

Biologiczna rola produktów utleniania cholesterolu w organizmie człowieka i zwierząt

AGNIESZKA OBARA, TADEUSZ KOŁCZAK

Katedra Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych AR, ul. 29-Listopada 52, 31-425 Kraków

Obara A., Kołczak T.

Biological role of cholesterol oxidation products in human and animal bodies

Summary

The article presents results of numerous studies on the role of cholesterol oxidation products (COPs) – oxysterols in human and animal bodies. Intestinal absorption as well as formation *in vivo* of COPs has been discussed. Composition and level of oxysterols (free, esterified and bound with lipoproteins) in human plasma has been presented. The metabolic pathways of COPs in human and animal tissues have been discussed along with their influence on cell vital functions.

Oxysterols inhibit HMG-CoA reductase activity and the synthesis of endogenous cholesterol. These compounds can also take the place of cholesterol in cellular membranes and change their permeability, stability and functions. COPs can also promote apoptosis. The most cytotoxic oxysterol *in vitro* is 27-hydroxycholesterol. COPs are one among many factors in the etiology and pathogenesis of atherosclerosis in humans and animals. A few of them can also promote cancerogenesis.

Keywords: oxysterols, human and animal bodies, intestinal absorption, production *in vivo*, cell metabolism, arteriosclerosis

Poznanie mechanizmów oddziaływania produktów utleniania cholesterolu (PUC) na organizm człowieka i zwierząt jest celem wielu badań, głównie ze względu na hipotetyczny związek pomiędzy aktywnością PUC a chorobą wieńcową serca. Wyniki wskazują na cytotoksyczne, arteriogenne, mutagenne i rakotwórcze działanie PUC (1, 2, 5, 7, 8, 11, 16, 18, 20). Obecność różnych PUC została wykryta w tkankach i płynach ustrojowych człowieka, ale ich pochodzenie nie jest w pełni wyjaśnione. W poprzednim opracowaniu omówiono procesy powstawania PUC w produktach spożywczych pochodzenia zwierzęcego (18). W niniejszym opracowaniu przedstawiono oddziaływanie PUC na organizm człowieka i zwierząt. Produktami utleniania cholesterolu są oksysterole. W tab. 1 podano nazwy chemiczne i zwyczajowe oraz przyjęte skróty najczęściej powstających oksysteroli w procesie utleniania cholesterolu w produktach zwierzęcych oraz przyżyciowo w tkankach człowieka i zwierząt.

Wchłanianie produktów utleniania cholesterolu z przewodu pokarmowego

Badania przeprowadzone na szczurach, królikach i małpach wykazały, że PUC zawarte w spożywanych produktach są absorbowane w przewodzie pokarmowym (16). Przyłączają się do chylomikronów, głównie w postaci zestryfikowanej i są transportowane przez

limfę do krwi, gdzie mieszają się z PUC pochodzenia endogennego (8).

Stopień absorpcji PUC w przewodzie pokarmowym człowieka zależy od rodzaju spożywanego pokarmu oraz ich stężenia w pokarmie i waha się od 6% do 93% (8). Najwyższy poziom PUC w osoczu krwi u ludzi stwierdzono w 2.-4. godzinie po spożyciu proszku jajowego (9) lub w 8. godzinie po spożyciu parmezanu i kiełbasy salami (16). W badaniach na szczurach ustalono, że stopień absorpcji z przewodu pokarmowego podstawowych PUC jest następujący (oznaczenia skrótów w tab. 1): 7 β -HC – 42%, 5 β ,6 β -EP – 32%, 7 α -HC – 30%, 5 α ,6 α -EP – 27,5%, CT – 15%, 7-KC – 12% (16).

Powstawanie produktów utleniania cholesterolu *in vivo*

Oksysterole występują w tkankach człowieka w śladowych ilościach, zawsze w obecności cholesterolu. Ich ogólna zawartość jest 10³-10⁶-krotnie mniejsza niż cholesterolu (8).

Oksysterole powstają z *in vivo* w organizmie ssaków z cholesterolu na drodze nieenzymatycznej i enzymatycznej. Nieenzymatyczny proces utleniania cholesterolu prawdopodobnie przebiega według mechanizmu wolnorodnikowej oksydacji (8). U szczurów oddychających powietrzem wzbogaconym w ¹⁸O₂ wy-

