hydroksylazy determinuje procentową zawartość poszczególnych pierwszorzędowych kwasów żółciowych. Ma to szczególne znaczenie dla regulacji całego szlaku biosyntezy ponieważ kwas cholowy jest odpowiedzialny za jego hamowanie. Ponadto kwas cholowy zwiększa rozpuszczalność cholesterolu w żółci, ma więc związek z powstawaniem kamieni żółciowych oraz wpływa na wchłanianie steroli w jelicie.

Wszystkie produkty działania HSD3B7, zarówno te hydroksylowane w pozycji 12 α , jak i te, które nie zostały poddane hydroksylacji w pozycji 12 α ulegają reakcji redukcji podwójnego wiązania w pierścieniu A. Reakcja ta jest katalizowana przez 5 β -reduktazę Δ^4 -3-oksosteroidową (AKR1D1) (ryc. 4). Preferowanymi substratami dla tego

enzymu są metabolity pośrednie biosyntezy kwasów żółciowych, ale katalizuje on także przemiany wielu innych steroidów. W przeciwieństwie do wcześniejszych reakcji ta zachodzi w cytosolu, konieczny jest więc transport substratów między przedziałami komórkowymi. Mechanizm tego transportu nie został jeszcze poznany [18].

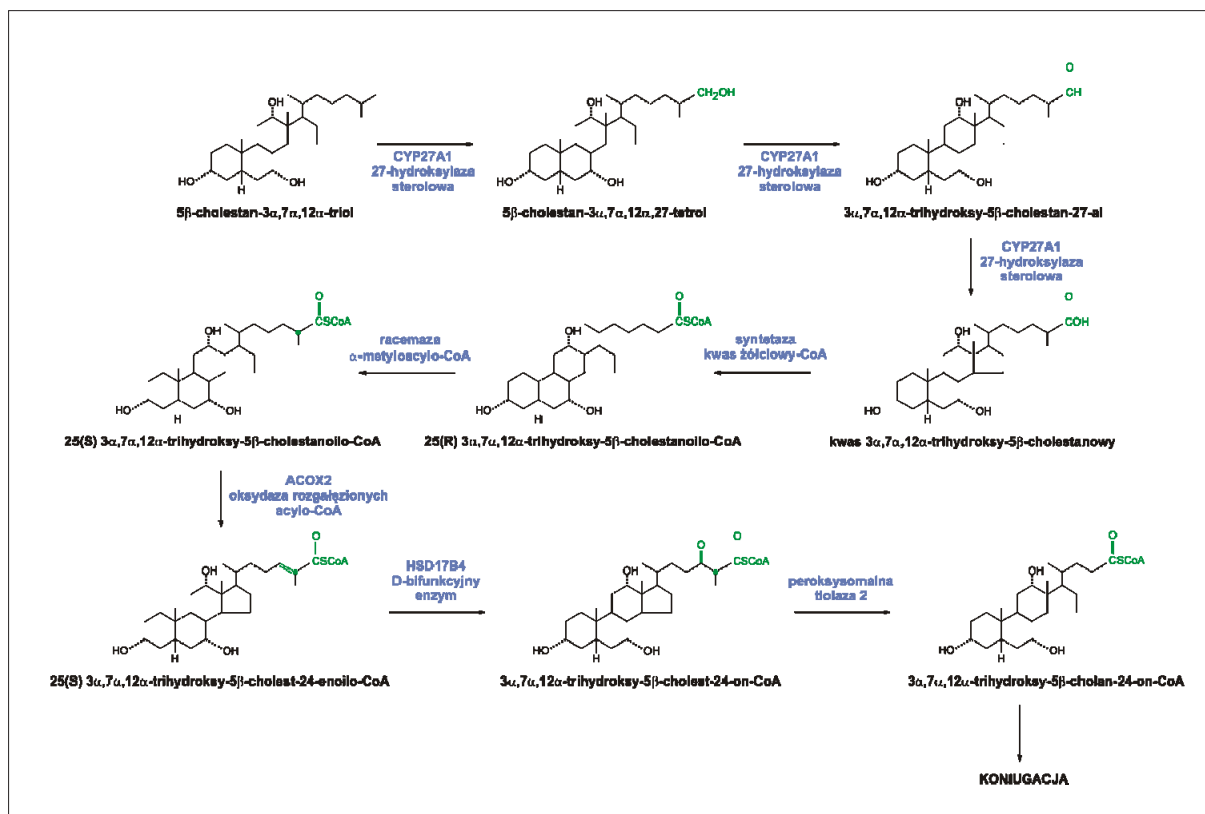
Ostatnim etapem modyfikacji pierścienia jest redukcja grupy 3-okso do grupy alkoholowej przez umiejscowioną w cytosolu dehydrogenazę 3 α -hydroksysteroidową (AKR1C4) (ryc. 4) [18].

Utlenianie łańcucha bocznego

Kolejnym etapem w procesie biosyntezy kwasów żółciowych jest utlenianie i skracanie łańcucha bocznego hydroksylowanych pochodnych cholesterolu (ryc. 5).

