Rozdział 25

AUTAKOIDY – POCHODNE LIPIDÓW: EIKOZANOIDY I CZYNIK AKTYWUJĄCY PŁYTKI

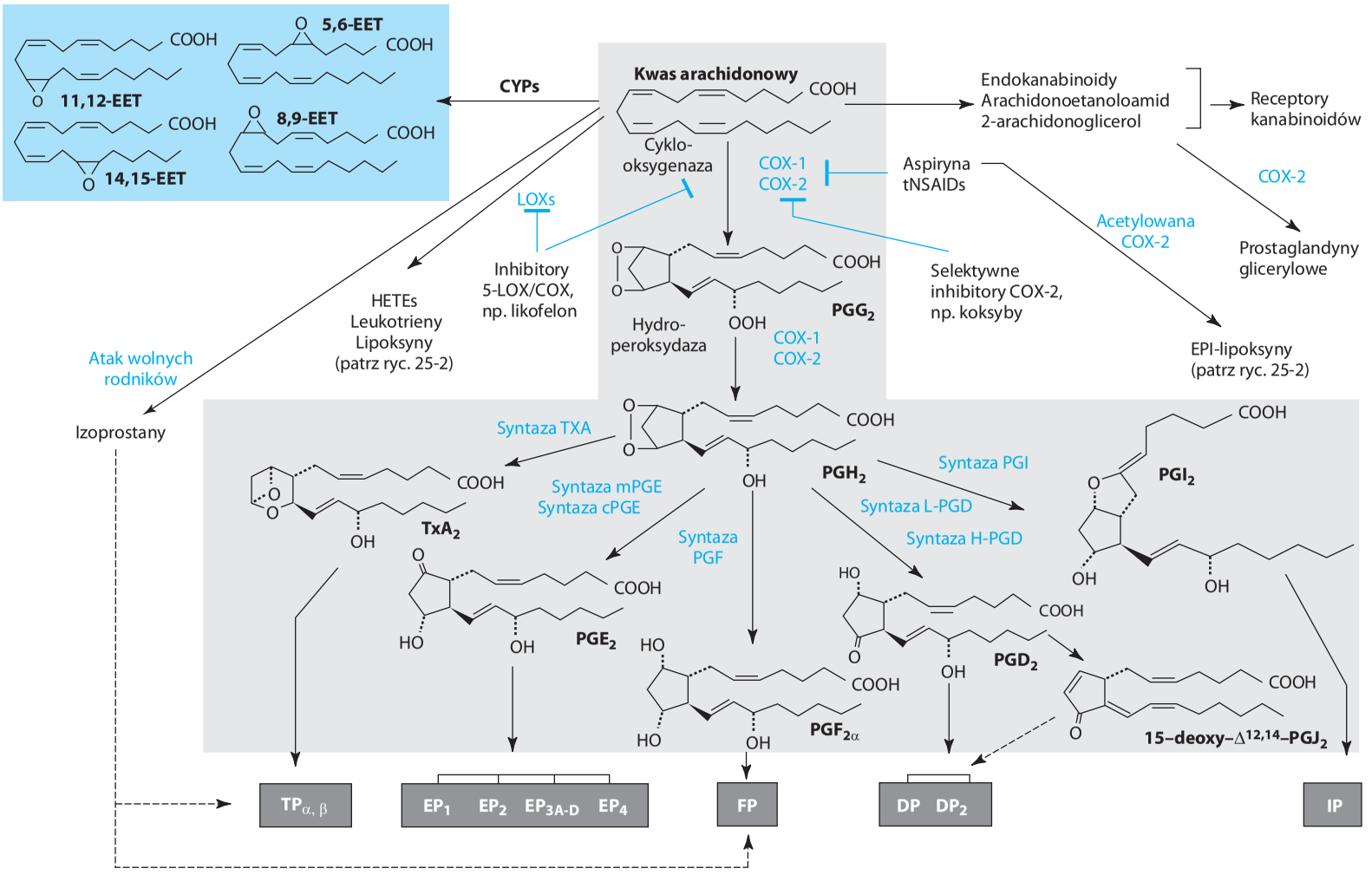
Emer M. Smyth, Anne Burke oraz Garret A. FitzGerald
Tłumaczenie: Iwona Kucharewicz, Anna Bodzenta-Łukaszyk