Tab. 1. Chemiczne i zwyczajowe nazwy oraz skróty popularnych oksysteroli

Nazwa chemiczna	Nazwa zwyczajowa	Skróty
5-cholesten-3,4 α -diol	4 α -hydroksycholesterol	4 α -OH, 4 α -HC
5-cholesten-3,4 β -diol	4 β -hydroksycholesterol	4 β -OH, 4 β -HC
5-cholesten-3,7 α -diol	7 α -hydroksycholesterol	7 α -OH, 7 α -HC
5-cholesten-3,7 β -diol	7 β -hydroksycholesterol	7 β -OH, 7 β -HC
5-cholesten-3 β -ol-7-on	7-ketocholesterol	7-keto, 7-KC
5 α ,6 α -epoksy-cholestan-3 β -ol	cholesterol-5 α ,6 α -epoksyd	α -epoksy-C, 5 α ,6 α -EP
5 β ,6 β -epoksy-cholestan-3 β -ol	cholesterol-5 β ,6 β -epoksyd	β -epoksy-C, 5 β ,6 β -EP
cholestan-3 β ,5 α ,6 β -triol	cholestanetriol	triol, CT
5-cholesten-3 β ,27-dioliol	27-hydroksycholesterol	27-OH, 27-HC
5-cholesten-3 β ,25-dioliol	25-hydroksycholesterol	25-OH, 25-HC
5-cholesten-3 β ,24-dioliol	24-hydroksycholesterol	24-OH, 24-HC
5-cholesten-3 β ,22-dioliol	22-hydroksycholesterol	22-OH, 22-HC
5-cholesten-3 β ,20-dioliol	20-hydroksycholesterol	20-OH, 20-HC

kryto obecność atomu ^{18}O w cząsteczkach następujących PUC: 7 α -HC, 7 β -HC, 7-KC, 24-HC, 25-HC i 27-HC. Cząsteczki izomerów 5 α ,6 α -EP, 5 β ,6 β -EP i CT nie zawierały atomu ^{18}O (8). W podobnym eksperymencie przeprowadzonym u ludzi obecność atomu ^{18}O stwierdzono w cząsteczkach 7 α -HC i 27-HC, natomiast cząsteczki 24-HC nie zawierały atomów ^{18}O (17).

Żywnienie królików paszą wzbogaconą w przeciwutleniacze (probukol, butylohydroksytoluen, witamina E) powodowało obniżenie poziomu oksysteroli w osoczu krwi i w ścianach aorty (8). Żywnienie diabetyków mieszaniną przeciwutleniaczy (witaminy C i E, β -karoten, koenzym Q₁₀, selen) powodowało obniżenie poziomu izomerów 5,6-EP w osoczu krwi. Natomiast podanie czystej witaminy E powodowało redukcję zawartości CT, 7-KC i 7 β -HC w osoczu krwi (8). Powyższe wyniki wskazują, że oksysterole w organizmie człowieka i zwierząt mogą być generowane w procesach nieenzymatycznej oksydacji cholesterolu. Dane źródłowe nie wskazują jednoznacznie, które z PUC są w ten sposób wytwarzane.

PUC powstałe na drodze enzymatycznego utleniania cholesterolu w organizmie człowieka i zwierząt są pośrednimi produktami przemian katabolicznych cholesterolu. W cząsteczce cholesterolu istnieje tylko pięć pozycji (C-7 α , C-22R, C-24, C-25 i C-27), w których może zachodzić proces enzymatycznej oksydacji (14). 7 α -HC jest produktem pośrednim w syntezie kwasów żółciowych. Jego powstawanie katalizuje enzym cytochromu P450: cholesterol-7 α -hydroksylaza (CYP7A1 – EC 1.14.13.17), występująca w wątrobie. W mikrosomach wątroby u ludzi, chomików i krów zachodzi przemiana 7 α -HC w 7-KC (8). Poznano również alternatywną ścieżkę syntezy kwasów żółciowych, w której tworzy się 27-CH. Reakcja ta jest katalizowana przez enzym cytochromu P450: sterol-27-hy-

droksylazę (CYP27A1 – EC 1.14.13.15). Enzym ten może także katalizować powstawanie kwasu 3 β -hydroksy-5-cholestenowego. Występuje on w komórkach większości tkanek i może odgrywać ważną rolę w wewnątrzustrojowym obiegu cholesterolu (5, 8, 13, 14). Szczególnie wysoką aktywność enzymu CYP27A1 zaobserwowano u ludzi w makrofagach. Oba związki, 27-CH i kwas 3 β -hydroksy-5-cholestenowy, są syntetyzowane przez makrofagi w sytuacji nadmiaru cholesterolu w organizmie (14).

W komórkach nerwowych ludzi następuje utlenianie cholesterolu do 24(S)-HC katalizowane przez enzym 24(S)-hydroksylazę (CYP46 – EC 1.14.-.-). Wykazano, że w ciągu doby w organizmie człowieka powstaje około 6-7 mg 24(S)-HC (7). Większość 24-HC obecnego we krwi człowieka pochodzi z tkanki nerwowej mózgu (5). Oksysterol ten występuje głównie w osłonkach mielinowych neurytów,

pełniąc funkcje ochronne. U pacjentów z chorobą Alzheimera zaobserwowano związek pomiędzy podwyższonym stężeniem 24-HC we krwi a spadkiem sprawności umysłowej (17). W ostatnim czasie stwierdzono, że jeszcze jeden enzym cytochromu P450, mianowicie cholesterol-4 β -hydroksylaza (CYP3A4 – EC 1.14.13.67), może katalizować powstawanie 4 β -HC (5). Mimo że reakcja z udziałem enzymu CYP3A4 przebiega z niewielką szybkością, 4 β -HC występuje we krwi u ludzi w stosunkowo wysokim stężeniu (6).

