Rola wątroby w utrzymaniu homeostazy - Kwasy żółciowe

Dr Marta Żebrowska
Pracownia Diagnostyki Molekularnej i Farmakogenomiki, Zakładu Biochemii Farmaceutycznej i Diagnostyki Molekularnej, Międzywydziałowej Katedry Diagnostyki Molekularnej i Laboratoryjnej

Kamienie żółciowe

Kamienie żółciowe są złożone głównie z: cholesterolu barwinków żółciowych, fosfolipidów, soli kwasów żółciowych, soli żółciowych

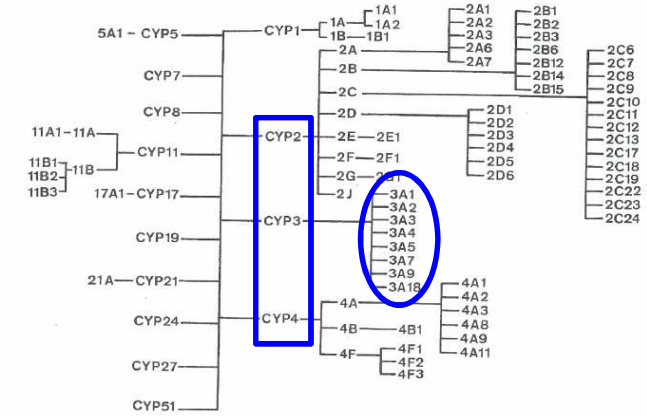
W warunkach prawidłowych: cholesterol jest zawieszony w żółci w micelach złożonych z kwasów żółciowych i lecytyny; rozpuszczalność cholesterolu jest prawidłowa gdy: kwasy żółciowe:lecytynya:cholesterol-13:3:1

Mechanizmy sprzyjające powstawaniu kamieni żółciowych:
-Zmniejszona zawartość kwasów żółciowych w żółci będą wynikiem: upośledzenia ich wchłaniania, zmniejszoną syntezą
-Nadmiar cholesterolu
-Czynnościowe zaburzenia pęcherzyka żółciowego

Klasyfikacja morfologiczna opiera się głównym składniku z jakiego są zbudowane:
-80% kamienie mieszane: do 2cm średnicy, barwę nadaje im dominujący składnik (cholesterol-żółty; bilirubinian wapniowy-czarną, węglan wapniowy-białą)
-10% kamienie warstwowe: jądro stanowi warstwę czystą najczęściej cholesterol
-10% kamienie czyste zbudowane z jednego składnika: najczęściej cholesterolowe, potem zbudowane z bilirubinianu wapnia, najrzadziej zbudowane z węglanu wapnia

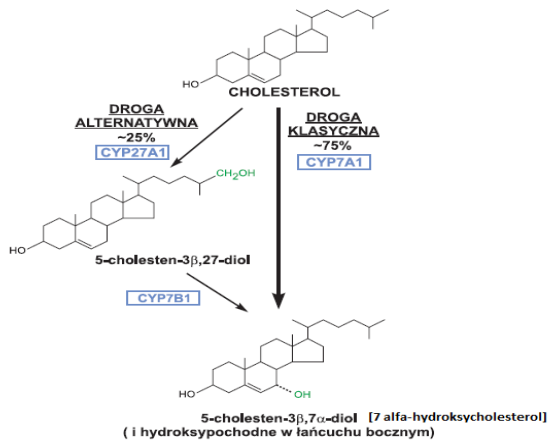
Cytochromy P450

- Izoenzymy kodowane przez 57 genów
- Izoenzymy należą do 18 rodzin i 43 podrodzin



Źródło: M. Waśniewska i wsp. „ Wybrane zagadnienia z biochemii cytochromów P450" Kosmos Problemy Nauk Biologicznych, 1997 46(1) 121-128

Biosynteza kwasów żółciowych - INICJACJA



Źródło: Areta Hebanowska Mechanizmy regulacji biosyntezy kwasów żółciowych autoregulacyjna rola kwasów żółciowych; Postępy Biochemii 2011, 57 (3); 314-323

