

Mila Hattunen

# KÄÄNTEINEN KOLESTEROLIN KULJETUS

# TIIVISTELMÄ

Mila Hattunen: Käänteinen kolesterolin kuljetus

Kandidaatintutkielma

Tampereen yliopisto

Bioteknologian tutkinto-ohjelma, luonnontieteiden kandidaatin tutkinto

Huhtikuu 2020

---

Tässä työssä käsitellään käänteistä kolesterolin kuljetusta ja sen vaikutusta elimistön toimintaan. Työn lähtökohtana on käsitys siitä, että kaikki elimistön solut eivät kykene valmistamaan kolesterolia itse, vaan ovat kolesterolin kierrätyksen varassa. Työn tavoitteena on selvittää käänteisen kolesterolin kuljetuksen vaiheita sekä tärkeitä tekijöitä reitin varrella. Lisäksi työssä esitellään eri tapoja tutkia käänteistä kolesterolin kuljetusta ja eri sairauksia, joita on yhdistetty reitin toimimattomuuteen. Lisäksi työn tavoitteena on perustella, minkä takia käänteistä kolesterolin kuljetusreittiä kannattaa tutkia, ja miksi reitin oikeanlainen toiminta on tärkeää ihmiselle.

Käänteinen kolesterolin kuljetus on elimistön kolesterolin homeostasiaa säätelevä aineenvaihdunta-reitti. Käänteinen kolesterolin kuljetus tarkoittaa kolesterolin kulkeutumista perifeerisiltä kudoksilta maksaan. Käänteinen kolesterolin kuljetus sisältää eri vaiheita ja tekijöitä kuljetuksen onnistumiseksi. Aluksi kolesterolia siirryy perifeerisistä kudoksista makrofagien kautta HDL-partikkeliksi. HDL tai jokin toinen lipoproteiini, kuten LDL, kuljettaa kolesterolin verenkierron mukana maksaan. Maksassa tapahtuvat loppureaktiot, joissa kolesterolia käsitellään ja ylimääräinen kolesterolia poistetaan ulosteen mukana. Osa kolesterolista palautetaan takaisin elimistöön, esimerkiksi sappinesteen mukana.

Käänteistä kolesterolin kuljetusta tutkitaan ihmisillä ja koe-eläimillä. Esimerkiksi lämpötila ja liikunta vaikuttavat siihen, kuinka kolesterolia käsitellään elimistössä. Lisäksi tietyt taudit, kuten Tangierin tauti ja toimimaton HDL, aiheuttavat ongelmia kolesterolin kulkeutumisessa. Näitä tauteja on pyritty tutkimaan ja selvittämään, kuinka käänteistä kolesterolin kuljetusta voitaisiin tehostaa, jotta kolesterolia ei kertyisi elimistöön liikaa. Vaikka käänteistä kolesterolin kuljetusta on tutkittu yli 50 vuotta, on silti vielä paljon selvitettävää. Tutkimusta tarvitaan esimerkiksi kolesterolin varastomuodon selvittämiseen makrofagissa ja siihen, kuinka maksan reaktiot tarkalleen tapahtuvat.

Työssä todetaan, että käänteinen kolesterolin kuljetus on tärkeä osa valtimonkovettumataudin kehitystä, sillä liiallisesta kolesterolin kertymisestä kudoksiin tai suoniin seuraa valtimonkovettumatauti. On löydetty, että kolesterolin kulkeutuminen käänteisen kolesterolin kuljetuksen avulla vähentää riskiä sairastua sydän- ja verisuonitauteihin, kuten valtimonkovettumatautiin. Lisäksi todetaan, että muitakin sairauksia voidaan yhdistää toimimattomaan käänteisen kolesterolin kuljetukseen. Tämän takia on tärkeää tutkia käänteisestä kolesterolin kuljetusta. Työssä pohditaan, voisiko käänteisen kolesterolin kuljetusreitin tehostaminen olla keino parantaa sydän- ja verisuonitautia.

Avainsanat: kolesterolia, HDL, lipoproteiini, aineenvaihdunta, makrofagi, valtimonkovettumatauti

Tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck –ohjelmalla.

# SISÄLLYSLUETTELO

1. JOHDANTO.....	3
2. KÄÄNTEINEN KOLESTEROLIN KULJETUS .....	4
2.1. HDL ja sen rooli käänteisessä kolesterolin kuljetuksessa .....	4
2.2. Makrofagi ja sen rooli käänteisessä kolesterolin kuljetuksessa .....	5
2.3. Käänteisen kolesterolin kuljetuksen vaiheet .....	5
2.4. LXR ja sen rooli käänteisessä kolesterolin kuljetuksessa.....	9
3. KÄÄNTEISEN KOLESTEROLIN KULJETUKSEN TUTKIMINEN JA SAIRAUDET .....	10
3.1. Käänteisen kolesterolin kuljetuksen tutkiminen ihmisillä ja hiirillä .....	10
3.2. Käänteiseen kolesterolin kuljetukseen liittyvät sairaudet .....	11
3.3. Urheilun vaikutus käänteiseen kolesterolin kuljetukseen ja kolesterolitasoihin.....	14
3.4. Tulevaisuuden tutkimuksessa .....	15
4. YHTEENVETO.....	16
5. LÄHTEET.....	18

# 1. JOHDANTO

Osa elimistön soluista kykenee valmistamaan kolesterolia. Osa elimistön soluista ovat puolestaan kolesterolin kierrätyksen varassa, sillä kyseiset solut eivät pysty syntetisoimaan kolesterolia itse, mutta tarvitsevat sitä silti. Tämän takia kolesterolia täytyy pystyä kuljettamaan elimistössä. Kolesterolia saadaan myös ravinnosta ja tätäkin kolesterolia täytyy kierrättää elimistössä. Kolesterolia kuuluu steroleihin, jotka ovat monimuotoinen ryhmä steroidialkoholeja. Kolesterolia tarvitaan esimerkiksi eläinsolujen solukalvojen komponenteiksi ja osa soluista esimerkiksi lisämunaisten solut pystyvät käyttämään kolesterolia muodostaen hormoneja, jotka toimivat viestimolekyyleinä elimistössä. Kolesterolia vaikuttaa eläinsolujen solukalvojen nestemäisyyteen ja liikkuvuuteen. Kolesterolia ei kuitenkaan saa kertyä liikaa elimistöön ja tähän kierrätystyöhön tarvitaan useassa tapauksessa erillinen reitti, käänteinen kolesterolin kuljetus (reverse cholesterol transport) (Rosenson ym. 2012, Trapani ym. 2012). Käänteinen kolesterolin kuljetus on aineenvaihduntareitti, jossa kolesterolia kuljetetaan perifeerisiltä kudoksilta maksaan ja uudelleen käytettäväksi elimistössä tai poistettavaksi kokonaan (Hellerstein ja Turner 2014).

Käänteistä kolesterolin kuljetusta tarvitaan tärkeäksi osaksi elimistön homeostaasin ylläpitoa, sillä kyseinen reitti säätelee kolesterolin määrää ja kolesterolitasapainoa kehossa. Ilman toimivaa kolesterolin kierrätysjärjestelmää, kolesterolia kertyisi elimistöön (hyperkolesterolemia) ja seurauksena ilmenisi erilaisia tauteja, kuten Tangierin tauti (Tall ja Wang, 2000, Trapani ym. 2012). Lisäksi liian suuri kolesterolin määrä on yhdistetty sydän- ja verisuonitauteihin, kuten sepelvaltimotautiin ja ateroskleroosiin (valtimonkovettumatauti, valtimotauti) (Fisher ym. 2012). Näistä sairauksista saattaa seurata vieläkin vakavampia ongelmia, kuten sydäninfarkti.

Käänteisen kolesterolin kuljetuksen esitteli maailmalle John A. Glomset vuonna 1968 (Glomset 1968). Glomset tutki kolesterolin virtausta elimistössä ja kehitti teorian, jonka mukaan kolesterolia kuljetaan elimistön läpi maksaan esteröitymisreaktion avulla (Glomset 1968). Vaikka peruskäsitys reitin toiminnasta on muuttunut vähän, on silti löydetty tarkat reseptorit, kuljettimet ja muut tekijät, jotka auttavat kolesterolia kulkeutumaan perifeerisiltä kudoksilta maksaan (Rosenson ym. 2012). Kuitenkin vielä on paljon selvitettävää esimerkiksi siitä, mitkä vaiheet käänteisessä kolesterolin kuljetuksessa ovat tärkeimpiä sydän- ja verisuonitautien kannalta (Hellerstein ja Turner 2014). Käänteinen kolesterolin kuljetus tapahtuu kaikissa perifeerisissä kudoksissa, ja tämän takia kyseistä reittiä on pidetty ja mitattu tavallisen perifeerisen prosessin tavoin.