Produkty utleniania cholesterolu w osoczu krwi

Piśmiennictwa dotyczące zawartości oksysteroli w osoczu krwi człowieka i zwierząt są zróżnicowane (16). Duża zmienność podawanych wyników może być spowodowana stosowaniem różnych metod analitycznych. Synteza PUC może zachodzić podczas przechowywania próbek analitycznych, a nawet w okresie przeprowadzania samej analizy. Dodatek cholesterolu znakowanego izotopowo do próbek osocza pozwolił stwierdzić, że niemal cała ilość oznaczonych później w osoczu PUC: 7 β -CH, 5 α ,6 α -EP i 5 β ,6 β -EP została wytworzona podczas postępowania analitycznego (8).

Na ryc. 1 przedstawiono poziom oksysteroli oraz stopień ich estryfikacji w osoczu człowieka. Niewielką grupę wolnych oksysteroli w osoczu stanowią PUC pochodzenia enzymatycznego: 27-HC, 24-HC i 7 α -HC (8). W przeciwieństwie do wolnego cholesterolu, który jest składnikiem błon plazmatycznych, wolne oksysterole łączą się z albuminą surowicy krwi (16).

Z wyjątkiem 7-KC i izomerów 5,6-EP pozostałe oksysterole występujące w osoczu człowieka są w większości zestryfikowane. Estry acylowe PUC występują we wszystkich lipoproteinach osocza (8, 16). Dlatego też mogą występować istotne różnice w aktywności biologicznej między PUC związanymi z albuminą a zestryfikowanymi PUC związanymi z lipo-

proteinami. Istnieją także różnice w zawartości PUC w niektórych frakcjach lipoprotein (16). Na przykład, 27-HC występuje głównie w frakcjach HDL i LDL osocza, natomiast nie wykryto jego obecności we frakcji VLDL osocza. 7 β -HC występuje głównie we frakcji LDL osocza (19). Stężenie PUC w utlenionych frakcjach LDL osocza jest większe niż przeciętna zawartość oksysteroli w ogólnej frakcji lipoprotein osocza krwi człowieka, w najwyższych stężeniach występuje 7-KC, a następnie 5,6-EP i 7-HC (8). Wykazano, że w utlenionym LDL (oxLDL) znajduje się 30% utlenionego cholesterolu, podczas gdy w „normalnym” LDL jest go tylko 2% (16).

Metabolizm produktów utleniania cholesterolu

Na podstawie badań nad metabolizmem oksysteroli u szczurów z użyciem znakowanego 5 α ,6 α -EP stwierdzono, że 5 α ,6 α -EP był prawie całkowicie usuwany z krwi po dwóch dniach, natomiast jego wydalanie w kale trwało kilka dni i było dwufazowe: szybkie w ciągu pierwszych trzech dni i powolne w następnych dniach (16).

Meaney i wsp. (17) wstrzykiwali ludziom liposomy zawierające cząsteczki cholesterolu znakowane izotopem ^2H i stwierdzili obecność atomów ^2H u 13% z ogólnego 7 α -HC krążącego we krwi. Oksysterol ten miał okres półtrwania równy 13 dni. Cząsteczki 27-HC występujące we krwi wykazywały obecność atomów ^2H początkowo w znacznie mniejszym stężeniu niż cząsteczki 7 α -HC, po 30 dniach sytuacja uległa odwróceniu. W cząsteczkach 24-HC nie zaobserwowano znacznego przyłączenia atomów ^2H . Na podstawie uzyskanych wyników Meaney i wsp. (17) sądzą, że 7 α -HC jest produktem utleniania cholesterolu z „puli wątrobowej” ulegającej szybkiej wymianie z cholesterolem osocza; 80% 27-HC osocza jest produktem utleniania cholesterolu pochodzącego z „puli tkankowej” ulegającej wolniejszej wymianie; co najmniej 95% 24-HC osocza pochodzi z utleniania cholesterolu z „puli nie ulegającej wymianie” (cholesterol zawarty w tkance mózgowej i kościach). W podobnym doświadczeniu z wykorzystaniem znakowanego cholesterolu stwierdzono, że okres półtrwania 7-HC i 27-HC w osoczu krwi człowieka wynosi mniej niż 1 godz., a 24-HC – 10-14 godzin (4).

W wątrobie cholesterol ulega przekształceniu w rozpuszczalne w wodzie kwasy żółciowe (cholowy i chenodezoksycholowy), które są następnie wydalane z żółcią. Jak zaznaczono powyżej, proces ten przebiega według dwóch równoważnych mechanizmów. Pierwszy, dominujący u dorosłych, rozpoczyna się 7 α -hydroksylacją cholesterolu. Enzymem regulującym szybkość tego procesu jest enzym cytochromu P450: cholesterol-7 α -hydroksylaza (CYP7A1), obecna głównie w wątrobie (5, 14, 16). Drugi mechanizm powstawania kwasów żółciowych rozpoczyna się 27-hydroksylacją cholesterolu. Kluczowym enzymem w tym procesie jest enzym cytochromu P450: cholesterol-27-

-hydroksylaza (CYP27A1) występująca w komórkach większości tkanek (5, 14). Na tej ścieżce powstaje około 6% kwasów żółciowych (17). W żółci wykryto również obecność niezestryfikowanych oksysteroli (16).