Lipidy błon komórkowych dostarczają substratu do syntezy eikozanoidów oraz czynnika aktywującego płytki. Eikozanoidy, metabolity kwasu arachidonowego, takie jak prostaglandyny, prostacyklina, tromboksan A_2, leukotrieny, lipoksyny oraz hepoksyliny, nie są magazynowane, ale produkowane przez większość komórek pod wpływem bodźców fizycznych, chemicznych i hormonalnych, które aktywują hydrolazy acylowe, czyniąc kwas arachidonowy dostępnym do syntezy jego metabolitów. Błonowe pochodne glicerolofosfocholiny (*platelet-activating factor* – PAF) są przekształcane enzymatycznie w celu powstania czynnika aktywującego płytki. PAF tworzy się w mniejszej liczbie typów komórek, głównie w leukocytach, płytkach krwi oraz w komórkach śródbłonka. Lipidy eikozanoidów i PAF biorą udział w regulacji procesu zapalnego, napięcia mięśni gładkich, hemostazy, zakrzepicy, porodu oraz wydzielania żołądkowo-jelitowego. Zasadniczy efekt terapeutyczny, polegający na blokadzie tworzenia eikozanoidów, dotyczy wielu klas leków, szczególnie *aspiryny, tradycyjnego niesteroidowego leku przeciwzapalnego* (tNLPZ) oraz specyficznych inhibitorów cyklooksygenazy-2 (*cyclooxygenase-2* – COX-2), takich jak *koksyby*. W celu lepszego zrozumienia potencjału terapeutycznego selektywnych inhibitorów syntezy i działania eikozanoidów zostaną przedstawione synteza, metabolizm oraz mechanizm działania eikozanoidów oraz PAF.

EIKOZANOIDY

Kontekst historyczny. W roku 1930 dwaj amerykańscy ginekolodzy, Kurzrok i Lieb, zaobserwowali, że pasma mięśnia macicy rozszerzają się i kurczą w czasie ekspozycji na nasienie. Następnie Goldblatt w Anglii i von Euler w Szwecji wykazali niezależnie od siebie działanie kurczące mięśnie gładkie i naczynia krwionośne płynu nasiennego i dodatkowo gruczołów płciowych. Von Euler zidentyfikował materiał aktywny jako kwas rozpuszczalny w lipidach, który nazwał *prostaglandyną*, wnioskując, że pochodzi ona z gruczołu krokowego. W 1962 roku Samuelsson, Bergström i ich współpracownicy wyjaśnili strukturę prostaglandyny E_1 (PGE_1) oraz prostaglandyny $F_1\alpha$ ($PGF_1\alpha$). W roku 1964 Bergström i współpracownicy oraz van Dorp i współpracownicy niezależnie dokonali biosyntezy PGE_2 z kwasu arachidonowego, używając homogenatów pęcherzyków nasiennych owcy. W krótkim czasie nastąpiło odkrycie tromboksanu A_2 (TXA_2) i prostacykliny (PGI_2) oraz leukotrienów. Vane, Smith i Willis wykazali, że aspiryna i NLPZ działają przez zahamowanie biosyntezy prostaglandyn (Vane, 1971). Niewątpliwym osiągnięciem tego znakomitego okresu odkryć było przyznanie nagrody Nobla, a otrzymali ją Bergström, Samuelsson oraz Vane w 1982 roku. W 1970 roku von Euler oraz Julius Axelrod i Bernard Katz również otrzymali nagrodę Nobla za odkrycie norepinefryny jako neuroprzekaźnika w układzie współczulnym autonomicznego układu nerwowego.

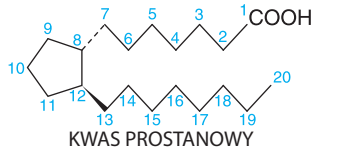
Prostaglandyny (PGs), leukotrieny (LTs) oraz związki pochodne nazwano *eikozanoidami*, z greckiego – *eikosi* („dwadzieścia"). Prekursor, podstawowy kwas tłuszczowy, zawiera 20 atomów węgla oraz trzy, cztery lub pięć podwójnych wiązań: kwas 8,11,14-eikozatrenowy (kwas dihomo-γ-linolenowy), kwas 5,8,11,14-eikozateraenowy [kwas arachidonowy (AA); ryc. 25-1] oraz kwas 5,8,11,14,17-eikozapentaenowy (*eicosapentaenoic acid* – EPA). U ludzi AA, najczęstszy prekursor, pochodzi z dostarczanego z pożywieniem kwasu linolowego (kwas 9,12-octadekadienowy) lub jest dostarczany bezpośrednio jako składnik pożywienia. EPA jest najczęstszym składnikiem oleju z tłustych ryb, takich jak łosoś.