Lipoproteiinit ovat rakenteeltaan monimutkaisia lipidejä ja proteiineja sisältäviä partikkeleita, jotka kykenevät kuljettamaan lipidejä eli rasvoja, kuten kolesterolia. Lipoproteiinit ovat olleet tutkimuksen kohteena jo pitkään ja löydetty tieto ei ole juurikaan muuttunut ajan saatossa. Lipoproteiineilla on hydrofobinen pinta, joka sisältää triaglyseroleja sekä esteröityneitä ja ei-esteröityneitä kolesteroleja

sekä apolipoproteiineja. Proteiinosaa lipoproteiineista kutsutaan apolipoproteiiniksi (Shilpasree ym. 2013). Yleisin apolipoproteiini ihmisen plasmassa on apolipoproteiini A1 (ApoA-1) (Fisher ym. 2012). Rakenteen oikeellisuus on tärkeää lipoproteiinin toiminnan kannalta ja rakenteen vääränlainen muutos voi johtaa eri tauteihin, kuten diabetekseen ja sydänsairauksiin (Shilpasree ym. 2013).

## 2. KÄÄNTEINEN KOLESTEROLIN KULJETUS

### 2.1. HDL ja sen rooli käänteisessä kolesterolin kuljetuksessa

HDL (human high-density lipoprotein), puheessa viitataan usein ”hyvään kolesteroliin”, on heterogeeninen kokoelema lipoproteiineja. HDL:n tiheys vaihtelee 1.063 g/mL ja 1.21 g/mL välillä (Fisher ym. 2012). Ultrasentrifuugi laitteella pystytään erottelamaan eri tiheykselliset HDL-partikkelit toisistaan ja tutkimaan näitä. HDL sisältää rasva-aineista pääsääntöisesti kolesterolia ja suurin osa HDL-partikkeleista sisältää apolipoproteiini A-1:tä. (Fisher ym. 2012). Monet HDL-partikkelit sisältävät myös apolipoproteiini A-2:ta (apoA-2) (Fisher ym. 2012). Monia muita proteiineja löytyy yhdistyneenä HDL-partikkeliin, mutta pienemmässä määrin. Proteiinien monimuotoisuus on suuri HDL-partikkeleissa (Fisher ym. 2012).

HDL kykenee läpäisemään valtimon seinämän pienen kokonsa vuoksi ja keräämään kolesterolia itseensä valtimon seinämistä. Tämä tapahtuu makrofagien avustuksella, kun makrofagit ottavat LDL:ää (low density lipoprotein) sisäänsä muodostaen vaahtosoluja (Insull 2009). HDL siis kerää kolesterolia vaahtosoluilta. Kuitenkin osa kolesterolista jää vaahtosoluihin (Insull 2009). Se osa kolesterolista, mitä HDL ei kerää vaahtosoluilta, jää suonten seinämiin muodostaen valtimon seinään kolesteroliytimen, ns. aterooman (Insull 2009). Tarkalleen aterooma koostuu kolesterolista ja kuolleista vaahtosoluista (Insull 2009). Näin ateroskleroosi eli valtimonkovettumatauti syntyy.

Ateroskleroosin syntyyn vaikuttaa ikä, sillä iän myötä valtimoiden sisin kerros, intima, alkaa paksuuntumaan sinne kertyvien sileälihassolujen vuoksi (Insull 2009). Kertyneet sileälihassolut erittävät soluväliaineita, johon LDL tarttuu (Insull 2009). Solut ottavat sisäänsä vain tietyn määrän LDL:ää ja loput intiman LDL:stä muuttuu, esimerkiksi hapettumalla, ja muuttunut LDL otetaan jätereseptorien kautta makrofageihin, joista tulee vaahtosoluja (Insull 2009). Ateroskleroosin seurauksena valtimot eivät enää jousta, jolloin verenpaine nousee.

Ennen myös HDL:n korkea määrä yhdistettiin kohonneeseen valtimotaudin sairastumisriskiin, mutta nykytutkimusten mukaan HDL:n roolia on mietitty uudelta kannalta (Fisher ym. 2012). Tämä johtuu siitä, että käänteinen kolesterolin kuljetusreitti löydettiin (Fisher ym. 2012). Käänteisessä kolesterolin kuljetuksessa HDL kuljettaa kolesterolia pois suonista kovettamasta niitä. Tämän reaktioreitin onnistumiseksi, kolesterolin on muodostettava täydellinen HDL-partikkeli. HDL:n avulla kolesteroli pääsee kulkeutumaan maksaan, jossa kolesteroli uudelleen käsitellään. Näiden ominaisuuksien takia HDL on yksi käänteisen kolesterolin kuljetuksen pääkomponenteista.

## 2.2. Makrofagi ja sen rooli käänteisessä kolesterolin kuljetuksessa

Kolesterolin virtaus makrofagiin on ensimmäinen käänteisen kolesterolin kuljetuksen vaihe, ja sen on sanottu olevan myös mahdollisesti tärkein vaihe (Cuchel ja Rader 2006). Tärkeyttä perustellaan sillä, että käänteisen kolesterolin kuljetuksen tutkiminen tässä vaiheessa on suhteellisen helppoa (Cuchel ja Rader 2006). Erityisesti ateroskleroosiin liittyviä kysymyksiä pystytään ratkomaan makrofageja tutkimalla (Cuchel ja Rader 2006). Käänteisessä kolesterolin kuljetuksessa makrofagit ottavat sisäänsä fagosytoosilla kuolleita soluja, jotka sisältävät paljon kolesterolia (Cuchel ja Rader 2006). Näin kolesterolia siirtyy kudoksista makrofageihin muodostaen vaahtosoluja. On tutkittu, että makrofagit ovat soluja, jotka ottavat kolmanneksi eniten kolesterolia sisäänsä per solu (Cuchel ja Rader 2006). Vain maksan solu ja suolen absorboiva solu pystyy ottamaan enemmän kolesterolia sisäänsä (Cuchel ja Rader 2006).

Vapaa kolesterolia (free cholesterol, FC) on vaarallista makrofagille, joten makrofagin on muutettava kolesterolin muotoa sisäänoton yhteydessä (Cuchel ja Rader 2006). Tämä muutos tehdään esteröitymisreaktiolla. Kolesterolia esteröidään kolesteroliesteriksi Asetyyli-KoA asetyyli-transferaasi-1 (Acetyl-CoA acetyltransferase 1, ACAT1) avulla (Cuchel ja Rader 2006). Kolesteroliesteri on hydrofobinen ja varastoituu lipidipisaroina makrofagin sytoplasmassa (Cuchel ja Rader 2006). Tietyissä tilanteissa kolesteroliesteri pitää palauttaa takaisin vapaaksi kolesteroliksi ja tämä tapahtuu tietyn entsyymin avulla (Annema ja Tjetge, 2012).

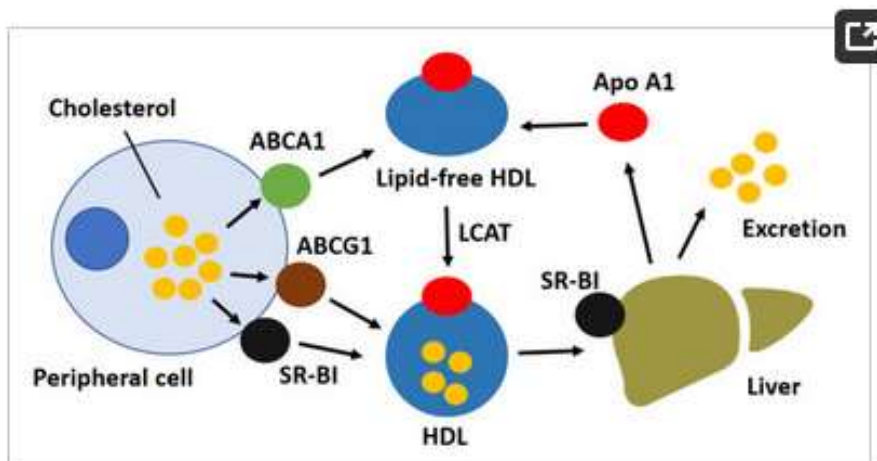
Kaikki kolesterolin liike kudoksista, esimerkiksi maksasta tai suonista, ei vähennä riskiä sairastua valtimotautiin, mutta tällainen makrofagin kautta tapahtuva vaahtosolun muodostuminen vähentää riskiä sairastua ateroskleroosiin (Cuchel ja Rader 2006). Tämä osoittaa myös sen, että kaikki kolesterolin liike ei ole osa käänteistä kolesterolin kuljetusta, vaan pelkästään perifeerisiltä kudoksilta maksaan tapahtuva kuljetusreitti tarkoittaa käänteistä kolesterolin kuljetusta (Cuchel ja Rader 2006). Todellisuudessa, vain pieni osa kolesterolin liikkeestä tapahtuu makrofagien kautta, mutta tämä on tärkein osa taistelussa valtimonkovettumistautia vastaan (Cuchel ja Rader 2006). Kuitenkin eräät tutkimukset ovat osoittaneet, että perifeerinen ei-makrofagien kautta tapahtuvaa kolesterolin virtaus saattaa epäsuorasti vaikuttaa ateroskleroosin synnyn pienenemiseen (Gillard ym. 2018). Tämä perustuu siihen, että HDL pystyy keräämään kolesterolia muutenkin kuin vain vaahtosoluilta ja tämä HDL pystyy kulkeutumaan myös maksaan, jossa kolesterolia uudelleen käsitellään (Gillard ym. 2018).