PUC mogą być substratami w procesach syntezy sterydów. Wykazano, że w mitochondriach łożyska kobiety łańcuchy boczne PUC mogą ulegać hydroksylowaniu, produktami reakcji są związki sterydowe (16).

Wpływ produktów utleniania cholesterolu na komórki tkanek zwierzęcych

Oksysterole wykazują różnokierunkowe oddziaływanie na poziomie komórkowym. Wpływają na syntezę, estryfikację, wchłanianie i wydzielanie cholesterolu w komórkach. Wiążą się z białkami. Sugeruje się, że mogą one regulować metabolizm cholesterolu w organizmie człowieka i zwierząt (3, 16).

Na poziomie komórkowym najistotniejszy jest bezpośredni, hamujący wpływ PUC na aktywność HMG-CoA reduktazy (β -hydrokso- β -metyloglutarylo-CoA – EC 1.1.1.34), efektem jest zmniejszenie syntezy endogenego cholesterolu (8). W warunkach *in vitro* nie oczyszczony cholesterol oraz kilka oksysteroli (7 α -HC, 7 β -HC, 7-keto) znacznie zmniejszają aktywność HMG-CoA reduktazy i syntezę cholesterolu w kulturach fibroblastów myszy (2). Stężenie oksysteroli w komórkach fibroblastów na poziomie 10^{-9} M znacznie redukuje aktywność HMG-CoA reduktazy, podczas gdy 10 000-krotnie wyższe stężenie cholesterolu wykazuje tylko lekkie działanie hamujące na aktywność enzymu (3).

Pod wpływem 25-HC i 7-KC półokres trwania HMG-CoA reduktazy ulega skróceniu (5, 8). Istnieje dodatnia korelacja pomiędzy akumulacją oksysteroli (szczególnie 24-HC) w komórkach wątroby myszy a obniżeniem aktywności HMG-CoA reduktazy (5). Obecność grupy 3 β -hydroksylowej i podwójnego wiązania Δ^5 jest kluczowa dla aktywności HMG-CoA reduktazy. Hydroksylacja cholesterolu w pozycjach C-7, C-24 i C-27 nie wpływa na aktywność enzymu (5). Również usunięcie łańcucha bocznego cholesterolu nie zapobiega hamowaniu przez PUC aktywności HMG-CoA reduktazy w wątrobie myszy (8). Prawdopodobnie PUC kontrolują aktywność HMG-CoA reduktazy w dwojaki sposób: hamują transkrypcję tego enzymu oraz wpływają na strukturę białka enzymu (5, 8).

Odkrycie, że oksysterole regulują aktywność HMG-CoA reduktazy sprawiło, że zaczęto poszukiwać białek, które pośredniczą w tej regulacji. Kandutsch i wsp. (15) zidentyfikowali białko wykazujące powinowactwo do różnych oksysteroli i wpływające na aktywność HMG-CoA reduktazy w fibroblastach. Białko wiążące oksysterole (OBP) jest prawdopodobnie obecne w cytozolu większości komórek zwierzęcych i ma wpływ na ich funkcje życiowe (5).

Przyjmuje się, że 25-HC jest najbardziej efektywnym inhibitorem endogennej syntezy cholesterolu, ale w większości badań, na podstawie których wysunięto

powyższy wniosek, stosowano stężenia oksysteroli znacznie przewyższające ich ewentualny fizjologiczny poziom w komórkach (5). 27-HC nie wpływa istotnie na metabolizm cholesterolu w organizmie zwierząt (3).

Oksysterole, działając aktywnie na acyl-CoA: cholesterol acyltransferazę (ACAT – EC 2.3.1.9), są potencjalnymi aktywatorami wewnątrzkomórkowej estryfikacji cholesterolu (16). W komórkach wielu tkanek zwierzęcych synteza estrów cholesterolu jest znacznie przyspieszana przez 25-HC (8). Wysokie stężenie 7-KC w kulturach komórkowych stymuluje aktywność ACAT, natomiast obecność 7 α -HC hamuje aktywność enzymu (2). Mechanizm regulacji aktywności enzymu ACAT w komórkach tkanek zwierzęcych przez sterole pozostaje nieznany.

Oksysterole zajmują miejsce cholesterolu w błonach komórkowych, co zmienia ich przepuszczalność, stabilność i inne właściwości (1, 2, 16). PUC zmniejszają aktywność Na⁺/K⁺ ATPazy i 5'-nukleotyduzy błon komórkowych mięśni gładkich aorty u królika (8), hamują aktywność Ca²⁺/Mg²⁺ ATPazy w komórkach mięśni gładkich aorty u krowy, a także zwiększają wewnątrzkomórkowe stężenie Ca²⁺ (16). W komórkach śródbłonna naczyń krwionośnych pod wpływem PUC maleje produkcja prostacykliny PGI₂, co w konsekwencji powoduje przyłączanie się płytek krwi do komórek śródbłonna. Cholesterol i oksysterole w przeciwnym sposobie wpływają na interakcję międzykomórkową w mięśniach gładkich; oksysterole osłabiają połączenia międzykomórkowe (16).