Biosynteza kwasów żółciowych-INICJACJA

CYP7A1 – 7 α-hyroksylaza cholesterolowa

- należy do nadrodziny cytochromów P450
- enzym mikrosomalny, występuję głównie w wątrobie
- kodowany przez gen *Cyp7a1*
- reakcja katalizowana przez ten enzym jest etapem ograniczającym biosyntezę kwasów żółciowych

CYP27A1- 27-hydroksylazę sterolową

- należy do nadrodziny cytochromów P450
- enzym obecny w wielu narządach: śródbłonek naczyń krwionośnych, nerki, płuca, mózgu, skórze, jelicie, prostacie a także makrofagach
- droga alternatywna

CYP7B1 – 7 α – hydroksylaza sterolowa

- należy do nadrodziny cytochromów P450
- enzym obecny głównie w wątrobie ale także w wielu narządach: nerkach, śródbłonku naczyń, jelicie cienkim, jądrach, jajnikach, prostacie oraz innych narządach
- dodatkowymi substratami są steroidy : głównie DHEA a także pregnenolon, 17α-estradiol, testosteron

Biosynteza kwasów żółciowych-INICJACJA

CYP46A1 – 24-hydroksylaza cholesterolowa

- należy do nadrodziny cytochromów P450
- enzym mikrosomalny
- obecny w neuronach mózgu
- katalizuje powstanie 24-hydroksyholesterolu, przez co odgrywa istotną rolę w transporcie cholesterolu z mózgu do wątroby

- 24-hydroksycholesterol po przekroczeniu bariery krew-mózg trafia wraz z krwią do wątroby, gdzie zostaje przekształcony do kwasów żółciowych lub jest sprzęgany z siarczanem lub glukuronianem
- rola regulacyjna: dostępność substratu, stres oksydacyjny
- aktywność tego enzymu oraz niektóre warianty genowe CYP46A1 są związane z ryzykiem rozwoju choroby Alzheimera

CH25H – 25-hydroksylaza cholesterolowa

- enzym mikrosomalny
- nie należy do cytochromów P450
- jego niewielką aktywność wykazano w we wszystkich tkankach
- katalizuję powstanie 25-hydroksycholesterolu
- nie odgrywa większej roli w biosyntezie kwasów żółciowych

Biosynteza kwasów żółciowych-INICJACJA

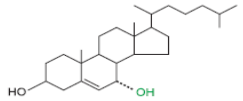
CH25H – 25-hydroksylaza cholesterolowa

Zarówno 24-hydroksycholesterol jak i 25-hydroksycholesterol są kolejno hydroksylowane w pozycji 7α :

- 24-hydroksycholesterol przez CYP7A1 lub CYP39A1
- 25-hydroksycholesterol przez CYP7B1

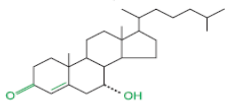
HYDROKSYLACJA OKSYSTEROLI W POZYCJI 7α JEST NIEZBĘDNA DO ICH DALSZYCH PRZEMIAN

Biosynteza kwasów żółciowych- MODYFIKACJE STRUKTURY PIERŚCIENI METABOLITÓW 7 ALPHA-CHOLESTEROLU



5-cholesten-3β,7α-diol
(i hydroksypochodne w łańcuchu bocznym)

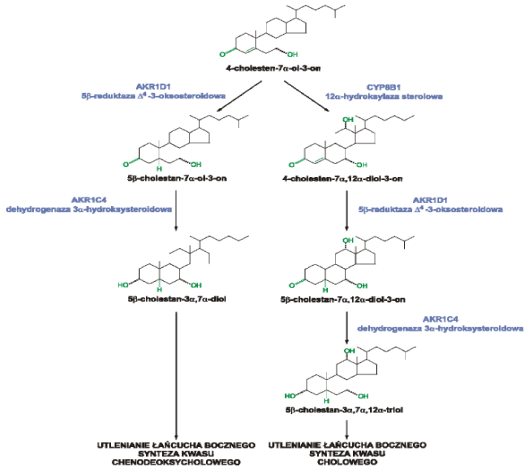
HSD3B7



4-cholesten-7α-ol-3-on
(i hydroksypochodne w łańcuchu bocznym)