## 2.3. Käänteisen kolesterolin kuljetuksen vaiheet

Käänteinen kolesterolin kuljetus on monivaiheinen reitti, jossa jokaista vaihetta säätelee omat tekijät. Kuvassa 1 on esitetty yksinkertaistettu versio käänteisestä kolesterolin kulkeutumisesta ja käänte-

seen kolesterolin kuljetukseen liittyviä keskeisiä tekijöitä (Liao ja McLachlan 2018). Yleensä käänteinen kolesterolin kuljetusreitti jaetaan kolmeen vaiheeseen (Hellerstein ja Turner 2014). Ensimmäinen vaihe sisältää kolesterolin siirron perifeerisiltä kudoksilta HDL-partikkeleiksi (Liao ja McLachlan 2018). Tämä vaihe sisältää myös kolesterolin kuljetuksen verisuonissa HDL-partikkelina tai muina lipoproteiininina (Hellerstein ja Turner 2014). Kuvassa 1 on esitetty tätä vaihetta auttavia tekijöitä, kuten ATP:tä sitova tekijä A1 (ATP Binding Cassette A1, ABCA1), ATP:tä sitova tekijä G1 (ATP Binding Cassette G1, ABCG1), Scavenger reseptori luokka B tyyppi 1 (Scavenger receptor class B type 1, SR-B1) ja lesitiini kolesteroli asyyli transferaasi (lecithin-cholesterol acyltransferase, LCAT) (Liao ja McLachlan 2018).

Seuraava vaihe sisältää kolesterolin pääsyn maksaan joko HDL-partikkelin kautta tai LDL-partikkelin sisällä (Hellerstein ja Turner 2014). Kuvassa 1 tämä vaihe on kuvattu HDL-partikkelista lähtevänä nuolena ja maksan SR-B1 reseptorin avulla (Liao ja McLachlan 2018). Viimeinen vaihe eli eritysvaihe tarkoittaa kolesterolin poistoa kehosta (Hellerstein ja Turner 2014). Eritysvaiheessa maksa muokkaa kolesterolin eritettävään muotoon (Hellerstein ja Turner 2014). Kolmas vaihe tapahtuu siis maksassa kuten kuvassa 1 on havainnollistettu (Liao ja McLachlan 2018).



**Kuva 1.** Yksinkertaistettu kuva käänteisen kolesterolin kuljetuksen vaiheista ja keskeisistä tekijöistä reitin varrella. Käänteinen kolesterolin kuljetus on aineenvaihdunta reitti, jossa kolesteroli kuljetetaan perifeerisiltä kudoksilta maksaan. Apolipoproteiini A1 (Apo-A1) auttaa vapaan kolesterolin perifeerisiltä kudoksilta HDL-partikkeliksi ATP:tä sitovan tekijän A1 (ATP Binding Cassette A1, ABCA1) kautta. Lesitiini kolesteroli asyyli transferaasi (lecithin-cholesterol acyltransferase, LCAT) esteröi vapaan kolesterolin muodostaen kypsän HDL-partikkelin. Kuljetus suoraan kypsäksi HDL-partikkeliksi tapahtuu ATP:tä sitovan tekijän G1 (ATP Binding Cassette G1, ABCG1) tai Scavenger reseptori luokka B tyyppi 1 (Scavenger receptor class B type 1, SR-B1) avulla. HDL kulkeutuu verenkierrassa maksan lähettyville ja SR-B1 reseptori siirtää kolesterolin maksaan, jonka jälkeen maksa erittää kolesterolin sappinesteeseen. (Liao ja McLachlan 2018)

Käänteisen kolesterolin kuljetuksen pääkomponentteina ovat makrofagit ja HDL-lipoproteiinit, mutta reitin toimimiseksi tarvitaan monia muitakin tekijöitä. Esimerkiksi tarvitaan entsyymejä katalysoimaan eri reaktioita ja reseptoreja kolesterolille, jotta kolesterolia voi kulkeutua elimistön osista toisiin (Cuchel ja Rader 2006). Kuten aiemmin kerrottu, ensimmäisenä vaiheena käänteisessä kolesterolin kuljetuksessa on kolesterolin siirtyminen perifeerisiltä kudoksilta makrofagiin (Cuchel ja Rader 2006). Kuten mainittu kolesterolia muutetaan kolesteroliesteriksi makrofagissa (Cuchel ja Rader 2006). Puolestaan, kun kolesterolia siirretään myöhemmin pois makrofagista, sen täytyy muuttua uudelleen muotoon. Kolesterolia pystytään siirtämään makrofagista vain ei-esteröityneessä muodossa eli vapaana kolesterolina (free cholesterol, FC), ei kolesteroliesterinä (Annema ja Tjetge, 2012). Tämän takia kolesteroliesterit tulevat muuttamaan sopivampaan muotoon kuten vapaaksi kolesteroliksi. Tätä muutosta katalysoi kolesteroliesterihydrolaasi (cholesterol ester hydrolase, nCEH) (Annema ja Tjetge, 2012).

Kun kolesterolia siirtyy makrofagiin, kolesterolia hapetetaan eli muodostetaan oksysteroleja (oxysterols) (Rader 2006, Rosenson ym. 2012). Nämä hapettuneet sterolit aktivoivat transkriptiofaktorin nimeltä maksan X tekijä (liver X factor, LXR) (Rosenson ym. 2012). LXR lisää ABCA1:en ja ABCG1:en tuottoa ja ilmenemistä makrofagissa (Rosenson ym. 2012). ABCA1 ja ABCG1 proteiineja tuotetaan lisää makrofagin solukalvolle, joten niiden määrä solukalvolla kasvaa LXR:n vaikutuksesta. ABCA1 ja ABCG1 ovat solukalvolla sijaitsevia kolesterolin kuljettimia (Rader 2006, Rosenson ym. 2012). Näistä kahdesta kuljettimesta, ensiksi löydettiin ABCA1 ja myöhemmin vasta ABCG1 (Cuchel ja Rader 2006).

ABCA1 ja ABCG1 toimivat makrofagin solukalvolla kuljettaen kolesterolia makrofagista HDL-lipoproteiineiksi eli niin sanotuksi HDL-C-partikkeliksi. Kuten mainittu, kolesteroliesterit on muutettu toiseen muotoon, kuten vapaaksi kolesteroliksi, kun kolesterolia siirretään pois makrofageista (Annema ja Tjetge, 2012). ABCA1 ja ABCG1 kuljettimilla on eriävä reitti kolesterolin kuljetukselle makrofagista HDL-C-partikkeliksi (Rosenson ym. 2012). ABCA1 kuljettimen kautta kolesterolin liittyessä HDL-partikkeliin syntyy epäkypsä kiekkomainen HDL-partikkeli (nascent HDL, pre-HDL-C). Pre-HDL-C syntyy, kun elimistön valmistama ApoA-1 kulkeutuu kolesterolia sisältävän makrofagin lähelle ja reagoi makrofagin ABCA1 kuljettimien kautta muodostaen pre-HDL-C-partikkelin (Rosenson ym. 2012). Kiekkomaisiin HDL-partikkeleihin siirtyy kudoksista vapaata kolesterolia ja fosfolipidiä (phospholipids, PL) solujen pinnan ABCA1 kuljettimien avulla (Rosenson ym. 2012). ABCA1 kuljettimet käyttävät ATP:n hydrolyysistä saatavaa energiaa ja tämän energian avulla kiekkomainen HDL ottaa vastaan kolesterolia ja fosfolipidejä soluista (Rosenson ym. 2012). Tätä kutsutaan kolesterolin virtaukseksi (cholesterol efflux) (Rosenson ym. 2012).



Kypsan, pyöreän HDL-partikkelin muodostuksessa tarvitaan kofaktoriksi LCAT, joka on tärkeä osa käänteisen kolesterolin kuljetuksen etenemistä (Fisher ym. 2012). ApoA-1 aktivoi LCAT:in toimimaan (Rosenson ym. 2012). LCAT:in katalysoimana HDL:n vapaa kolesterolia esteröityy ja siirtyy HDL:n ytimeen, jolloin HDL pyöristyy ja kasvaa (Fisher ym. 2012). Vähitellen kiekkomainen HDL muuttuu pyöreäksi HDL3:ksi, jossa kolesterolia on HDL-partikkelin ytimessä (Rosenson ym. 2012). Näin ollen HDL:n pinnan kolesterolia ja fosfolipidi pitoisuus pienenee ja pyöreä HDL-partikkeli pystyy ottamaan lisää solujen vapaata kolesterolia itseensä ABCG1 kuljettimien välityksellä (Fisher ym. 2012). Puolestaan ABCG1 kuljettimen kautta kolesterolista ja HDL:stä muodostuu suoraan kypsä HDL-lipoproteiini (Fisher ym. 2012). Lopputulos on kuitenkin sama eli ABCA1 kuljettimen kautta tapahtuva pre-HDL-C muodostusta seuraa kypsyminen eli pre-HDL-C kypsyy kypsäksi, pyöreäksi HDL-partikkeliksi (Rosenson ym. 2012). Myös SR-B1 pystyy siirtämään kolesterolia perifeerisiltä kudoksilta kypsäksi HDL-partikkeliksi (Liao ja McLachlan 2018).