7-KC powoduje różnicowanie i przekształcanie monocytów w makrofagi, natomiast obecność 22(R)-HC i 25-HC nie ma istotnego wpływu na ten proces (10).

Oksysterole mogą wywoływać apoptozę, czyli genetycznie zaprogramowane samobójstwo komórki (7). Komórka wchodzi na drogę apoptozy wówczas, gdy: 1) jej DNA jest uszkodzone, 2) ma pobudzone receptory błonowe i wewnątrzkomórkowe, 3) traci kontakt z macierzą zewnątrzkomórkową. 7 β -HC i 25-HC indukują apoptozę w ludzkich monocytach krwi (U937) – prawdopodobnie poprzez uszkodzenie DNA oraz w ludzkich hepatocytach (HepG2) – prawdopodobnie przez nekrozę, przy czym oba oksysterole są znacznie bardziej cytotoksyczne w stosunku do hepatocytów (7).

Większość badań nad wpływem PUC na metabolizm fibroblastów *in vitro* poświęcono oddziaływaniu 25-HC, 27-HC oraz izomerów 7-HC i 7-KC. Stwierdzono, że największą toksyczność wykazuje 27-HC, następnie oksysterole utlenione przy atomie węgla C-7. Izomer 7 β -OOH jest 10-15 razy bardziej toksyczny niż inne izomery 7-HC i 7-KC. Natomiast izomer 7 α -HC jest bardziej toksyczny niż 7-KC. Najmniej cytotoksyczny okazał się 25-HC (8).

Wyniki badań *in vivo* nie są tak jednoznaczne, jak rezultaty *in vitro*. Z badań *in vivo* wynika, że CT i 25-HC wykazują największą cytotoksyczność spośród wszystkich testowanych PUC. Prawdopodobnie 7 α -hydrok-

sylicja zmniejsza toksyczność oksysteroli 27-HC, 25-HC (8).

Produkty utleniania cholesterolu a arterioskleroza

Na podstawie wyników uzyskanych w licznych badaniach *in vitro* wskazujących na cytotoksyczność oksysteroli, szczególnie w stosunku do komórek śródbłonna i mięśni gładkich naczyń krwionośnych, wysunięto hipotezę o ich właściwościach aterogennych (1, 2, 5, 8, 16, 18, 20).

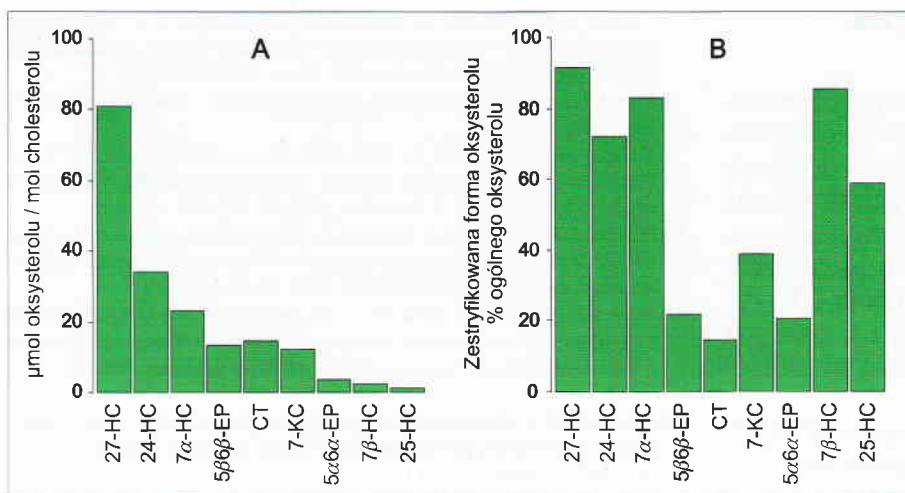
W 1987 r. Jacobson (12) sugerował, że wysoka zachorowalność na miażdżycę u hinduskich emigrantów mieszkających w Londynie, w porównaniu z innymi londyńczykami, jest powodowana konsumpcją tradycyjnie przygotowywanego masła ghee zawierającego około 0,25mg PUC/g masła, podczas gdy w zwykłym maśle oksysterole nie są wykrywalne. Ostatnio Gupta i wsp. (cyt. za 8) wykazali, że hindusi mieszkający w Indiach, spożywający miesięcznie ponad 1 kg masła ghee zapadają 4-krotnie częściej na choroby serca w porównaniu z hindusami spożywającymi poniżej 1 kg ghee na miesiąc.