Pierwsze trzy reakcje katalizowane są przez 27-hydroksylazę steroidową (CYP27A1), enzym omawiany już wcześniej, inicjujący syntezę kwasów żółciowych przez tworzenie 27-hydroksycholesterolu (ryc. 1). Enzym ten przyłącza grupę hydroksylową do węgla C27 utleniając ją kolejno do grupy aldehydowej, a następnie do grupy karboksylowej. Do niedawna jeszcze sądzono, że utlenianie grupy hydroksylowej zachodzi dzięki udziałowi dehydrogenazy aldehydowej i dehydrogenazy alkoholowej) [34,38].

Produkty reakcji katalizowanych przez 27-hydroksylazę steroidową (kwas 3 α -,7 α -dihydroksycholowy – DHCA i kwas 3 α -,7 α -12 α -trihydroksycholowy – THCA) są następnie poddawane skracaniu łańcucha bocznego. Ostatnie trzy atomy węgla są usuwane w peroksysomach, w serii reakcji



Ryc. 5. Utlenianie łańcucha bocznego prekursorów w procesie biosyntezy kwasów żółciowych w wątrobie. Przedstawionym przemianom ulegają zarówno prekursorzy kwasu cholowego (na ryc.), jak i kwasu chenodeoksycholowego

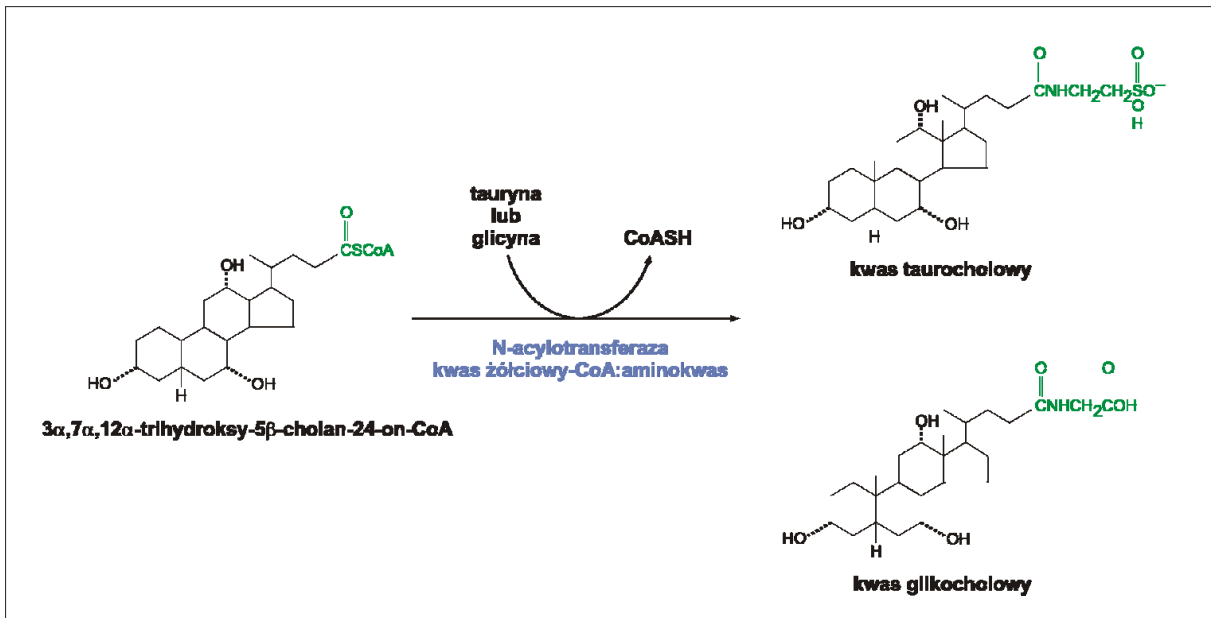
analogicznych do zachodzących w czasie β -oksydacji kwasów tłuszczowych. Pierwsza reakcja to aktywacja pochodnych oksysteroli przez przyłączenie koenzymu A. Jest to reakcja katalizowana przez syntetazę kwasów żółciowych-CoA. Zidentyfikowano dotąd dwa białka wykazujące wspomnianą aktywność. Są to: syntetaza długołańcuchowych acylo-CoA (VLCS, występuje w ER i peroksyosomach) i homolog 2 syntetazy długołańcuchowych acylo-CoA (BACS, 45% homologii, obecny tylko w ER). Enzymy te aktywują bardzo długie kwasy tłuszczowe, czyli zawierające 18 i więcej atomów węgla. Pierwszy enzym występuje głównie w wątrobie i w nerkach i jest w dużej mierze odpowiedzialny za aktywację metabolitów pośrednich biosyntezy kwasów żółciowych, hydroksylowanych w pozycji 27. Homolog 2 występuje tylko w wątrobie i jest związany z aktywacją kwasów żółciowych hydroksylowanych w pozycji 24, które po dekonjugacji w jelicie cienkim wracają do wątroby z krążeniem jelitowo-wątrobowym [27].

W wyniku działania 27-hydroksylazy sterolowej i następującej po niej aktywacji, powstające metabolity przyjmują tzw. postać R (ryc. 5).