Nyt kolesterolia on kulkeutunut perifeeriseltä kudokselta makrofagin kautta verenkiertoon kypsän HDL-C-partikkelin avulla. Verenkierron kautta HDL siirtyy maksan lähelle. Kolesterolin on päästävä HDL-partikkelista maksaan. Tässäkin vaiheessa on kaksi mahdollista reittiä: suora ja epäsuora (Rader 2006). Suorassa tapauksessa HDL-C luovuttaa kolesteroliesterit SR-B1 reseptorien läpi maksaan (Rader 2006). SR-B1 toimii reseptorina kolesterolille ja niitä ilmenee eri kudoksissa, jonne kolesterolia täytyy kuljettaa HDL:n avulla (Rader 2006). HDL jää verenkiertoon ilman kolesteroliesteriä ja hepaattinen lipaasi (hepatic lipase, HL) pilkkoo triglyseridejä, jolloin HDL3 muodostuu uudelleen (Gillard ym. 2018). Kolesteroliesterit siirtyvät maksaan jatkokäsittelyä varten (Rader 2006).

Epäsuora reitti kolesterolin kulkeutumiselle maksaan tapahtuu niin, että HDL:n ytimen kolesteroliesteri siirtyy lipoproteiineihin, kuten LDL:ään ja VLDL:ään (Rosenson ym. 2012). Tätä reittiä katalysoi kolesterolia esteröivä proteiini (cholesterylester transfer protein, CETP), joka on verenkierrossa oleva siirtäjäproteiini (Rosenson ym. 2012). CETP:n tehtävänä on kuljettaa kolesteroliesteriä LDL:ään ja muihin lipoproteiineihin ja vastaavasti triglyseridejä HDL:ään. Kun HDL:stä häviää kolesteroliesteriä, HDL-partikkeli muuttuu kevyemmäksi HDL2 partikkeliksi (Rosenson ym. 2012). Lopulta VLDL ja LDL kulkeutuvat maksan lähettyville ja reseptorin avulla maksaan (Rader 2006). Tässä tapauksessa reseptorina toimii LDL reseptori (low density lipoprotein receptor, LDLR), joka SR-B1 reseptorin toiminnasta eroten ottaa sisään koko lipoproteiinin, ei vain sen kuljettamaa kolesterolia (Rader 2006). Lopputulos on kuitenkin sama eli maksan solujen kolesterolipitoisuus nousee.

Kun kolesterolia on päätyttyä maksaan, tapahtuu kolesterolin loppumuokkaus. Maksaa on kutsuttu kolesterolin käsittelyn voimalaitokseksi, jossa tapahtuu suurin osa kolesterolin muokkauksesta (Tapani ym. 2012). Ennen kuin HDL:n avulla kuljetettu kolesteroliesteri pääsee erittymään sappinesteseen, kolesteroliesterin täytyy hydrolysoitua muodostaen vapaata kolesterolia (Annema ja Tjetge 2012). Reaktiota katalysoi kolesteroliesterihydrolaasi (Annema ja Tjetge 2012). Kolesterolia voidaan

erittää suoraan sappinesteeseen ja lisäksi maksassa voidaan muodostaa pienestä osasta kolesterolia sappinesteen sappihappoja (Annema ja Tjetge 2012). Suora kolesterolin kuljetus sappinesteeseen tapahtuu ATP:tä sitovan tekijän alaluokka G osa 5 (ATP-binding cassette sub-family G member 5, ABCG5) ja ATP:tä sitovan tekijän alaluokka G osa 8 (ATP-binding cassette sub-family G member 8, ABCG8) heterodimeerien sekä kolesterolia sitovan Niemann-Pick C2 proteiinin (cholesterol-binding protein Niemann-Pick C2, NPC2) avulla (Annema ja Tjetge 2012).

Osa muodostuneesta sappinesteestä palaa takaisin elimistöön ja ylimäärä poistuu ulosteen mukana (Annema ja Tjetge 2012). Sappinestettä tarvitaan elimistössä erinäisiin tehtäviin. Sappinestettä on esimerkiksi sappirakossa erittymässä ohutsuoleen, jossa sappineste hajottaa lipidejä. Tämä on tärkeää, jotta ravinnosta saadut rasvat pääsevät imeytymään elimistöön ja soluille raaka-aineiksi. Sappinesteen kautta tapahtuva kolesterolin eritystä on pidetty käänteisen kolesterolin kuljetuksen kautta tulleen kolesterolin pääeritys muotona (Annema ja Tjetge 2012). Kuitenkin vielä riittää tutkittavaa liittyen maksassa tapahtuviin käänteisen kolesterolin kuljetuksen vaiheisiin. Käsitys siitä, miten kolesterolin eritystä tapahtuu saattaa tulla muuttumaan.

## 2.4. LXR ja sen rooli käänteisessä kolesterolin kuljetuksessa

Kuten aiemmin kerrottu, LXR lisää käänteisen kolesterolin kuljetus reitillä ABCA1 ja ABCG1 reseptorien ilmenemistä (Rosenson yms. 2012, Endo-Umeda ja Makishima 2019). Lisäksi myöhemmin on todettu, että LXR:illä on muitakin tehtäviä kehossa, erityisesti lipidien metabolisissa reaktioissa (Endo-Umeda ja Makishima 2019). LXR $\alpha$  ja LXR $\beta$  kuuluvat tumareseptorien perheeseen ja toimivat transkriptiotekijöinä (Rosenson yms. 2012, Endo-Umeda ja Makishima 2019). LXR $\alpha$  ilmenee monissa elimissä, kuten jo aiemmin mainitussa makrofagissa, mutta myös esimerkiksi maksan soluissa ja munuaisten soluissa (Endo-Umeda ja Makishima 2019). LXR $\beta$  ilmenee upikitisoituna eli merkattuna hävitettäväksi elimistön proteosomissa (Endo-Umeda ja Makishima 2019). Oxysterolit aktivoivat LXR $\alpha$  ja LXR $\beta$ , jolloin LXR $\alpha$  ja LXR $\beta$  pystyvät säätelemään niiden geenien ilmenemistä, joita tarvitaan lipidien metabolisissa reaktioissa, kuten käänteisessä kolesterolin kuljetuksessa (Endo-Umeda ja Makishima 2019). Tätä kautta LXR:illä on tärkeä tehtävä käänteisessä kolesterolin kuljetuksessa ilmentäen geenejä ja tätä kautta luoden proteiineja, joita tarvitaan käänteisessä kolesterolin kuljetuksessa.

LXR siis säätelevät omalta osaltaan kolesterolin homeostaasia kehossa. Konkreettisena esimerkkinä LXR:n toiminnasta voidaan mainita LXR:n vaikutus maksassa, kun ylimääräistä kolesterolia siirretään sappinesteeseen. Maksan soluissa oksysterolit, joita syntyy, kun kolesterolia kertyy ylimäärin, aktivoivat LXR:ää (Endo-Umeda ja Makishima 2019). Aktivoitunut LXR lisää ABCG5 ja ABCG8 kuljettimien tuottoa maksan soluihin, jolloin kolesterolia siirretään tehokkaammin sappines-

teeseen (Endo-Umeda ja Makishima 2019). Näin LXR lisää kolesterolin käsittelyä maksassa sappi-  
nesteeksi. Kuten mainittu, makrofagien LXR toimii omalta osaltaan lisäten ABCA1 ja ABCG1 kuljet-  
timien toimintaa. Tätä kautta on todettu, että sekä maksan ja makrofagien LXR ovat tärkeänä osana  
kolesterolin pitoisuuden säätelyssä kehossa ja taistelussa ateroskleroosia vastaan (Endo-Umeda ja  
Makishima 2019).

LXR $\alpha$  ja LXR $\beta$  transkriptiotekijöiden toimintaa on tutkittu hiirillä estämällä niiden toiminta ja seura-  
amalla, kuinka näiden tekijöiden poisto vaikuttaa käänteiseen kolesterolin kuljetukseen ja muiden li-  
pidireaktioiden toimintaan elimistössä (Endo-Umeda ja Makishima 2019). Tutkimusten myötä on  
mietitty LXR:n mahdollista vaikutusta ateroskleroosin hoidossa, sillä LXR:n poisto lisäsi kolesterolin  
kertymistä elimistöön eli kolesterolin erityys pois kehosta hidastui (Endo-Umeda ja Makishima 2019).  
Kolesterolin kertymisen seurauksena voidaan pohtia, lisäksi LXR:n lisäys käänteistä kolesterolin  
kuljetusta ja samalla siis kolesterolin poistoa elimistöstä, jolloin ateroskleroosia ei syntyisi. Maksan  
ylimääräinen kolesteroli on liitetty tiettyjen maksan sairauksien syntyyn ja tämän takia LXR:n toiminta  
on tärkeää maksan soluissa (Endo-Umeda ja Makishima 2019).