Salonen i wsp. (19) jako jedni z pierwszych badali związek pomiędzy poziomem PUC w osoczu krwi a miażdżycą u ludzi. Zwrócili uwagę na istotny związek pomiędzy poziomem 7 β -HC w surowicy a stanem zaawansowania miażdżycy naczyń szyi. Poza 7 β -HC, wszystkie inne PUC obecne w krwi były również łączone z rozwojem stanu chorobowego, chociaż w mniejszym stopniu. Stwierdzono, że iniekcje donaczyniowe CT lub 25-HC w ilości 2,5 mg/kg masy ciała u ludzi powodowały uszkodzenia powierzchni naczyń krwionośnych (8).

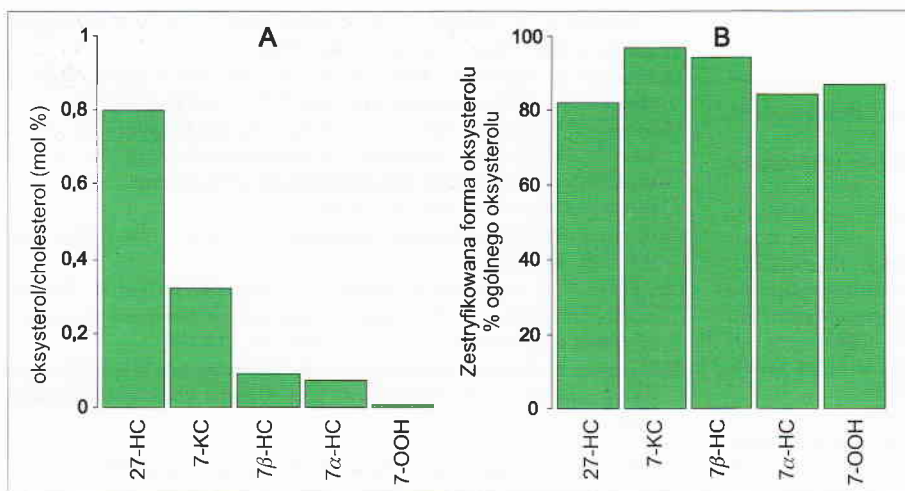
Zmodyfikowane lipoproteiny, szczególnie formy utlenione LDL (oxLDL), odgrywają dużą rolę w rozwoju arteriosklerozy (16). OxLDL mają zdolność wywoływania proliferacji makrofagów. Cząstki LDL wzbogacone w PUC są w znacznie większym stopniu wychwytywane i akumulowane przez makrofagi (10, 16). Podobne wyniki uzyskano w przypadku komórek mięśni gładkich tętnic królików (16).

Starając się zidentyfikować oksysterole odpowiedzialne za toksyczne działanie oxLDL, Huges i wsp. (11) sugerowali, że epimery 7-HC i 7-KC mogą być najbardziej toksyczne dla komórek mięśni gładkich tętnic. Stwierdzono również, że 7 β -OOH cholesterolu jest najważniejszym związkiem pośrednim w reakcji utleniania cholesterolu w oxLDL, cytotoksycznym wobec kultury fibroblastów ludzkiej skóry, w 90% odpowiedzialnym za cytotoksyczność oxLDL (16). W badaniach nad utlenianiem LDL katalizowanym przez miedź stwierdzono, że w początkowej fazie oksydacji 7-OOH cholesterolu stanowił 40% izomerów C-7 oksysteroli zawartych w oxLDL, natomiast po dłuższym okresie utleniania jego zawartość w oxLDL zmniejszała się (8).

Metaboliczne zachowanie się utlenionych form lipoprotein o dużej gęstości (oxHDL) jest inne niż nie-



Ryc. 1. Poziom oksysteroli w osoczu krwi zdrowych, dorosłych ludzi (A) oraz procentowy udział zestyfikowanej formy oksysterolu (B) (13)



Ryc. 2. Poziom oksysteroli w płytkach miażdżycowych tętnicy szyjnej u ludzi (A) oraz procentowy udział zestyfikowanej formy oksysterolu (B) (13)

utlenionych form HDL. Formy oxHDL zawierające PUC lub wodoronadtlenki estrów cholesterolu posiadają zmniejszoną zdolność pobierania cholesterolu z komórek. Zgodnie z powyższym sugerowano, że utlenianie HDL osłabia ich ochronną rolę w procesie rozwoju arteriosklerozy (16).

W licznych badaniach stwierdzono, że 27-OH jest głównym oksysterolem występującym w płytkach miażdżycowych człowieka (8). Na ryc. 2 przedstawiono poziom oksysteroli oraz stopień ich estryfikacji w płytkach miażdżycowych. Sugerowano, że wczesny rozwój arteriosklerozy u ludzi jest jedną z fenotypowych oznak obniżonej aktywności cholesterol-27-hydrolazy (5, 13, 14). Drugim oksysterolem występującym w dużym stężeniu w płytkach miażdżycowych jest 7-KC, innymi oksysterolami stwierdzanym zwykle w podwyższonym stężeniu w płytkach miażdżycowych są: 7β-OH i 7α-OH. Te cztery oksysterole stanowią 75-85% z ogółem dziewięciu PUC wykrytych w płytkach miażdżycowych (5, 8). Innymi oksysterolami występującymi w płytkach miażdżycowych są: 5β,6β-EP, 5α,6α-EP, CT, 25-OH i 24-OH. Oprócz wymienionych w płytkach miażdżycowych stwierdza się także obec-

ność: 4α-HC, 4β-HC i 7β-OOH. Ponadto 7-KC jest dominującym oksysterolem w komórkach piankowatych. Większość oksysteroli występuje w płytkach miażdżycowych w postaci zestyfikowanej, 27-HC jest najczęściej estrem kwasu palmitynowego lub oleinowego (8).