Przed kolejnymi reakcjami izomer R musi zostać przekształcony w izomer S. Reakcja ta jest katalizowana przez racemazę 2-metylo-acylo-CoA. Jest to enzym umiejscowiony zarówno w mitochondriach, jak i peroksyosomach. Bierze udział w procesie utleniania rozgałęzionych kwasów tłuszczowych. Mutacja w genie kodującym racemazę prowadzi do gromadzenia metabolitów pośrednich biosyntezy kwasów żółciowych [19].

Produkty działania racemazy podlegają reakcji katalizowanej przez zawierającą FAD peroksyosomalną oksydazę rozgałęzionych acylo-CoA (ACOX2). Powstają nienasycone *trans*-24, -25 pochodne. W czasie reakcji enzym przenosi elektrony na tlen cząsteczkowy i wytwarza nadtlenek wodoru. U człowieka i myszy występują dwie izoforny oksydazy (45% homologii) oznaczane jako ACOX1 i ACOX2. ACOX1 to produkt genu regulowanego przez PPAR α . Enzym ten wspomaga utlenianie nierozgałęzionych kwasów tłuszczowych i eikozanoidów. ACOX2 jest prawdopodobnie izoforną biorącą udział w procesie biosyntezy kwasów żółciowych. Może być regulowana przez PPAR α , a substratem dla niej są metabolity szlaku syntezy kwasów żółciowych i 2-metylo rozgałęzione kwasy tłuszczowe, takie jak np. kwas pristanowy. Niedobór ACOX1 i 2 prowadzi zarówno u ludzi jak i u myszy do stłuszczenia wątroby, ale nie stwierdzono zaburzeń syntezy kwasów żółciowych [3,9,15].

Kolejny etap biosyntezy kwasów żółciowych to uwodnienie i utlenienie grupy hydroksylowej w pozycji C24. Reakcję katalizuje peroksyosomalny D-bifunkcyjny enzym kodowany przez gen *HSD17B4*. Enzym ten wykazuje dużą stereoswoistość w stosunku do substratu. Katalizuje on oba etapy, zarówno hydratacji (przyłączenia cząsteczki wody do węgla C24, z wytworzeniem pochodnej hydroksylowej), jak i utleniania powstałej pochodnej hydroksylowej z utworzeniem oksopochodnej. Obie reakcje katalizowane są przez różne domeny w cząsteczce enzymu, umiejscowione w części N-terminalnej. Domena C-terminalna jest odpowiedzialna za transport steroli [12]. U myszy



Ryc. 6. Koniugacja kwasów żółciowych z aminokwasami – glicyną lub tauryną. Na ryc. koniugacja kwasu cholowego

pozbawionych genu kodującego enzym bifunkcyjny zaobserwowano gromadzenie się nienasyconych C27 metabolitów pośrednich kwasów żółciowych oraz długołańcuchowych kwasów tłuszczowych, takich jak np. kwas pristanowy czy fitanowy. Następuje u nich nadal synteza kwasów żółciowych C24, co sugeruje udział innego enzymu mogącego katalizować ten etap biosyntezy. Ten komplementujący enzym jest również enzymem bifunkcyjnym (L), w warunkach fizjologicznych wykorzystującym długołańcuchowe kwasy tłuszczowe jako substraty [3,8].

Ostatni etap utleniania łańcucha bocznego metabolitów pośrednich w syntezie kwasów żółciowych, to rozerwanie przez peroksysomalną tiolazę wiązania C24-C25, z jednoczesnym utworzeniem propionyl-CoA i metabolitów pośrednich C24 połączonych z koenzymem A. Enzym ten jest kodowany przez gen zawierający dwa promotory [29]. Pierwszy jest umiejscowiony w okolicach eksonu 1 i transkrypcja zachodząca pod jego kontrolą prowadzi do powstania mRNA kodującego białko zbudowane z 547 aminokwasów. Jest to prekursor peroksysomalnej tiolazy 2, który po transporcie do peroksysomów ulega proteolizie (za 424 aminokwasem), dzięki czemu powstaje dojrzały, aktywny enzym. Pozostała część łańcucha prekursora (o długości 123 aminokwasów), to prawdopodobnie białko przenoszące sterole (sterol carrier protein- χ – SCP χ). Badania krystalograficzne wykazały, że ma ono zdolność wiązania lipidów [11]. Drugi promotor jest umiejscowiony w intronie 11, a produktem transkrypcji przez niego regulowanej jest mRNA kodujący tylko białko przenoszące sterole [29]. U myszy z nieczynnym genem peroksysomalnej tiolazy 2 zaobserwowano gromadzenie się kwasów żółciowych C23 i rozgałęzionych kwasów tłuszczowych, co wskazuje, że oba białka (tiolaza i SCP χ) są zaangażowane w syntezę kwasów żółciowych i metabolizm rozgałęzionych kwasów tłuszczowych. U takich myszy występuje pewna ilość 24-węglowych kwasów żółciowych, co sugeruje udział innej tiolazy [41]. Rycina 5 przedstawia przemianę łańcucha bocznego w syntezie kwasu cholowego,