Źródło: Areta Hebanowska Mechanizmy regulacji biosyntezy kwasów żółciowych autoregulacyjna rola kwasów żółciowych; Postępy Biochemii 2011, 57 (3); 314-323

Biosynteza kwasów żółciowych-
MODYFIKACJE STRUKTURY PIERŚCIENI METABOLITÓW 7 ALPHA-CHOLESTEROLU



Źródło:A.Hebanowska Biosynteza kwasów żółciowych i jej regulacja. Postępy Hig Med Dosw 2010, 64; 544-554
Źródło ryciny wątroby:http#keywordsuggest.orggallery1294305.html

Biosynteza kwasów żółciowych-
MODYFIKACJE STRUKTURY PIERŚCIENI METABOLITÓW 7 ALPHA-CHOLESTEROLU

HSD3B7 – oksydoreduktaza 3β-hydroksy-Δ^5-C27 steroidowa

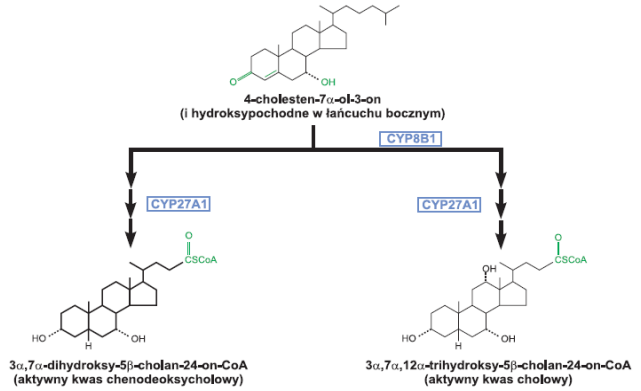
- enzym mikrosomalny
- substratami dla tego enzymu są tylko sterole zawierające grupę 7α-hydroksylową
- brak aktywności tego enzymu hamuję syntezę wszystkich rodzajów kwasów żółciowych

CYP8B1 – 12α-hydroksylaza sterolowa

- enzym wątrobowy
- jego głównym substratem jest 7α-hydroksycholesterol
-przekształca substraty do kwasu cholowego
- aktywność tego enzymu determinuje procentową zawartość poszczególnych pierwszorzędowych kwasów żółciowych
- kwas cholowy jest odpowiedzialny za hamowanie biosyntezy kwasów żółciowych
-kwas cholowy zwiększa rozpuszczalność cholesterolu w żółci (ma związek z powstawaniem kamieni żółciowych)
-brak aktywności tego enzymu prowadzi do powstawania kwasu chenodeoksycholowego

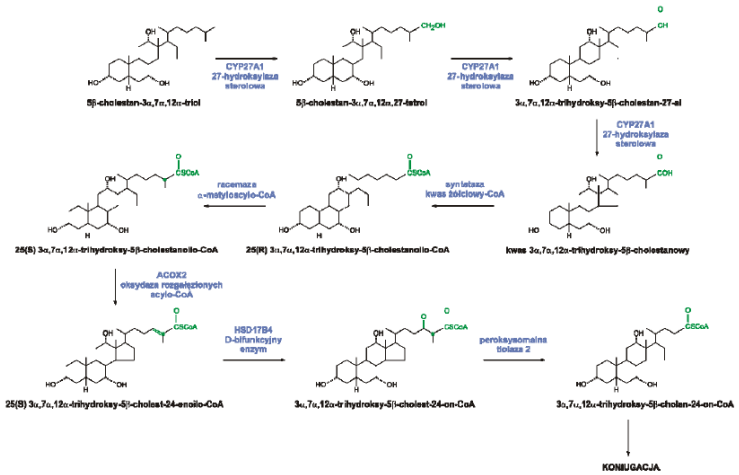
Źródło ryciny wątroby:http#keywordsuggest.orggallery1294305.html