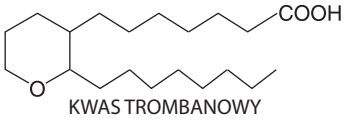


Ryc. 25-1. Metabolizm kwasu arachidonowego. Szlak cyklooksygenzy (*cyklooxygenase* – COX) jest zaznaczony na szaro. Szlak lipooksygenazy (*lipoxygenase* – LOX) jest przedstawiony na rycinie 25-2. Główne szlaki degradacji przedstawia rycina 25-3. Stężenie cyklicznych nadtlenków (PGG_2 i PGH_2) wzrasta na skutek działania na kwas arachidonowy uwalniany z fosfolipidów błonowych kolejno COX-1 lub COX-2 jako cyklooksygenazy i hydroperoksydazy. Kolejne produkty powstają na skutek działania tkankowo specyficznych syntaz, ich efekt jest przetwarzany dzięki receptorom związanym z błoną komórkową (*szare okienka*). Linie przerywane przedstawiają prawdopodobne interakcje ligand-receptor. EETs (*zacienione na niebiesko*) i izoprostanoidy powstają odpowiednio dzięki aktywności CYP oraz nieenzymatycznej reakcji wolnych rodników. COX-2 może działać na endokannabinoid, zmodyfikowany arachidonoglicerol, w celu utworzenia prostaglandyn glicerylowych. Aspiryna i tNLPZs są nieselektywnymi inhibitorami COX-1 i COX-2, ale nie wpływają one na aktywność LOX. Epilipoksyny powstają przy udziale COX-2 po jej acetylacji przez aspirynę (ryc. 25-2). Podwójne inhibitory 5-LOX-COX wpływają na oba szlaki. Objaśnienia innych skrótów – patrz w tekście.

Biosynteza. Biosynteza eikozanoidów jest ograniczona dostępnością substratu i zależy przede wszystkim od uwalniania AA, estryfikowanego w miejscu domeny *sn*-2 fosfolipidów błony komórkowej lub innych kompleksów lipidowych przez enzymy syntetyzujące eikozanoidy, hydrolazy acylowe, szczególnie przez fosfolipazę A_2. Bodźce chemiczne oraz fizyczne aktywują zależną od Ca^{2+} translokację grupy IV cytozolowej PLA_2 ($cPLA_2$), która wykazuje wysokie powinowactwo do AA w błonie komórkowej, gdzie hydrolizuje wiązanie estrowe sn-2 fosfolipidów błonowych (szczególnie fosfatydylocholiny i fosfatydyloetanoloaminy), uwalniając pochodne kwasu arachidonowego. Scharakteryzowano wiele dodatkowych izoform PLA_2 [grupa IIA wydzielnicza (secretory PLA_2; $sPLA_2$), grupa V ($sPLA_2$), grupa VI niezależna od Ca^{2+} (*independent*) ($iPLA_2$) oraz grupa X ($sPLA_2$)]. W podstawowych warunkach, bez pobudzenia, AA uwalniany przez $iPLA_2$ jest ponownie wbudowywany do błony komórkowej, synteza eikozanoidów jest więc wówczas niewielka. $cPLA_2$ dominuje w gwałtownym uwalnianiu AA, indukowalna $sPLA_2$ bierze udział w warunkach przedłużonej lub intensywnej stymulacji produkcji AA. Jeśli dojdzie do uwolnienia AA, jego część jest metabolizowana szybko do utlenianych produktów przez wiele różnych systemów enzymatycznych, włączając *cyklooksygenzay*, *lipooksygenazy* i CYPs.

Produkty syntazy G/H prostaglandyn. Prostaglandyny, prostacyklina i tromboksan, nazywane *prostanoidami*, mogą być uważane za analogi nienaturalnych związków, zwykle nazwanych *kwasem prostanowym* oraz *kwasem trombanowym*. Ich struktury przedstawiono poniżej:





AA jest metabolizowany stopniowo do cyklicznych nadtlenków prostaglandyn G (PGG) oraz H (PGH) (ryc. 25-1) dzięki aktywności cykooksygenazy (COX) i hydroperoksydazy (HOX) G/H syntaz prostaglandyn. Izomerazy i syntazy dokonują transformacji PGH_2 w końcowe prostanoidy wyróżniające się podstawnikami w ich pierścieniu cyklopentanowym.

Prostaglandyny grup E i D są hydroksyketonami, podczas gdy prostaglandyna F_α jest 1,3-diolem (ryc. 25-1). Prostaglandyny A, B i C są nienasyconymi ketonami, które powstają na drodze nieenzymatycznej z PGE podczas procedury ekstrakcji; prawdopodobnie nie występują one biologicznie. PGJ_2 i związki pochodne powstają z dehydratacji PGD_2. Prostacyklina (PGI_2) ma strukturę podwójnego pierścienia; dodatkowo do pierścienia cyklopentanowego drugi pierścień jest tworzony przez mostek tlenowy między węglem 6 i 9. Tromboksany (Txs) zawierają sześcioskładnikowy pierścień tlenku etylenu zamiast pierścienia cyklopentanowego prostaglandyn. Główne klasy dzielą się następnie w zależności od podwójnych wiązań w łańcuchu bocznym, co określa się wskaźnikiem liczbowym. Kwas dihomo-γ-linolenowy jest prekursorem jednej serii, AA – dwóch, a EPA – trzech serii. Prostanoidy pochodzące z AA zawierają indeks dolny 2 i należą do głównych serii u ssaków. Istnieje niewiele dowodów na to, że jedna lub trzy serie prostanoidów są tworzone w ilościach istotnych w normalnych warunkach. Jednak korzyści zdrowotne płynące z dostarczania kwasów ω-3 z pożywieniem pozostają w centrum badań.