### 3. KÄÄNTEISEN KOLESTEROLIN KULJETUKSEN TUTKI- MINEN JA SAIRAUDET

#### 3.1. Käänteisen kolesterolin kuljetuksen tutkiminen ihmisillä ja hiirillä

Eräässä julkaisussa (Remaley 2011) paneudutaan käänteisen kolesterolin kuljetuksen eri tekijöihin  
eri tilanteissa. Julkaisussa kuvaillaan, kuinka käänteistä kolesterolin kuljetusta voidaan tutkia hiirien  
avulla. Julkaisussa kerrotaan, kuinka ABCA1:sen ja SR-B1:sen toiminta vaihtelee neljän eri hiirilinjan  
välillä. Hiirilinjat olivat C57BL/6, ABCA1 Ko (ABCA1 knock-out mice), SR-B1 Ko (Knock-out mice for  
the scavenger receptor class B, member 1) ja double Ko (DKo). ABCA1 Ko tyyppi hiirellä on hyvin  
vähän HDL kolesterolia, sillä ABCA1 reseptorin tehtävänä on kuljettaa kolesterolia makrofagista ja  
vähentää samalla HDL:n määrää muualla. Kyseisen hiiren *ABCA1* geenin toiminta on estetty, joten  
kolesterolin kuljetusta HDL-partikkeliksi ei tapahdu. (Remaley 2011)

Puolestaan SR-B1 Ko tyyppi hiirellä HDL kolesterolin määrä oli korkea, sillä SR-B1 toimii reseptorina  
kolesterolille esimerkiksi maksaan (Remaley 2011). Kyseisellä hiirellä *SR-B1* geenin ilmeneminen  
on estetty, jolloin SR-B1 reseptoreja ei ole kuljettamassa kolesterolia kudoksiin ja kolesteroli kertyy  
plasmaan (Remaley 2011). DKo tyyppi hiiren sekä *ABCA1* ja *SR-B1* geenien toiminta oli estetty  
(Remaley 2011). DKo tyyppi hiirellä HDL kolesterolin tasot olivat samanlaiset kuin ABCA1 Ko tyyppi  
hiirellä eli hyvin matalat (Remaley 2011). Tämä perustuu siihen, että ABCA1 puuttuminen voittaa  
puuttuvan SR-B1 vaikutuksen (Remaley 2011).

Samanlaisia vaikutuksia huomataan, kun tutkittiin ABCA1 Ko tyyppin hiiren ja DKO tyyppin hiiren muita kuin HDL-lipoproteiinin määrää (Remaley 2011). Eli esimerkiksi LDL- ja VLDL-lipoproteiini tasoja. Löydettiin, että muutkin kuin vain HDL-lipoproteiinin määrät olivat alhaiset kyseisillä hiirityypeillä (Remaley 2011). Se, että ABCA1 Ko tyyppin hiirellä on vähentynyt muutkin kuin HDL-lipoproteiinien määrä perustuu siihen, että suurin osa näistä ApoB:tä sisältävistä lipoproteiineista muunnetaan HDL kolesteroliksi jossain vaiheessa (Remaley 2011). Tämä löydös tuki havaintoa, jonka perusteella ABCA1 poissaolo lisää muiden kuin HDL-lipoproteiinien tuotantoa (Remaley 2011). Tämä perustuu solusignointiin, mutta mekanismia ei vielä kunnolla ymmärretä (Remaley 2011). Puolestaan SR-B1 Ko tyyppin hiirellä myös muutkin lipoproteiini määrät olivat koholla kuin vain HDL, sillä SR-B1 reseptori luultavasti toimii reseptorina myös muillekin lipoproteiineille kuin vain HDL:lle (Rader 2006). SR-B1 puhdistaa lipoproteiineja plasman lipideistä (Rader 2006, Remaley 2011).

Eräässä tutkimuksessa keskityttiin HDL:n muotoon lämpötilaa muuttamalla (Bartelt ym. 2017). Kokeita suoritettiin sekä ihmisille, että hiirille (Bartelt ym. 2017). Huomattiin esimerkiksi kylmän vaikutus HDL:n muokkautumiseen (Bartelt ym. 2017). Ihmisiä altistettiin kahden päivän ajan 16°C lämpötilalle ja huomattiin, että laihoilla ihmisillä HDL muokkautui uudella tavalla (Bartelt ym. 2017). Lihavilla ihmisillä samaa havaintoa ei tehty (Bartelt ym. 2017). Tutkimuksista voitiin todeta, että sekä hiirissä että laihoissa ihmisissä HDL:n pintalipidit uudistuvat samalla tavalla kylmän altistuksen jälkeen riippumatta HDL kolesterolin kokonaispitoisuuksista plasmassa (Bartelt ym. 2017). Todettiin, että havaitut muutokset HDL lipidikoostumuksessa voisivat olla osoitus muuttuneista HDL toiminnoista, kuten solun kolesterolin virtauksesta, ja tätä kautta muutoksista käänteisessä kolesterolin kuljetuksessa (Bartelt ym. 2017).

Tutkimuksia jatkettiin vertailemalla kylmälle altistettuja ja altistumattomia hiiriä, ja niissä tapahtuvia reaktioita (Bartelt ym. 2017). Tutkimuksessa pystyttiin osoittamaan, että kylmä vaikuttaa kolesterolin kulkeutumisen nopeutumiseen hiiren elimistössä, luultavasti nopeuttamalla HDL:n liikettä verenkierron (Bartelt ym. 2017). Tästä voi päätellä, että termogeeninen muokkaaminen voi nopeuttaa käänteistä kolesterolin kuljetusta, sillä HDL kulkeutuu kylmässä nopeammin. Tutkimusta jatkettiin vielä muokkaamalla SR-B1 reseptoria lämpötilan avulla (Bartelt ym. 2017). Johtopäätöksenä voitiin todeta, että maksan SR-B1 reseptorit osallistuvat termogeenisen aktivoinnin indusoimaan kiihtyneeseen HDL-kolesterolin virtaukseen maksaan (Bartelt ym. 2017).

### 3.2. Käänteiseen kolesterolin kuljetukseen liittyvät sairaudet

Ateroskleroottinen sydän- ja verisuonitauti on yleinen tappava tekijä teollistuneissa maissa. Hoitona tähän tautiin on käytetty LDL-tasoa alentavia lääkkeitä, jotka ovat toimineet hyvin, mutta ei lopullisesti parantavasti (Tall ja Wang 2000). Kuitenkin monilla potilailla ateroskleroosin syntyyn voi vaikuttaa liian matala HDL, korkean LDL pitoisuuden sijaan. Yhteys matalan HDL pitoisuuden ja sydän-

ja verisuonitautien välillä on tiedetty jo vuosikymmeniä (Tall ja Wang 2000). Kuitenkaan hoitomuotoa perustuen tähän tietoon ei olla vielä kehitetty (Tall ja Wang, 2000). Tämä johtuu luultavasti siitä, että HDL:n hoitavan vaikutuksen mekanismeja ei olla löydetty. Tutkijat ovat todenneet, että HDL:llä on monta eri vaikutusta ateroskleroosin synnyn estoon (Tall ja Wang 2000). Vanhin perustelu HDL:n hoitavaan vaikutukseen perustuu käänteiseen kolesterolin kuljetukseen (Tall ja Wang 2000). Myös joukko muita HDL:n ominaisuuksia voisi olla mukana sen suojaavassa vaikutuksessa (Tall ja Wang, 2000). Esimerkiksi HDL suojaa LDL:ää hapettumasta eri mekanismeilla ja HDL voi toimia antikoagulanttina sekä verihitaleiden vastaisena aineena. Kuitenkin on vielä epävarmaa, mitkä näistä HDL tehtävistä ovat merkittäviä sydän- ja verisuonitautien kannalta.

Käänteinen kolesterolin kuljetus on monivaiheinen aineenvaihduntareitti, joka on riippuvainen monesta eri tekijästä. Jos yksikin tekijä ei toimi normaalisti, seurauksena on koko reitin toiminnan muutos. Näitä erinäisiä muutoksia käänteisen kolesterolin kuljetus reitin tekijöissä on tutkittu. Esimerkiksi ne yksilöt, joilla on mutaatio kummassakin *CETP* geenin alleelissa on todettu olevan korkea HDL-C-pitoisuus (Rader 2006). Tämä johtuu siitä, että *CETP* ei tällöin muuta HDL:ää muiksi lipoproteiineiksi ja HDL tasot pysyvät korkeampana kuin yksilöillä, joilla *CETP*:tä on kehossa (Rader 2006). Korkeat HDL tasot, erityisesti HDL2 tasot, näyttävät liittyvän vähentyneeseen sepelvaltimoiden tukkeutumiseen (Rader 2006, Rosenson ym. 2012).