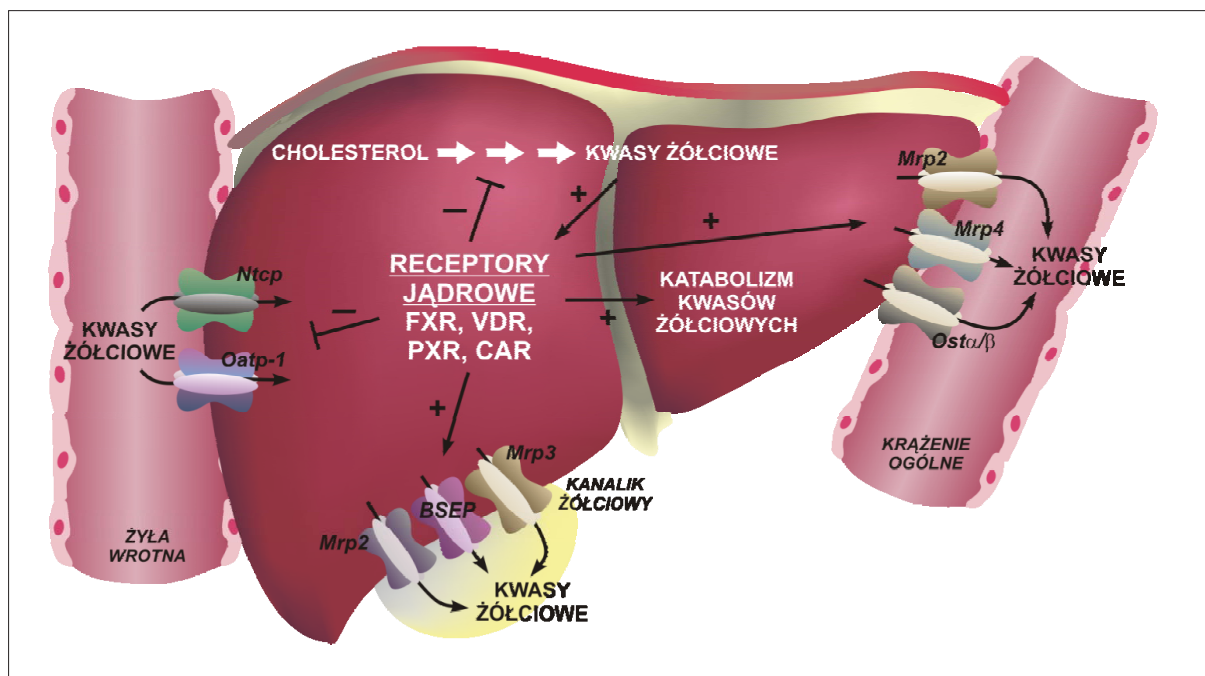
identyczne reakcje zachodzą w syntezie kwasu cheno-deoksycholowego.

Koniugacja

Końcowy etap syntezy kwasów żółciowych polega na przyłączeniu wiązaniem amidowym aminokwasu, zwykle glicyny lub tauryny, do węgla C24 (ryc. 6).

Amidacji ulega 98% wydzielanych przez wątrobę kwasów żółciowych. Reakcja ta jest katalizowana przez N-acylotransferazę kwas żółciowy-CoA: aminokwas. Enzym na pewno jest umiejscowiony w peroksysomach, natomiast dyskusyjna jest jego cytosolowa lokalizacja. Niektórzy badacze uważają, że postać peroksysomalna bierze udział w biosyntezie kwasów żółciowych *de novo*, a cytosolowa w rekonjugacji kwasów żółciowych trafiających do wątroby z jelita [8,9]. Jednak z innych badań wynika, że obecność N-acylotransferazy w cytosolu jest artefaktem, a wszystkie kwasy żółciowe, te wytworzone *de novo*, jak i te wchłaniane po dekonjugacji z jelita, są koniugowane w peroksysomach [32]. Substratami w procesie koniugacji są: tioester kwasu żółciowego-CoA oraz aminokwas – u myszy głównie tauryna, u człowieka tauryna lub glicyna [7]. Przyłączenie glicyny lub tauryny zależy od stężenia tych aminokwasów w komórkach i nie ma żadnego wpływu na emulgujące działanie kwasów żółciowych [38]. Stosunek ilości wolnych kwasów żółciowych do skoniugowanych jest prawdopodobnie zależny od aktywności peroksysomalnego enzymu, tioesterazy 2 koenzymu A katalizującej hydrolizę tioestrów kwasy żółciowe-CoA do wolnych kwasów żółciowych i koenzymu A. Enzym ten współzawodniczy z N-acetylotransferazą o substraty. Biologiczne konsekwencje zmiany stosunku ilości obu kwasów żółciowych nie są znane [14].