Badania na zwierzętach przeprowadzone przez wielu autorów, wskazują na istotny wpływ oksysteroli pochodzących z paszy na rozwój miażdżycy (1, 2, 5, 8, 16, 18, 20). Podczas karmienia gołębi dietą wzbogaconą w cholesterol i niewielkie ilości CT i stwierdzono 2-krotnie częściej występującą miażdżycę naczyń krwionośnych w porównaniu z grupą kontrolną. Natomiast dożylnie podawanie królikom 25-HC oraz CT powodowało wystąpienie wielu uszkodzeń na powierzchni tętnic zwierząt w 24 godz. po iniekcji, przy czym były one większe u zwierząt, którym podawano CT. Wyniki badań przeprowadzonych na szczurach wskazują, że podawanie paszy wzbogaconej w cholesterol, przechowywanej w warunkach sprzyjających jego utlenianiu, powoduje znaczne nagromadzenie cholesterolu w wątrobie zwierząt (2).

Wyniki dotyczące wpływu oksysteroli pochodzących z diety na metabolizm lipidów i arteriosklerozę uzyskane z badań *in vivo* są jednak niejednoznaczne. Niektóre z oksysteroli nie wykazujące aterogennego działania, mogą być przekształcane w inne związki o silnych właściwościach aterogennych. Przykładowo, 5α,6α-EP, występujący często w wysoko przetworzonej żywności, w kwasowym środowisku żołądka jest hydrolizowany do CT (2). Chociaż 5α,6α-EP nie wykazuje właściwości arterogennych, to jednak triol utworzony z niego w żołądku może je wykazywać w bardzo silnym stopniu.

PUC są tylko jednym z wielu czynników w wieloczynnikowej etiologii i patogenezie powstawania miażdżycy u ludzi i zwierząt. Jednak, jak twierdzą Brown i Jessup (8) w artykule monograficznym na temat związku oksysteroli z arteriosklerozą, nie ma bezpośredniego dowodu na to, że PUC mają wpływ na rozwój miażdżycy u ludzi. Spośród 13 artykułów dotyczących roli PUC w rozwoju miażdżycy, cytowanych w ich pracy, w 6 wykazano, że oksysterole pochodzące z diety indukują miażdżycę u ludzi, w 3 nie wykazano żadnego związku pomiędzy PUC a arteriosklerozą, natomiast według 4 pozostałych oksysterole mogą wykazywać działanie przeciwmiażdżycowe.

Produkty utleniania cholesterolu a rozwój nowotworów

Omawiając biologiczną rolę PUC nie sposób pominąć ich wpływu na powstawanie niektórych nowotworów (1, 16, 18, 20). $5\alpha,6\alpha$ -EP w znacznych ilościach jest obecny w komórkach nowotworowych skóry, zaś wspólnie z β -izomerem występuje w komórkach nowotworów łagodnych piersi i w płynach prostatycznych z przerostem prostaty. Wyższy poziom CT występuje u pacjentów z rakiem okrężnicy i w różnych stanach przedrakowych, np. przy zapaleniu wrzodziejącym okrężnicy (16).

Należy jednak podkreślić, że dwa spośród PUC, mianowicie 25-HC i 7α -HC, hamują rozwój oraz podział komórek nowotworowych (1, 2, 20). Możliwy związek oksysteroli z aktywnością mutagenną i rozwojem nowotworów u ludzi i zwierząt wciąż jest celem badań.

Piśmiennictwo

1. Bartnikowska E.: Aktywność biologiczna oksysteroli. *Zyw. Człow. Met.* 1995, 22, 1-11.
2. Bartnikowska E.: New concepts for the role of oxysterols in lipid metabolism. *Polish J. Food Nutr.* 1998, 7, 342-347.
3. Björkhem I.: Do oxysterols control cholesterol homeostasis? *J. Clin. Invest.* 2002, 110, 725-730.
4. Björkhem I., Andersson U., Ellis E., Avelius G., Ellegard L., Diczfalusy U., Sjövall J., Einarsson C.: From brain to bile. Evidence that conjugation and ω -hydroxylation are important for elimination of 24S-hydroxycholesterol (cerebrosterol) in humans. *J. Biol. Chem.* 2001, 278, 37004-37010.
5. Björkhem I., Diczfalusy U.: Oxysterols – friends, foes, or just fellow passengers? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2002, 22, 734-742.
6. Bodin K., Bretillon L., Aden Y., Bertilsson L., Broome U., Einarsson C., Diczfalusy U.: Antiepileptic drugs increase plasma levels of 4β -hydroxycholesterol in humans. Evidence for involvement of cytochrome P450 3A4. *J. Biol. Chem.* 2001, 276, 38685-38689.