Toinen yleisesti tunnettu ongelma käänteisen kolesterolin kuljetuksessa on Tangierin tauti (Tangier disease) (Tall ja Wang 2000). Tangierin tautia on tutkittu sekä hiirillä että ihmisillä (Tall ja Wang 2000). Tangierin tauti on harvinainen homotsygoottinen tauti, jossa HDL-C-tasot ja ApoA-1-tasot ovat erittäin matalat (Tall ja Wang 2000). Taudin tunnusmerkkinä on pidetty kolesteroliesterin kertymistä makrofageihin, mikä johtaa vaahtosolujen kertymiseen eri elimiin, kuten maksaan ja pernaan (Tall ja Wang 2000). Tärkeää on ollut todistaa, että Tangierin tautia sairastavilla koehenkilöillä fibroblastit osoittivat huomattavasti vähentyneen ApoA-1-lipoproteiinin poistovirran, mikä osoittaa käänteisen kolesterolin kuljetuksen alkuvaiheen tärkeyden (Tall ja Wang 2000, Cuchel ja Rader 2006). Kun verrattiin Tangierin tautia sairastavien ja ei-sairastavien riskiä sairastua ateroskleroosiin, todettiin Tangierin tautia sairastavilla henkilöillä olevan nelin, jopa kuusin kertainen riski sairastua valtimonkovettumatautiin (Tall ja Wang 2000). Tangier potilailla todettiin myös vähentynyt LDL-pitoisuus, mikä myös saattaa hidastaa käänteistä kolesterolin kuljetusta osaltaan (Tall ja Wang 2000).

Nykytiedon mukaan Tangierin tauti johtuu mutaatiosta *ABCA1*:stä tuottavasta geenissä eli *ABCA1*:ssä (Tall ja Wang 2000). Tämä selittää Tangierin taudin vaikutuksen kolesterolin käänteisen kuljetuksen alkuvaiheeseen, sillä *ABCA1* toimii reseptorina siirtäen kolesterolia makrofagista HDL-partikkeliksi. Kuitenkaan *ABCA1* geenin mutaation vaikutuksesta käänteisen kolesterolin kuljetukseen ei olla vielä varmoja (Tall ja Wang 2000). Asiaa voidaan tutkia hiirien avulla, joilta on poistettu

tai estetty *ABCA1* geenin toiminta. Hiirien avulla on kyetty todistamaan, että on ainakin todennäköistä, että alhainen HDL-arvo edustaa väestössä erilaisten häiriöiden monimuotoisuutta ja ainakin jossain tapauksissa viallisesti toimivaa käänteistä kolesterolin kuljetusta (Tall ja Wang 2000).

Eräässä tutkimuksessa keskusteltiin mahdollisuudesta lisätä HDL:n määrää ja näin vähentää käänteisen kolesterolin kuljetuksen avulla riskiä sydän- ja verisuonitauteihin (Badimon ja Santos-Gallego 2015). Todettiin, että HDL:n laatu vaikuttaa enemmän kuin HDL:n määrä käänteisen kolesterolin kuljetusreitien vahvistumiseen positiivisesti (Badimon ja Santos-Gallego 2015). Perusteluna tähän oli se, että makrofagien kautta ei kulje kuin 5% kaikesta kehon kolesterolista (Badimon ja Santos-Gallego 2015). Samalla löydettiin myös toimintahäiriöinen tai toimimaton HDL (dysfunctional HDL) (Badimon ja Santos-Gallego 2015). Ymmärrettiin myös, että suurin syy HDL:n toimimattomuudelle on sen hapettuminen (Badimon ja Santos-Gallego 2015). Hapettuminen aiheuttaa sen, että HDL ei kykene enää yhtä tehokkaasti kuljettamaan kolesterolia. Vielä ei ole keksitty hoitokeinoa toimimattomalla HDL:lle (Badimon ja Santos-Gallego 2015).

Muutokset HDL:n proteiini- ja lipidiosissa aiheuttaa myös toimimatonta HDL:ää (Badimon ja Santos-Gallego 2015). HDL:n yksi tärkeimmistä lipidiosan komponenteista on sfingosini-1-fosfaatti (Sphingosine-1-phosphate, S1P) (Badimon ja Santos-Gallego 2015). S1P:tä tulee plasmaan eniten erytrosyyteistä, sillä erytrosyyteiltä puuttuu entsyymi, joka hajottaa turhan S1P:en. Apolipoproteiini M (ApoM) toimii S1P:tä sitovana proteiinina HDL:ssä (Badimon ja Santos-Gallego 2015). On todettu, että S1P konsentraatio korreloi sepelvaltimotaudin kanssa (Badimon ja Santos-Gallego 2015). *In vivo* tutkimuksessa saadut tulokset kertoivat, että matala S1P-konsentraatio lisäsi valtimotautia ja puolestaan korkea S1P-konsentraatio vähensi valtimotautia. Sydän- ja verisuonitauti potilailla oli myös vähemmän S1P:ta sitoutuneena heidän HDL-partikkeleihinsa. Tätä tutkittiin *in vitro* ja ymmärrettiin, että S1P aktivoi ja stimuloi endoteelistä typpioksidin synteesiä ja typpioksidin vapautumista, jolloin verisuonet laajenevat (Badimon ja Santos-Gallego 2015). Kyseiset tulokset houkuttelevat hypoteesiin, jossa oletetaan, että S1P on syy HDL:n toimimattomuuteen (Badimon ja Santos-Gallego 2015).

Kyseinen artikkeli (Badimon ja Santos-Gallego 2015) esittelee hyviä havaintoja liittyen HDL:ään ja sydän- ja verisuonitauteihin. Ensimmäisenä todettiin, että sepelvaltimotauti potilailla oli matalampi S1P-konsentraatio heidän HDL-partikkeleissaan. Toisekseen todettiin, että sepelvaltimotauti potilaiden HDL toimi tehottomammin kuin terveiden henkilöiden. Lisäksi havainnollistettiin, että hapettuminen sepelvaltimotauti potilaiden HDL:ssä vähensi S1P-konsentraatiota HDL-partikkelissa. Viimeisenä ja luultavasti tärkeimpänä havainnollistettiin, että S1P:n lisäys sepelvaltimopotilaalle paransi HDL:n toimintaa ja tätä kautta HDL:n kykyä laajentaa verisuonia, ei tukkia niitä. (Badimon ja Santos-Gallego 2015)

### 3.3. Urheilun vaikutus käänteiseen kolesterolin kuljetukseen ja kolesteroli ta-soihin

Pian sen jälkeen, kun käänteinen kolesterolin kuljetus ja sen rooli elimistön toiminnan säätelyssä löydettiin, alettiin tutkimaan, kuinka käänteistä kolesterolin kuljetusta voitaisiin tehostaa. Koska käänteinen kolesterolin kuljetus edesauttaa kolesterolin kuljetusta pois suonista ja tätä kautta eri sydän- ja verisuonitautien syntyä, on pidetty tärkeänä tutkia käänteisen kolesterolin kuljetus reitin aktivaatiota. Kokonaiskolesterolin määrään elimistössä vaikuttaa kolesteroli lääkitys, tupakointi, liikunta ja ruokavalio sekä näiden kaikkien yhteisvaikutus. Monissa tutkimuksissa keskityttiin nimenomaan ei-lääkkeellisiin hoitoihin, eli liikunnan ja ruokavalion vaikutuksiin kolesterolin määrässä. Tutkimuksia on tehty ihmisille sekä eläimille, kuten rotille (Marques ym. 2018).

Eräissä kokoavassa artikkelissa (Marques ym. 2018) todettiin, että monien eri tutkimusten tulokset vastaavat toisiaan. Tutkimuksissa todettiin, että liikunta edesauttaa kokonaiskolesterolin ja erityisesti LDL-kolesterolin määrän pienenemistä ja käänteisen kolesterolinreitin aktivaatiota (Marques ym. 2018). Monen tutkimuksen avulla löydettiin, että erityisesti aerobinen urheilu ja korkea intensiteetti urheilu vähensivät kokonaiskolesterolia ja aktivoivat käänteistä kolesterolin kuljetusta (Marques ym. 2018). Eräs tutkimus totesi, että aerobisen ja voima urheilun yhdistäminen 16 viikon ajaksi menopaussin ylittäneillä naisilla vähensi kokonaiskolesterolia ja aktivoi käänteistä kolesterolin kuljetusta (Rossi ym. 2018).