Koniugacja kwasów żółciowych zwiększa ich amfipatyczność i rozpuszczalność, co powoduje zmniejszenie ich zdolności do przemieszczania się przez błony. Istnieją specjalne



Ryc. 7. Transport kwasów żółciowych do kanalik żółciowego. Głównym transporterem jest białko BSEP wspomagane przez Mrp3 i 2. Transportery te są aktywowane przez czynniki transkrypcyjne, takie jak FXR, VDR, PXR i CAR, na skutek wzrostu stężenia kwasów żółciowych w hepatocycie. Alternatywnym sposobem usuwania kwasów żółciowych z komórki jest ich transport do krążenia ogólnego z udziałem przenośników Mrp 2, 4 i Ost α/β . System ten ulega również aktywacji przez FXR, zwłaszcza przy zmniejszonej aktywności BSEP (np. w cholestazie). Za absorpcję kwasów żółciowych z żyły wrotnej do hepatocytu odpowiadają odmienne transportery (białka Ntcp i Oatp), których aktywność zmniejsza się, gdy stężenie kwasów żółciowych w hepatocycie jest duże [10]

systemy transportowe, np. jelitowy transporter kwasów żółciowych czy rodzina transporterów ABC. Istnienie systemów przenoszenia kwasów żółciowych przez błony zwiększa ich okres półtrwania w krążeniu wątrobowo-jelitowym i chroni komórki przed ich działaniem jako detergentów [1].

Komórkowa lokalizacja syntezy kwasów żółciowych

W kolejnych etapach przemian cholesterolu do kwasów żółciowych następuje wzrost hydrofilowości powstających metabolitów pośrednich. Produkty końcowe (kwasy żółciowe) są już rozpuszczalne w wodzie. Różnice rozpuszczalności między poszczególnymi produktami pośrednimi, a także rozmieszczenie enzymów (retikulum endoplazmatyczne, cytosol, mitochondria, peroksysony) powodują, że system transportu metabolitów pośrednich w hepatocycie jest niezwykle skomplikowany. Do końca nie wiadomo w jaki sposób przemieszczają się one z jednego przedziału komórkowego do drugiego.

Głównym etapem biosyntezy kwasów żółciowych jest transport cholesterolu do przedziałów komórkowych, w których ta synteza się rozpoczyna. 27-hydroksylaza, jeden z ważniejszych enzymów biosyntezy kwasów żółciowych wykorzystywany na wielu etapach tego szlaku, znajduje się w mitochondrium. Musi więc istnieć system transportu jej substratów przez błonę mitochondrialną.

W tkankach steroidogennych cholesterol będący głównym substratem do wytwarzania hormonów steroidowych również musi zostać przetransportowany do wnętrza mitochondrium. W transporcie tym uczestniczy białko StAR. Białko to

jest obecne także w hepatocytach. Stwierdzono, że zarówno w pierwotnych hodowlach hepatocytów szczura, jak i *in vivo* nadekspresja białka StAR prowadzi do zwiększenia syntezy kwasów żółciowych, zwłaszcza 27-hydroksycholesterolu [13].

Za transport metabolitów pośrednich biosyntezy kwasów żółciowych przez błony komórkowe odpowiadają prawdopodobnie także inne białka, np. MLN64 i SCP-2. Pierwsze z wymienionych białek prawdopodobnie transportuje cholesterol do lizosomów, a następnie do błony komórkowej, co powoduje zmniejszenie ilości cholesterolu dostępnego jako substrat do syntezy kwasów żółciowych. Jednakże w pewnych warunkach potrafi także transportować cholesterol do mitochondrium. Drugie z białek bierze udział w transporcie cholesterolu pomiędzy różnymi przedziałami komórkowymi, nie jest więc białkiem ściśle zaangażowanym w wytwarzanie kwasów żółciowych [36].

Nie do końca jest też wyjaśniony problem transportu metabolitów pośrednich biosyntezy kwasów żółciowych do wnętrza peroksysonów, w których zachodzą ostatnie etapy tego szlaku metabolicznego. W błonie peroksysonalnej znajduje się duża grupa białek z rodziny ABC, które transportują przez błony aktywne długocząsteczkowe kwasy tłuszczowe. Być może są one zaangażowane także w proces biosyntezy kwasów żółciowych. Wiadomo, że mutacje w genach kodujących białka ABC u drożdży hamują pobieranie steroli przez peroksysony [47]. Wiadomo też, że utlenianie prekursorów kwasów żółciowych w peroksysonach jest procesem ATP-zależnym i ulega zahamowaniu po degradacji białek błonowych przez proteinazę K (przy nienaruszonych białkach macierzy) [44].

Po zakończeniu koniugacji z glicyną bądź tauryną, kwasy żółciowe są usuwane z peroksysomów do cytosolu. Za transport odpowiedzialne jest swoiste białko – peroksymalny transporter kwasów żółciowych. Działanie tego białka jest prawdopodobnie niezależne od ATP ani od jonów, takich jak jony sodowe czy potasowe. Transport zależy więc tylko od stężenia skoniugowanych kwasów żółciowych we wnętrzu peroksysomów [45].