Biosynteza kwasów żółciowych-
UTLENIANIE I SKRACANIE ŁAŃCUCHA BOCZNEGO



Źródło: Areta Hebanowska Mechanizmy regulacji biosyntezy kwasów żółciowych autoregulacyjna rola kwasów żółciowych; Postępy Biochemii 2011, 57 (3); 314-323

Biosynteza kwasów żółciowych-
UTLENIANIE I SKRACANIE ŁAŃCUCHA BOCZNEGO



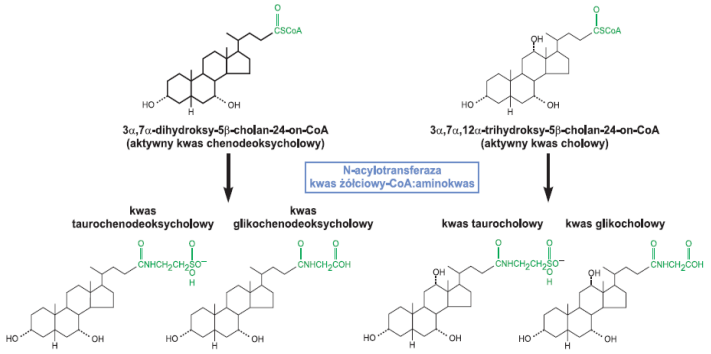
Źródło:A.Hebanowska Biosynteza kwasów żółciowych i jej regulacja. Postępy Hig Med Dosw 2010, 64; 544-554

Biosynteza kwasów żółciowych- KONIUNGACJA

POLEGA NA PRZYŁĄCZANIU WIĄZANIEM AMIDOWYM AMINOKWASU ZWYKLE GLICYNY LUB TAURYNY DO WĘGLA C24 KWASÓW ŻÓŁCIOWYCH

Źródło: Areta Hebanowska Mechanizmy regulacji biosyntezy kwasów żółciowych autoregulacyjna rola kwasów żółciowych; Postępy Biochemii 2011, 57 (3); 314-323

Biosynteza kwasów żółciowych- KONIUGACJA



Źródło: Areta Hebanowska Mechanizmy regulacji biosyntezy kwasów żółciowych autoregulacyjna rola kwasów żółciowych; Postępy Biochemii 2011, 57 (3); 314-323

Biosynteza kwasów żółciowych- KONIUNGACJA

- amidacji ulega 98% kwasów żółciowych wydzielanych przez wątrobę
- przyłączanie glicyny lub tauryny zależy od stężenia tych aminokwasów w komórkach
- od aktywności tioesterazy 2- CoA, hydrolizującej tioestry kwasów żółciowe-CoA do wolnych kwasów żółciowych i CoA, zależy stosunek ilości wolnych kwasów żółciowych do skoniungowanych (tioesteraza współzawodniczy o substrat z N-acetylotransferazą)
- koninugacja prowadzi do zwiększenia ich amfipatyczności i rozpuszczalności co powoduję zmniejszenie ich zdolności do przemieszczenia się przez błony

Regulacja biosyntezy kwasów żółciowych

RECEPTOR JĄDROWY FXR

- główny receptor wiążący kwasy żółciowe

- jest obecny w wielu tkankach lecz głównie w wątrobie, jelicie cienki, nerkach, nadnerczach (co zależy od izoformy receptora: FXRα1-4)

- reguluje aktywność wielu genów poprzez występujący w ich promotorze sekwencje odpowiedzi na ten receptor: - sekwencja AGGTCA w różnych konfiguracjach:
  - IR-1 – odwrócone powtórzenie oddzielone 1 nukleotydem
  - IR-0 – nieoddzielone od siebie odwrócone powtórzenia
  - proste powtórzenia
  - sekwencja rdzeniowa podzielona na 2 części i rozdzielona 8 nukleotydami