Kun tutkittiin tarkemmin käänteisen kolesterolin kuljetusreitin muutoksia liikunnan harrastamisen myötä, löydettiin erinäisiä muutoksia reitillä (Grandjean ym. 2000, Marques ym. 2018). Esimerkiksi CETP:n ja LCAT:in toiminta nopeutui eli kolesterolin esteröityminen HDL-C:ksi nopeutui ja HDL-C:n muutos muiksi lipoproteiineiksi nopeutui (Grandjean ym. 2000). Nämä reaktiot aktivoivat koko käänteisen kolesterolin kuljetusreittiä (Grandjean ym. 2000). Muitakin vaikutuksia löydettiin. Esimerkiksi eräiden käänteisen kolesterolin kuljetuksen reseptorien toiminta lisääntyi, kuten ABCA1 ja ABCG1 reseptorien toiminta (Marques ym. 2018). Näiden reseptorien aktivaatio lisäsi kolesterolin siirtymistä makrofagilta HDL-partikkeleiksi.

Tutkimuksia on tehty ihmisten lisäksi myös eri rottalajikkeille (Marques ym. 2018). Eräissä tutkimuksissa verrattiin, kuinka käänteinen kolesterolin kuljetus erosi liikuntaa harrastaneiden ja passiivisten rottien välillä (Marques ym. 2018). Eräissä tutkimuksissa rotat liikkuivat kuusi viikkoa ja toisessa 12 viikkoa (Marques ym. 2018). Pystyttiin toteamaan, että jo kuuden viikon aerobinen urheilu rotilla lisäsi ABCA1 reseptorin ilmenemistä verrattuna ei-urheilua harrastaneisiin rottiin nähden (Marques ym. 2018). Tutkimuksissa todettiin, että vaikka kokonaiskolesteroli laski ja LDL-kolesterolin pitoisuus väheni, HDL-kolesterolin määrä nousi silti (Marques ym. 2018). Tämän voidaan olettaa merkitsevän

käänteisen kolesterolin kuljetuksen lisääntymistä, mutta asiasta ei vielä olla varmoja (Fisher ym. 2012, Marques ym. 2018).

### 3.4. Tulevaisuuden tutkimuksessa

Tulevaisuudessa tullaan todennäköisesti keskittymään lisää eri aineenvaihduntareittien tutkimiseen, sillä on todettu aineenvaihduntareittien vaikuttavan enemmän eri sairauksiin kuin ennen luultiin. Tämän takia on tutkittu muita kolesterolin erityisreittejä kuin käänteistä kolesterolin kuljetusta. Eräässä tutkimuksessa todettiin, että ulosteen mukana erittyvä kolesterolin määrä ei vaihdellut eri hiirilinjojen välillä vaikka voisi olla oletettavaa, että mutaatiot vaikuttaisivat kolesterolin eritykseen (Remaley 2011). Täten DKO tyyppin hiiren avulla todettiin, että on oltava olemassa muitakin kolesterolin erityisreittejä kuin käänteinen kolesterolin kuljetus. DKO tyyppin hiirellä on hyvin vähän HDL:ää tehdyn mutaation seurauksena. Tätä kautta löydettiin transsintestinaalinen kolesterolin erityy (transintestinal cholesterol excretion, TICE) (Remaley 2011). TICE reitti poistaa steroleja ulosteen kautta (Remaley 2011). Esimerkiksi kun SR-B1 reseptorien tuottoa estettiin, lipoproteenien kolesterolin ei päässyt maksaan muodostamaan sappisuoloja ja poistumaan ulosteen mukana. Tätä kautta löydettiin TICE reitti, jonka avulla kolesterolia poistui ulosteen mukana, mutta ei sappisuoloina (Remaley 2011). Vielä ei ole selvää, kuinka tärkeä TICE-reitti on verrattuna sappisuolojen kautta tapahtuvaan kolesterolin eritykseen (Remaley 2011).

Yritykset parantaa valtimonkovettumatautia lisäämällä HDL:n määrää ei ole juurikaan tuottanut tuloksia (Gillard ym. 2018). Tämän seurauksena tutkimus on keskittynyt HDL:n määrän sijasta HDL:n laadun tutkimiseen eli ei-toimivan HDL:n ja toimivan HDL:n vertailuun (Gillard ym. 2018). On ajateltu, että ateroskleroosin näkökulmasta katsottuna, voidaan jakaa käänteinen kolesterolin kuljetus kahdella tavalla tapahtuvaan malliin (Gillard ym. 2018). Ensimmäinen malli on ns. perinteinen, tässä työssä kerrottu malli. Kyseisessä mallissa kolesterolin kulkeutuu makrofagien kautta tuottaen HDL-partikkelin. LCAT muuttaa HDL-partikkelin täydelliseksi, pyöreäksi esteröimällä kolesterolin eli tuottamalla HDL-kolesteroliesteripartikkelin (HDL-cholesterol ester, HDL-CE). Kolesteroliesteri pääsee maksaan SR-B1 reseptorien avulla, ja kolesterolin muutetaan sappisuoloiksi tai kuljetaan ulos kehosta.

Kuitenkin uusimmat tutkimukset ovat antaneet viitteitä siitä, että suurempi osa kolesterolista kulkeutuisi toisenlaisen käänteisen kolesterolin kuljetuksen avulla (Gillard ym. 2018). Tämä toinen tapa tapahtuu muuten samalla tavalla kuin aiemmin kerrottu, yleisesti tunnettu tapa, mutta eroaa aiemmasta kuljetusreitistä olemalla nopeampi ja kuljetuksessa ei tarvittaisi LCAT:ia (Gillard ym. 2018). Tällöin kolesterolin kulkeutuisi HDL-partikkelissa vapaana kolesterolina. LCAT:in tarpeettomuus perustellaan sillä, että LCAT-aktiivisuus löydettiin ennen varsinaista käänteistä kolesterolin kuljetusta (Gillard ym. 2018). Tästä huomattiin, että käänteisen kolesterolin kuljetuksen eri tekijät pystyivät



suojaamaan kudoksia vapaalta kolesterolilta, vaikka kuljetus tapahtuisi HDL-FC muodossa (Gillard ym. 2018). Vapaata kolesterolia on pidetty vaarallisena kudoksille.

Tulevaisuuden hoitomuotojen kehityksessä on huomioitava nämä kummatkin käänteisen kolesterolin kuljetuksen muodot ja näiden yhteisvaikutus sekä selvittää, kuinka reitti tarkalleen toimii ilman LCAT:ia. Nykytiedon mukaan on voitu todeta, että ilman LCAT:ia käänteinen kolesterolin kuljetus on nopeampaa (Gillard ym. 2018). Elimistö yleensä suosii nopeampaa vaihtoehtoa aineiden kuljetukselle, sillä se on tehokkaampaa. Tutkimuksissa on löydetty jopa minuuttien ero sille, kuinka nopeasti vapaa kolesterolia kulkeutuu maksaan verrattuna kolesteroliestereihin (Gillard ym. 2018).

Jos vapaa kolesterolia pääsee kulkeutumaan maksaan, on selvitettävä, pystyvätkö SR-B1 reseptorit kuljettamaan vapaata kolesterolia maksaan vai vain kolesteroliestereitä (Gillard ym. 2018). Jos SR-B1 reseptori ei pysty kuljettamaan vapaata kolesterolia maksaan, täytyy löytää reitti, jolla vapaa kolesterolia pääsee maksaan. Lisäksi on selvitettävä, kulkeutuuko vapaa kolesterolia eri tavalla maksaan kuin kolesteroliestereitä. Tutkimuksissa on pohdittu vapaan kolesterolin kulkeutumista TICE-reitin avulla (Gillard ym. 2018). SR-B1 reseptorin poisto maksan solujen solukalvoilta on liitetty toimimattoman HDL:n ja eri sairauksien syntyyn (Gillard ym. 2018). Lisäksi SR-B1 reseptorien poisto lisää vapaan kolesterolin kertymistä elimistöön, sillä kolesterolin siirto maksaan on estynyt ainakin osittain. Tästä voidaan päätellä, että ainakin osa vapaasta kolesterolista kulkeutuisi SR-B1 reseptorin avulla maksaan (Gillard ym. 2018). Tulevaisuudessa tutkimukset tulevat luultavasti siirtymään enemmän kohti vapaan kolesterolin kulkeutumista HDL-partikkelin avulla. Tätä kautta voidaan löytää parempia hoitomuotoja eri kolesterolista johtuvien tautien hoitoon.

## 4. YHTEENVETO

Käänteinen kolesterolin kuljetus on tärkeä elimistön aineenvaihdunnanreitti, jossa kolesterolia kierrätetään uudelleen käytettäväksi ja ylimääräinen kolesterolia poistetaan (Hellerstein ja Turner 2014). Monet elimistön solutyypit ovat käänteisen kolesterolin kuljetuksen varassa, sillä solut eivät pysty itse valmistamaan kolesterolia vaan joutuvat kierrättämään jo kertaalleen käytetyn kolesterolin (Rosenson ym. 2012, Trapani ym. 2012). Käänteinen kolesterolin kuljetus on ollut tiedossa jo yli 50 vuotta, mutta sen merkitystä on pohdittu uudelta kannalta (Rosenson ym. 2012). On ollut selvää, että käänteisellä kolesterolin kuljetuksella on tärkeä tehtävä taistelussa sydän- ja verisuonitauteja vastaan, sillä reitin toiminta perustuu siihen, että ylimääräinen kolesterolia kuljetetaan pois suonista ja kudoksista (Hellerstein ja Turner 2014). Kolesterolin kertyminen verisuoniin, johtaa ateroskleroosiin ja sen erilaisiin ilmenemismuotoihin, kuten sepelvaltimotautiin ja sydäninfarktiin (Fisher ym. 2012).