Usunięte z peroksysomów do cytosolu koniugowane kwasy żółciowe trafiają ostatecznie do pęcherzyka żółciowego. Ich transport przez błonę hepatocyta jest procesem wymagającym udziału energii pochodzącej z rozkładu ATP, ponieważ zachodzi wbrew gradientowi stężeń. Stężenie kwasów żółciowych w żółci jest do 1000 razy większe niż we wnętrzu hepatocyta. Białkiem odgrywającym główną rolę w tym procesie jest transporter BSEP. Jest on glikoproteiną P należącą do rodziny transporterów ABC i charakteryzuje się bardzo dużą swoistością, ponieważ przenosi tylko koniugowane kwasy żółciowe. Ma także aktywność ATP-azy. Ulega ekspresji prawie wyłącznie w wątrobie [1,43]. Na jego ilość w błonie komórkowej wpływ ma stężenie kwasów żółciowych w hepatocycie. Aktywują one transkrypcję z udziałem czynnika FXR. Działanie BSEP ulega także potranskrypcyjnej regulacji. Dotyczy to transportu cząsteczek BSEP do błony, a także jego aktywności (fosforylacja z udziałem kinazy białkowej C) [2]. Niedobór BSEP może doprowadzić do cholestazy. W takiej sytuacji zwiększa się liczba innych transporterów, które w prawidłowych warunkach obecne są na powierzchni hepatocyta w niewielkich ilościach. Są to m.in. białka MRP2, 4 oraz Ost α/β które usuwają kwasy żółciowe do krążenia ogólnego

(ryc. 7) [10]. Pewien udział w transporcie kwasów żółciowych odgrywają także białka Mrp3 oraz Mrp2, przy czym to ostatnie zajmuje się przede wszystkim transportem koniugowanej bilirubiny [1,31].

PODSUMOWANIE

Przez ostatnich kilka lat metabolizm kwasów żółciowych cieszył się rosnącym zainteresowaniem badaczy. Skutkiem było odkrycie wielu nowych faktów dotyczących biosyntezy tych związków. Wiele jednak pozostaje do wyjaśnienia. Przede wszystkim należy uzupełnić obecną wiedzę o dane dotyczące człowieka, ponieważ do tej pory większość badań dotyczyła gryzoni. Dokładniejszego wyjaśnienia wymaga mechanizm wewnątrzkomórkowego transportu metabolitów pośrednich biosyntezy kwasów żółciowych. Istotne są także badania aktywności poszczególnych enzymów biosyntezy kwasów żółciowych w narządach innych niż wątroba. Dotyczy to zwłaszcza CYP7B1 i CYP27A1. Z powyższym wiąże się także nie do końca wyjaśniony mechanizm transportu oksysteroli powstających w różnych narządach, np. do mózgu, do wątroby. Dokładne poznanie przemian kwasów żółciowych może się w istotny sposób przyczynić do wyjaśnienia molekularnych podstaw chorób będących skutkiem zaburzeń metabolizmu cholesterolu i jednocześnie pozwolić na opracowanie nowych leków przydatnych w ich leczeniu.

PODZIĘKOWANIA

Autorka dziękuje Prof. Leonowi Żelewskiemu za przeczytanie manuskryptu i wszelkie krytyczne uwagi.