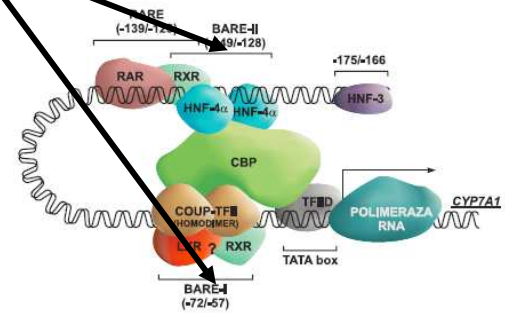
FXR może wiązać się do DNA/regulować aktywność genów:
- jako monomer
- jako heterodimer
- za pośrednictwem innych receptorów jądrowych

Regulacji poprzez FXR podlega wiele genów zaangażowanych w metabolizm komórki:
- metabolizm kwasów żółciowych
- przemiany glukozy
- przemiany lipidów w tym lipoprotein i triacyloglicerolu

Kwasy żółciowe jako główne ligandy FXR mogą więc pośrednio regulować wszystkie wymienione procesy

Struktura promotora genu *CYP7A1*

Elementy odpowiedzi na kwasy żółciowe; zawierają sekwencje odpowiedzi na hormony (HRE)



Regulacja aktywności CYP7A1 – zależna od FXR

KWASY ŻÓŁCIOWE

↓

FXR

Aktywacja SHP
-nie wiąże się z DNA bo nie posiada odpowiedniej domeny wiążącej; oddziałuję z wieloma białkami w tym cz transkrypcyjnymi, koregulatorami transkrypcji, receptor jądrowymi

↓

Tworzy kompleks z HNF-4α uniemożliwiające jego połączenia z innymi koaktywatorami i w tym tych aktywujących CYP7A1

↓

Represja CYP7A1

FGF-19 (czynnik wzrostu fibroblastów)

↓

Wiąże się z receptorem na błonie hepatocyta, aktywuję szlak sygnałowy kinazy MAP

↓

Represja CYP7A1

Aktywacja na poziomie transkrypcji czynnika PPARα, który konkurując z HNF4α o miejsce wiązania w promotorze blokuje indukcję tego genu

↓

Zahamowanie syntezy HNF4α

↓

Zmniejszenie aktywności CYP7A1

Regulacja aktywności CYP7A1 – niezależna od FXR

KWAS LITOCHOLOWY

PXR

-zaangażowany w detoksykację oraz aktywację wydalania kwasów żółciowych

Blokuje oddziaływanie HNF4α z jego aktywatorem PGC1α

↓

Represja CYP7A1

VDR – jądrowy receptor witamin D

-działa podobnie jak PXR
- uniemożliwia połączenie HNF4α z jego aktywatorem PGC1α
-współzawodniczy z HNF4α o miejsce wiązania w promotorze
- współzawodniczy o wiązanie z koaktywatorami ułatwia przyłączanie korepresorów DNA

↓

Represja CYP7A1

Regulacja aktywności CYP7A1 – insulina

Mechanizm regulacji biosyntezy kwasów żółciowych zależy od stężenia insuliny oraz czasu jej działania. Insulina wpływa na aktywność genu CYP7A1 za pośrednictwem czynników transkrypcyjnych: FoxO1; SREBP-1c

Krótkie działanie insuliny w fizjologicznych stężeniach (1,4-14nM)

INSULINA → FoxO1 (jako korepresor transkrypcji) uniemożliwia przyłączenie czynnika PGC1α do HNF4α → ~~Represja CYP7A1~~

→ ~~Karboksykinaza fosfoenolopirogronianowa~~ → ~~glukoneogeneza~~

Regulacja aktywności CYP7A1 – insulina

Długotrwałe działanie insuliny (jak w cukrzycy typu II)

INSULINA → Zwiększona aktywność czynnika/korepresora SREBP-1 → Zahamowanie działanie HNF4α → Zahamowanie biosyntezy kwasów żółciowych

Regulacja aktywności CYP7A1 – glukagon

W stanie głodu nie ma potrzeby syntezy kwasów żółciowych

Wzrost stężenia glukagonu → Poprzez cAMP i kinazę białkową A prowadzi do fosforylacji HNF4α, co prowadzi do zaburzeń funkcji tego czynnika → Zahamowanie biosyntezy kwasów żółciowych