Synteza prostanoidów odbywa się etapami poprzez działanie kompleksu enzymów mikrosomalnych. Pierwszym enzymem tej kaskady jest endonadtlenkowa G/H syntaza prostaglandyn, która jest nazwana *cyklooksygenazą* lub COX. Istnieją dwie odmienne izoformy COX – COX-1 oraz COX-2 (Smith i wsp., 1996). Konstytutywna ekspresja COX-1 występuje na większości komórek, ekspresja COX-2 jest zwiększana przez cytokiny, bodźce stresowe oraz czynniki wzrostowe. Uważa się, że COX-1 pomaga w utrzymaniu funkcji, takich jak cytoprotekcja nabłonka żołądkowego (patrz rozdz. 36). COX-2 jest głównym źródłem prostanoidów tworzących się w czasie zapalenia lub w przebiegu nowotworów. To rozróżnienie jest jednak nazbyt dużym uproszczeniem. Istnieją procesy fizjologiczne oraz patofizjologiczne, w których każdy z tych enzymów bierze udział, oraz takie, w których oba te enzymy funkcjonują współrzędnie (patrz Smith i Langenbach, 2001).

Krystaliczna struktura COX-1 i COX-2 jest bardzo podobna, dodatkowo do 61% zgodności sekwencji aminokwasów (FitzGerald i Loll, 2001). Obie izoformy wykazują ekspresję jako dimery homotypowo włączone do endoplazmatycznej błony retikularnej; jej aktywność COX utlenia i cyklizuje niezestryfikowany AA, tworząc PGG_2, a aktywność HOX przekształca PGG_2 do PGH_2 (Smith i Langenbach, 2001). Te chemicznie niestałe związki pośrednie są przekształcane enzymatycznie w prostaglandyny, tromboksan i prostacyklinę przez izomerazy i syntazy, których ekspresja zależy od typu komórki, a większość komórek syntetyzuje jeden lub dwa dominujące prostanoidy. Na przykład, TxA_2 powstający dzięki COX-1 jest dominującym produktem w płytkach krwi, a PGE_2 i TxA_2 powstające przy udziale COX-2 są dominującymi produktami w aktywowanych makrofagach. Sklonowano dwie klasy syntaz PGE. Mikrosomalne syntazy PGE 1 i 2 są zlokalizowane blisko COX-2. W niektórych, ale nie we wszystkich tkankach, mogą one być indukowane przez cytokiny oraz substancje pronowotworowe. Podobnie, cytozolowa syntaza PGE znajduje się blisko COX-1 i może odgrywać istotną rolę w konstytutywnym tworzeniu PGE_2. Zidentyfikowano dwie formy syntazy PGD i syntazy PGF. W hetrologicznym systemie ekspresji COX-1 wiąże się preferencyjnie z syntazą TxA_2 oraz PGF, podczas gdy COX-2 preferuje syntazę PGI_2 (Smyth i FitzGerald, 2003).

Prostanoidy są uwalniane z komórek przeważnie poprzez ułatwiony transport przez przenośnik prostaglandynowy oraz prawdopodobnie przez inne przenośniki (patrz: Schuster, 2002).

Produkty lipooksygenazy. Lipooksygenazy (*lipoxygenases* – LOXs) należą do rodziny enzymów niehemowych zawierających żelazo, które katalizują utlenianie polienowych kwasów tłuszczowych do odpowiednich hydronadtlenków lipidowych (patrz Brash, 1999). Enzymy te wymagają jako substratu kwasu tłuszczowego z dwoma podwójnymi wiązaniami cis oddzielonymi grupą metylenową. AA, który zawiera wiele podwójnych wiązań w swojej konfiguracji, jest metabolizowany do kwasów hydroperoksyeikozatetraenowego (*hydroperoxy eicosatetraenoic acid* – HPETEs), który różni się miejscem przyłączenia grupy hydroperoksy. Podobnie jak PGG_2 i PGH_2, te nietrwałe metabolity, normalnie z chiralnością S, są dalej przekształcane przez różne enzymy. HPETEs są modyfikowane do odpowiednich kwasów hydroksytłuszczowych (kwas hydroksyeikozatetraenowy; *hydroxyeicosatetraenoic acid* – HETE) na drodze nieenzymatycznej lub przez peroksydazę.

U ludzi istnieje 5 aktywnych form lipooksygenazy: 5-LOX, 12(*S*)-LOX, 12(*R*)-LOX, 15-LOX-1 i 15-LOX-2, które zostały