PIŚMIENICTWO

- [1] Alrfai W.A., Gill R.K.: Bile acid transporters: structure, function, regulation and pathophysiological implications. *Pharm. Res.*, 2007; 24: 1803–1823
- [2] Arrese M., Ananthanarayanan M.: The bile salt export pump: molecular properties, function and regulation. *Pflugers Arch. – Eur. J. Physiol.*, 2007; 449: 123–131
- [3] Baes M., Hyughe S., Carmeliet P., Declercq P.E., Collen D., Mannaerts G.P., Van Veldhoven P.P.: Inactivation of the peroxisomal multifunctional protein-2 in mice impedes the degradation of not only 2-methyl-branched fatty acids and bile acid intermediates but also very long chain fatty acids. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 16329–16336
- [4] Bjorkhem I., Andersson U., Ellis E., Alvelius G., Ellegard L., Diczfalusy U., Sjovall J., Einarsson C.: From brain to bile. Evidence that conjugation and omega-hydroxylation are important for elimination of 24S-hydroxycholesterol (cerebrosterol) in humans. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 37004–37010
- [5] Bjorkhem I., Meaney S.: Brain cholesterol: long secret life behind a barrier. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2004; 24: 806–815
- [6] Chiang J.Y.: Regulation of bile acid synthesis: pathways, nuclear receptors, and mechanisms. *J. Hepatology*, 2004; 40: 539–551
- [7] Falany C.N., Fortinberry H., Leiter E.H., Barnes S.: Cloning, expression, and chromosomal localization of mouse liver bile acid-CoA:amino acid N-acyltransferase. *J. Lipid Res.*, 1997; 38: 1139–1148
- [8] Ferdinandusse S., Denis S., Overmars H., Van Eeckhoudt L., Van Veldhoven P.P., Duran M., Wanders R.J., Baes M.: Developmental changes of bile acid composition and conjugation in L- and D-bifunctional protein single and double knockout mice. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 18658–18666
- [9] Ferdinandusse S., Houten S.M.: Peroxisomes and bile acid biosynthesis. *Biochim. Biophys. Acta.*, 2006; 1763: 1427–1440
- [10] Fiorucci S., Cipriani S., Baldelli F., Mencarelli A.: Bile-acid activated receptors in the treatment of dyslipidemia and related disorders. *Prog. Lipid Res.*, 2010; 49: 171–185
- [11] Garcia F.L., Szyperski T., Dyer J.H., Choinowski T., Seedorf U., Hauser H., Wuthrich K.: NMR structure of the sterol carrier protein-2: implications for the biological role. *J. Mol. Biol.*, 2000; 295: 595–603
- [12] Haapalainen A.M., van Aalten D.M., Merilainen G., Jalonen J.E., Pirila P., Wierenga R.K., Hiltunen J.K., Glumoff T.: Crystal structure of the liganded SCP-2-like domain of human peroxisomal multifunctional enzyme type 2 at 1.75 Å resolution. *J. Mol. Biol.*, 2001; 313: 1127–1138
- [13] Hall E.A., Ren S., Hylemon P.B., Rodriguez-Agudo D., Redford K., Marques D., Kang D., Gil G., Pandak W.M.: Detection of the steroidogenic acute regulatory protein, StAR, in human liver cells. *Biochim. Biophys. Acta.*, 2005; 1733: 111–119
- [14] Hunt M.C., Solaas K., Kase B.F., Alexson S.E.: Characterization of an acyl-CoA thioesterase that functions as a major regulator of peroxisomal lipid metabolism. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 1128–1138
- [15] Infante J.P., Tschanz C.L., Shaw N., Michaud A.L., Lawrence P., Brenna J.T.: Straight-chain acyl-CoA oxidase knockout mouse accumulates extremely long chain fatty acids from α -linolenic acid: evidence for runaway carousel-type enzyme kinetics in peroxisomal β -oxidation diseases. *Mol. Genet. Metab.*, 2002; 75: 108–119
- [16] Karam W., Chiang J.Y.: Expression and purification of human cholesterol 7 α -hydroxylase in *Escherichia coli*. *J. Lipid Res.*, 1994; 35: 1222–1231
- [17] Kolsch H., Lutjohann D., Jessen F., Popp J., Hentschel F., Kelemen P., Schmitz S., Maier W., Heun R.: CYP46A1 variants influence Alzheimer's disease risk and brain cholesterol metabolism. *Eur. Psychiatry*, 2009; 24: 183–190
- [18] Lee W.H., Lukacik P., Guo K., Ugochukwu E., Kavanagh K.L., Marsden B., Oppermann U.: Structure-activity relationships of human AKR-type oxidoreductases involved in bile acid synthesis: AKR1D1 and AKR1C4. *Mol. Cell Endocrinol.*, 2009; 301: 199–204
- [19] Lloyd M.D., Darley D.J., Wierzbicki A.S., Threadgill M.D.: α -methylacyl-CoA racemase – an “obscure” metabolic enzyme takes centre stage. *FEBS J.*, 2008; 275: 1089–1102