7. O'Brien N. M., Woods J. A., Aherne S. A., O'Callagan Y. C.: Cytotoxicity, genotoxicity and oxidative reactions in cell-culture models: modulatory effects of phytochemicals. *Biochem Sci. Trans.* 2000, 28, 22-26.
8. Brown A. J., Jessup W.: Oxysterols and atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 1999, 142, 1-28.
9. Emanuel H. A., Hassel C. A., Addis P. B., Bergmann S., D., Zavoral J. H.: Plasma cholesterol oxidation products (oxysterols) in human subjects fed a meal rich in oxysterol. *J. Food Sci.* 1991, 56, 843-847.
10. Hayden J. M., Brachova L., Higgins K., Obermiller L., Sevanian A., Khandrika S., Reaven P.: Induction of monocyte differentiation and foam cell formation in vitro by 7-ketocholesterol. 2002, 43, 26-35.
11. Hughes H., Mathews B., Lenz M. L., Guyton J. R.: Cytotoxicity of oxidized LDL to prodine aortic smooth muscle cells is associated with the oxysterols 7-ketocholesterol and 7-hydroxycholesterol. *Atherosclerosis.* 1994, 14, 1177-1185.
12. Jacobson M. S.: Cholestreol Oxides in Indian ghee: possible cause of unexplained high risk of arteriosclerosis in Indian immigrant populations. *Lancet.* 1987, 1, 116-33.
13. Javitt N. B.: 25R-, 26-Hydroxycholesterol revisited: synthesis, metabolism and biologic roles. *J. Lipid Res.* 2002, 43, 665-670.
14. Javitt N. B.: Cholesterol, hydroxycholesterols and bile acids. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 2002, 292, 1147-1153.
15. Kandutsch A. A., Thompson E. B.: Cytosolic proteins that bind oxygenated sterols. *J. Biol. Chem.* 1980, 255, 10813-10826.
16. Linseisen J., Wolfram G.: Origin, metabolism and adverse health effects of cholesterol oxidation products. *Fett/Lipid.* 100, 211-218.
17. Meaney S., Hassan M., Sakinis A., Lütjohann D., von Bergmann K., Wennmalm Å., Diczfalusy U., Björkhem I.: Evidence that the major oxysterols in human circulation originate from distinct pools of cholesterol: a stable isotope study. *J. Lipid Res.* 2001, 42, 70-78.
18. Obara A.: Produkty utleniania cholesterolu w żywności. *Zyw. Człow. Met.* 2001, 28, 256-262.
19. Salonen J. T., Nyyssonen K., Salonen R., Porkkala-Sarataho E., Tuominen T.-P., Diczfalusy U., Björkhem I.: Lipoprotein oxidation and progression of carotid atherosclerosis. *Circulation* 1997, 95, 840-845.
20. Wąsowicz E.: Produkty utleniania cholesterolu wykrywane w żywności i ich biologiczne znaczenie. Biblioteka PTTZ – Oddział Wielkopolski, Poznań 1997.

Adres autora: Agnieszka Obara, ul. Białoprądnicka 24b/3, Kraków; Tadeusz Kolczak, ul. Nad Sudółem 12/36, Kraków

❖❖❖❖ RECENZJE I BIBLIOGRAFIA ❖❖❖❖

Wiesław Deptuła, Marcin Lener
Beata Tokarz-Deptuła, Michał Stosik

Układ odpornościowy i choroby zakaźne królików



W. DEPTUŁA, M. LENER, B. TOKARZ-DEPTUŁA, M. STOSIK:
Układ odpornościowy i choroby zakaźne królików. Wyd. Naukowe Uniwersytetu Szczecińskiego, Szczecin 2003, s. 122, cena 15 zł, ISBN 83-7241-360-6.

Książkę można nabyć w Wydawnictwie Naukowym US, 71-101 Szczecin, ul. Mickiewicza 66, tel. 444-20-06, w godz. 8.30-14.30, tel./fax 444-21-52, e-mail: wnus@uoo.univ.szczecin.pl. Wydawnictwo prowadzi również sprzedaż wysyłkową na podstawie pisemnych zamówień

JAN KRUPA: **Znad Dolistówki.**
Książnica Podlaska im. Łukasza Górnickiego, Białystok 2003-12-01

„Znad Dolistówki” – to nowy, drugi już tomik poezji doktora nauk weterynaryjnych Jana Krupy. Trzydzieści sześć utworów o rozmaitej tematyce – od wspomnień świata dzieciństwa i tego, co przeminęło do zadumy nad dniem dzisiejszym i kondycją ludzką. Poświęcone sprawom ważnym w życiu człowieka – wzruszają i zmuszają do zastanowienia.

a.a.