Regulacja aktywności CYP27A1

- najważniejszymi czynnikami regulacyjnymi są kwasy żółciowe i cholesterol
- w promotorze genu CYP27A1 jest sekwencja wiążąca czynnik HNF4α, ale różny niż w CYP7A1
- niezależnie od FXR prawdopodobnie za pośrednictwem cytokin prozapalnych aktywują sygnałową kinazy MAP

Regulacja aktywności CYP8B1

- jest enzymem biorącym udział w produkcji kwasu cholowego
- wpływa na skład puli kwasów żółciowych
- za regulację odpowiadają kwasy żółciowe
- a mechanizm regulacji jest podobny do tego dla CYP7A1

Regulacja koniungacji kwasów żółciowych

Kwasy żółciowe

FXR → FXR + RXR → Ten heterodimer łączy się z FXRE położonym w → Promotorze genu BACS oraz w 1 intronie genu BACS → Aktywacja procesu transkrypcji; przyspieszenie koniungacji kwasów żółciowych

FXR → Aktywacja czynnika PPARα → Zahamowanie koniungacji kwasów żółciowych → Wzrost stężenia kwasów żółciowych w hepatocycie

Krążenie jelitowo-wątrobowe

Spożyty pokarm → cholecystokinina → Pęcherzyk żółciowy → Jelito cienkie → Jelito kręte → Jelito grube → Wątroba → Pęcherzyk żółciowy

95% pierwotnych kwasów żółciowych sprzężonych (kw. cholowy i chenodeoksycholowy) z glicyną i tauryną ulega wchłonięciu i trafia do wątroby a stamtąd do pęcherzyka żółciowego

Kw żółciowe, które nie zostały wchłonięte w jelicie krętym (5%) trafia do jelita grubego, gdzie bakterie jelitowe po dekoniungacji i dehydroksylacji powstają wtórne kwasy żółciowe: kw. deoksycholowy i kw. litocholowy, są one transportowane w biernej dyfuzji

Krążenie jelitowo wątrobowe

JELITO

KOTRANSPORTER Na+/kw.żółciowe (Ntcp)

- przenosi kw żółciowe przy udziale Na więc jego działanie wymaga udziału aktywnej ATPazy NA+/K+
- przenosi zarówno niekoniungowane jak i koniungowane kw żółciowe
- wysokie stężenie kw żółciowych powoduję represje genu Ntcp co ma uniemożliwić napływ dodatkowych cząsteczek kw żółciowego do komórki

Oatp Transporter anionów nieorganicznych

- Przenośnik niezależny od Na
- Przenosi głównie niekoniungowane kw żółciowe, przy jednoczesnym usunięciu z komórki różnego rodzaju anionów czy zredukowanego glutationu
- Jego czynnikiem regulacyjnym są kwasy żółciowe, prawdopodobnie przy udziale HNF1α i HNF4α

Gen Ntcp

- Repesja za pomocą: FXR----RAR/RXR
- Respresja za pomocą cytokin prozapalnych
+ Aktywacja zachodzi w obecności: glukortykoidó, cAMP, Ca, kinazy białkowej C

WĄTROBA

Krążenie jelitowo wątrobowe

WĄTROBA

BSEP (pompa eksportu soli kwasów żółciowych)

- Występuję głównie w wątrobie i jest glikoproteiną P
- Przez błony hepatocytów przenosi głównie koniungowane kwasy żółciowe
- Wykazuję największe powinowactwo do kw. taurochenodeoksycholowego
- W bardzo ograniczonym stopniu transportuje także jony organiczne

MRP2 (białko oporności wielolekowej)

MRP3

- Funkcjonuje pomocniczo w transporcie kw. żółciowych z wątroby do kanalików żółciowych
- Przenosi koniungaty bilirubiny, glutationu, glukuronianu, siarczanu
- Transportuje głównie kwasy taurocholowe i glikolitocholowe
- Regulacja na poziomie transkrypcji

KANALIKI ŻÓŁCIOWE

MRP3

PĘCHERZYK ŻÓŁCIOWY

Kwasy żółciowe, które nie ulegają koniungacji pozostają w hepatocytach, a gdy ich stężenie nadmiernie wzrośnie stają się dla komórki toksyczne i wywołują cholestaze.