- [20] Lund E., Bjorkhem I., Furster C., Wikvall K.: 24-, 25- and 27-hydroxylation of cholesterol by a purified preparation of 27-hydroxylase from pig liver. *Biochim. Biophys. Acta*, 1993; 1166: 177–182
- [21] Lund E.G., Guileyardo J.M., Russell D.W.: cDNA cloning of cholesterol 24-hydroxylase, a mediator of cholesterol homeostasis in the brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999; 96: 7238–7243
- [22] Lund E.G., Xie C., Kotti T., Turley S.D., Dietschy J.M., Russell D.W.: Knockout of the cholesterol 24-hydroxylase gene in mice reveals a brain-specific mechanism of cholesterol turnover. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 22980–22988
- [23] Lundell K., Wikvall K.: Species-specific and age-dependent bile acid composition: aspects on CYP8B and CYP4A subfamilies in bile acid biosynthesis. *Curr. Drug Metab.*, 2008; 9: 323–331
- [24] Martin K.O., Reiss A.B., Lathe R., Javitt N.B.: 7 α -hydroxylation of 27-hydroxycholesterol: biologic role in the regulation of cholesterol synthesis. *J. Lipid Res.*, 1997; 38: 1053–1058
- [25] Mast N., Graham S.E., Andersson U., Bjorkhem I., Hill C., Peterson J., Pikuleva I.A.: Cholesterol binding to cytochrome P450 7A1, a key enzyme in bile acid biosynthesis. *Biochemistry*, 2005; 44: 3259–3271
- [26] Mast N., Norcross R., Andersson U., Shou M., Nakayama K., Bjorkhem I., Pikuleva I.A.: Broad substrate specificity of human cytochrome P450 46A1 which initiates cholesterol degradation in the brain. *Biochemistry*, 2003; 42: 14284–14292
- [27] Mihalik S.J., Steinberg S.J., Pei Z., Park J., Kim D.G., Heinzer A.K., Dacremont G., Wanders R.J., Cuebas D.A., Smith K.D., Watkins P.A.: Participation of two members of the very long-chain acyl-CoA synthetase family in bile acid biosynthesis and recycling. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 24771–24779
- [28] Norlin M., Wikvall K.: Enzymes in the conversion of cholesterol into bile acids. *Cur. Mol. Med.*, 2007; 7: 199–218
- [29] Ohba T., Holt J.A., Billheimer J.T., Strauss J.F. III: Human sterol carrier protein x/sterol carrier protein 2 gene has two promoters. *Biochemistry*, 1995; 34: 10660–10668
- [30] Ohyama Y., Meaney S., Heverin M., Ekstrom L., Brafman A., Shafir M., Andersson U., Olin M., Eggertsen G., Diezfelusy U., Feinstein E., Bjorkhem I.: Studies on the transcriptional regulation of cholesterol 24-hydroxylase (CYP46A1). *J. Biol. Chem.*, 2006; 281: 3810–3820
- [31] Pellicoro A., Faber K.N.: The function and regulation of proteins involved in bile salt biosynthesis and transport. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2007; 26(Suppl.2): 149–160
- [32] Pellicoro A., van den Heuvel F.A., Geuken M., Moshage H., Jansen P.L., Faber K.N.: Human and rat bile acid-CoA:amino acid N-acyltransferase are liver-specific peroxisomal enzymes: implications for intracellular bile salt transport. *Hepatology*, 2007; 45: 340–348
- [33] Pikuleva I.A.: Cytochrome P450s and cholesterol homeostasis. *Pharmacol. Ther.*, 2006; 112: 761–773
- [34] Pikuleva I.A., Babiker A., Waterman M.R., Bjorkhem I.: Activities of recombinant human cytochrome P450c27 (CYP27) which produce intermediates of alternative bile acid biosynthesis pathways. *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 18153–18160
- [35] Pullinger C.R., Eng C., Salen G., Shefer S., Batta A.K., Erickson S.K., Verhagen A., Rivera C.R., Mulvihill S.J., Malloy M.J., Kane J.P.: Human cholesterol 7 α -hydroxylase (CYP7A1) deficiency has a hypercholesterolemic phenotype. *J. Clin. Invest.*, 2002; 110: 109–117
- [36] Ren S., Hylemon P., Marques D., Hall E., Redford K., Gil G., Pandak W.M.: Effect of increasing the expression of cholesterol transporters (StAR, MLN64, and SCP-2) on bile acid synthesis. *J. Lipid Res.*, 2004; 45: 2123–2131
- [37] Ren S., Marques D., Redford K., Hylemon P.B., Gil G., Vlahcevic Z.R., Pandak W.M.: Regulation of oxysterol 7 α -hydroxylase (CYP7B1) in the rat. *Metabolism*, 2003; 52: 636–642
- [38] Russell D.W.: The enzymes, regulation, and genetics of bile acid synthesis. *Annu. Rev. Biochem.*, 2003; 72: 137–174
- [39] Schwarz M., Lund E.G., Lathe R., Bjorkhem I., Russell D.W.: Identification and characterization of a mouse oxysterol 7 α -hydroxylase cDNA. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 23995–24001
- [40] Schwarz M., Wright A.C., Davis D.L., Nazer H., Bjorkhem I., Russell D.W.: The bile acid synthetic gene 3 β -hydroxy- Δ^5 -C27-steroid oxidoreductase is mutated in progressive intrahepatic cholestasis. *J. Clin. Invest.*, 2000; 106: 1175–1184
- [41] Seedorf U., Ellinghaus P., Roch Nofer J.: Sterol carrier protein-2. *Biochim. Biophys. Acta*, 2000; 1486: 45–54
- [42] Steckelbroeck S., Watzka M., Lutjohann D., Makiola P., Nassen A., Hans V.H., Clusmann H., Reissinger A., Ludwig M., Siekmann L., Klingmuller D.: Characterization of the dehydroepiandrosterone (DHEA) metabolism via oxysterol 7 α -hydroxylase and 17-ketosteroid reductase activity in the human brain. *J. Neurochem.*, 2002; 83: 713–726
- [43] Stieger B., Meier Y., Meier P.J.: The bile salt export pump. *Pflugers Arch. – Eur. J. Physiol.*, 2007; 453: 611–620
- [44] Une M., Iguchi Y., Sakamoto T., Tomita T., Suzuki Y., Morita M., Imanaka T.: ATP-dependent transport of bile acid intermediates across rat liver peroxisomal membranes. *J. Biochem.*, 2003; 134: 225–230
- [45] Visser W.F., van Roermund C.W., Ijlst L., Waterham H.R., Wanders R.J.: Demonstration of bile acid transport across the mammalian peroxisomal membrane. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2007; 357: 335–340
- [46] Vlahcevic Z.R., Eggertsen G., Bjorkhem I., Hylemon P.B., Redford K., Pandak W.M.: Regulation of sterol 12 α -hydroxylase and cholic acid biosynthesis in the rat. *Gastroenterology*, 2000; 118: 599–607
- [47] Wilcox L.J., Baldere D.A., Wharton B., Tinkelenberg A.H., Rao G., Sturley S.L.: Transcriptional profiling identifies two members of the ATP-binding cassette transporter superfamily required for sterol uptake in yeast. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 32466–32472

Autorka deklaruje brak potencjalnych konfliktów interesów.