Dysfunkcje wątroby u ciężarnych

Powikłania spotykane tylko w ciąży

1) niepowściągliwe wymioty ciężarnych (I trymestr ciąży)

2) cholestaza wewnątrzwątrobowa ciężarnych (druga połowa ciąży, najczęściej III trymestr)

3) stan przedrzucawkowy (preeklampsja) (III trymestr ciąży)

4) zespół HELLP (III trymestr ciąży)

5) ostre ciążowe stłuszczenie wątroby (III trymestr ciąży)

Cholestaza wewnątrzwątrobowa ciężarnych

- najczęstsze schorzenie wątroby związane z ciążą

- druga po WZW najczęstsza przyczyna żółtaczki u ciężarnych

- obecność świądu (pojawia się między 25-32 tyg ciąży; obejmuję dłonie i podeszwy stóp, nasila się w nocy)

- nieprawidłowe wyniki biochemicznych testów funkcji wątroby

- ustępuje po zakończeniu ciąży z tendencją do nawrotów

Patogeneza tej choroby nie została w pełni poznana wskazuje się iż udział w jej rozwoju mogą mieć: czynniki hormonalne (stężenie estrogenu, stężenie progesteronu i jego metabolitów) środowiskowe (pestycydy, niedobór selenu, nadmiar kwasu erukowego) ale także genetyczne.

Wysokie stężenia kwasów żółciowych może obkurczać naczynia kosmówki łożyskowej, a dodatkowo zwiększa wrażliwość mięśni macicy na prostaglandyny.

Cholestaza wewnątrzwątrobowa ciężarnych

Prawdopodobnie mutacje w genach kodujących wątrobowo-żółciowe białka transportowe są związane ze zwiększonym ryzykiem rozwoju tej choroby.

1) MDR3 – odpowiedzialne za przenoszenie fosfatydylocholiny z warstwy wewnętrznej do zewnętrznej błony kanalikowej hepatocytów; tworzy ona z kwasami żółciowymi mieszane micelle zdolne do rozpuszczania cholesterolu i innych lipofilnych składników żółci; mutację w genie prowadzą do utraty tej funkcji a tym samym do zaburzenia uwalniania fosfolipidów przez co niezbuforowane fosfatydylocholiną kwasy żółciowe rozpuszczają lipidowe składniki błon hepatocytów i komórek nabłonka dróg żółciowych prowadząc do ich uszkodzenia

2) BSEP – mutacje w genie kodującym białko odpowiedzialne za funkcjonowanie pompy soli żółciowych

3) F1C1 – mutacje w genie kodującym białko zaangażowane w transport aminofosfolipidów

Cholestaza wewnatrzątrobowa ciężarnych- Badania laboratoryjne

- najbardziej czułym wskaźnikiem laboratoryjnym jest wzrost stężenia całkowitych kwasów żółciowych (tBAs)

Wartość referencyjna: 2-10 mikromoli/l

Stężenie kwasów żółciowych wyższe niż 40 mikromoli/l pozwala rozpoznać ciężką postać Cholestazy wewnątrzwątrobowej ciężarnych

- wyraźniejszy wzrost we krwi i płynie owodniowym stężenia kwasu cholowego (CA) niż kw. chenodeoksycholowego (CDCA) (zwiększony wskaźnik CA/CDCA)

- dodatkowo może wzrasta stężenie AST, ALT, GGTP i bilirubiny
- Pomiar stężenia fosfatazy alkalicznej (ALP) nie jest wiarygodnym testem ponieważ jest produkowana przez łożysko
- Należy pamiętać iż wartości referencyjne aktywności enzymów AST,ALT, GGTP i bilirubiny w surowicy są o 20% niższe dla ciężarnych niż o u kobiet nie będących w ciąży

Dziękuję za uwagę ☺