Käänteisessä kolesterolin kuljetuksessa on osallisena monia eri tekijöitä ja jokaisen on toimittava oikein, jotta reitti toimii. Reitti jaetaan kolmeen vaiheeseen (Hellerstein ja Turner 2014). Ensimmäinen vaihe sisältää kolesterolin otton makrofagien sisään, jolloin muodostuu vaahtosoluja (Cuchel ja Rader 2006, Hellerstein ja Turner 2014). Tätä vaihetta on pidetty yhtenä tärkeimmistä vaiheista reitin onnistumiselle (Tall ja Wang 2000, Cuchel ja Rader 2006). Nykytutkimus ei ole varma muodosta, jossa kolesteroli on makrofagissa (Gillard ym. 2018). On pidetty epäselvänä, onko kolesteroli vapaana kolesterolina vai kolesteroliestereinä (Gillard ym. 2018). Vapaa kolesteroli on myrkyllisiä kudoksille, myös makrofageille, joten jokin suojakeino on oltava, jos kolesteroli on vapaana kolesterolina (Cuchel ja Rader 2006). Toisaalta, jos kolesteroli on kolesteroliesterinä, täytyy kolesterolin muotoa muuttaa kolesteroliesteriksi reitin varrella ja tämä lisää yhden vaiheen käänteiseen kolesterolin kuljetukseen (Cuchel ja Rader 2006).

Kun kolesteroli on päätenyt makrofageihin, siirretään kolesteroli eteenpäin lipoproteiineihin (Rosenson ym. 2012). Tässä vaiheessa on kaksi mahdollista reittiä, ABCA1 tai ABCG1 reseptorien kautta tapahtuva kolesterolin kulkeutuminen lipoproteiineihin (Rosenson ym. 2012). Lopputulos on sama eli muodostetaan HDL-partikkeli (Rosenson ym. 2012). HDL-partikkelin muodostumisessa auttaa eri tekijöitä, kuten LCAT ja LXR (Rosenson ym. 2012). Toinen vaihe käänteisessä kolesterolin kuljetuksessa sisältää kolesterolin kuljetuksen maksaan (Hellerstein ja Turner 2014). Kuitenkin ennen maksaan siirtymistä, kolesteroli pystyy siirtymään eri lipoproteiinien välillä. Tätä siirtymää katalysoi CETP (Rosenson ym. 2012). Osa kolesterolista luultavasti kulkeutuukin maksaan LDL-lipoproteiinissa (Rosenson ym. 2012). Verenkierto kuljettaa lipoproteiinit maksan lähelle. Jos kolesteroli kulkeutuu maksaan HDL-partikkelin avulla, maksan SR-B1 reseptorit huolehtivat kolesterolin pääsystä maksaan (Rader 2006). Puolestaan, jos kolesteroli kuljetetaan maksaan LDL-partikkelissa, LDLR reseptorit hoitavat kuljetuksen (Rader 2006).

Viimeinen eli kolmas vaihe käänteisessä kolesterolin kuljetuksessa sisältää kolesterolin erityksen maksasta (Hellerstein ja Turner 2014). Ennen tätä täytyy kolesterolia muokata (Annema ja Tjetge 2012). Kolesteroli voidaan erittää suoraan sappinesteeseen ja lisäksi maksassa voidaan muodostaa pienestä osasta kolesterolia sappinesteen sappihappoja (Annema ja Tjetge 2012). Suora erityys sappinesteeseen tapahtuu ABCG5:en ja ABCG8:n avulla (Annema ja Tjetge 2012). Muitakin tekijöitä osallistuu näihin reaktioihin (Annema ja Tjetge 2012). Kyseiset maksan reaktiot eivät ole vielä täysin selviä ja tätä vaihetta käänteisessä kolesterolin kuljetuksessa tutkitaan edelleen (Gillard ym. 2018). Elimistö tarvitsee sappinestettä ruuansulatuskanavaan hajottamaan ruuasta saatuja lipidejä, ja ylimääräinen kolesteroli poistuu ulosteen mukana (Annema ja Tjetge 2012).

Käänteistä kolesterolin kuljetusta on tutkittu eri tavoilla, kuten ihmisillä, hiirillä ja rotilla (Remaley 2011). Osa tutkimuksesta on keskittynyt eri käänteisen kolesterolin kuljetus reitin komponenttien toimintaan ja tutkimusta on tehty poistamalla eri tekijöitä reitin varrelta (Remaley 2011). Tutkimusta

on tehty myös liittyen eri sairauksiin, joita liiallinen kolesterolin kertyminen tai kolesterolin kierrätyksen toimimattomuus aiheuttaa. Valtimonkovettumatauti, Tangierin tauti ja toimimaton HDL ovat esimerkkejä sairauksista, joita eri tutkimukset ovat käsitelleet liittyen käänteiseen kolesterolin kuljetukseen (Tall ja Wang 2000, Badimon ja Santos-Gallego 2015). Tutkijat ovat todenneet, että HDL:llä on monta eri vaikutusta ateroskleroosin synnyn estoon (Tall ja Wang 2000). Vanhin perustelu HDL:n hoitavaan vaikutukseen perustuu nimenomaan käänteiseen kolesterolin kuljetukseen (Tall ja Wang 2000). Kuitenkin on vielä epävarmaa, mikä HDL:n monista tehtävistä on merkittävin sydän- ja verisuonitautien kannalta.

On tutkittu myös liikunnan harrastamisen vaikutusta kolesterolin kertymiseen elimistössä ja on löydetty, että liikunta vähentää kolesterolin kertymistä elimistöön (Grandjean ym. 2000). Tutkimus tulee luultavasti muuttumaan enemmän kohti HDL:n laadun kuin määrän vaikutusta eri tautien syntyyn, sillä on todettu, että HDL määrän lisääminen ei ole tehostanut käänteistä kolesterolin kuljetusta (Gillard ym. 2018). Esimerkiksi on tutkittu, lämpötilan vaikutusta HDL:n muotoon ja tätä kautta kulkeutumiseen elimistössä (Bartelt ym. 2017). Löydettiin, että HDL kulkeutuu nopeammin kylmässä (Bartelt ym. 2017). On todettu, että toimimaton HDL vähentää käänteisen kolesterolin kuljetuksen reitin aktiivisuutta, jolloin myös sairastuminen sydän- ja verisuonitauteihin lisääntyy (Badimon ja Santos-Gallego 2015). Tämän takia toimimattoman ja toimivan HDL:n vertailu on tärkeää. Lisäksi tulevaisuuden tutkimuksessa tullaan luultavasti kehittämään erilaisiin kolesterolin kuljetusreitteihin ja käänteisen kolesterolin kuljetusreitin variaatioihin, joita on viime aikoina löydetty.

## 5. LÄHTEET

- Annema W. & Tietge U.J. (2012) Regulation of reverse cholesterol transport - a comprehensive appraisal of available animal studies. *Nutrition & Metabolism* **9**(1), 25.
- Badimon J.J. & Santos-Gallego C.G. (2015) HDL Dysfunction: Is the Answer in the Sphinx's Riddle? *Journal of the American College of Cardiology* **66**(13), 1486-1488.
- Bartelt A., John C., Schaltenberg N., ym. (2017) Thermogenic adipocytes promote HDL turnover and reverse cholesterol transport. *Nature Communications* **8**(1), 15010.
- Cuchel M. & Rader D.J. (2006) Macrophage Reverse Cholesterol Transport: Key to the Regression of Atherosclerosis? *Circulation* **113**(21), 2548-2555.
- Endo-Umeda K. & Makishima M. (2019) Liver X Receptors Regulate Cholesterol Metabolism and Immunity in Hepatic Nonparenchymal Cells. *International Journal of Molecular Sciences* **20**(20), 5045.
- Fisher E., Feig J., Hewing B., ym. (2012) High-Density Lipoprotein Function, Dysfunction, and Reverse Cholesterol Transport. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* **32**(12), 2813-2820.
- Gillard B.K., Rosales C., Xu B., ym. (2018) Rethinking reverse cholesterol transport and dysfunctional high-density lipoproteins. *Journal of Clinical Lipidology* **12**(4), 849-856.
- Glomset J.A. (1968) The plasma lecithin:cholesterol acyltransferase reaction.

- Grandjean P.W., Crouse S.F. & Rohack J.J. (2000) Influence of cholesterol status on blood lipid and lipoprotein enzyme responses to aerobic exercise. *Journal of Applied Physiology* **89**(2), 472-480.
- Hellerstein M. & Turner S. (2014) Reverse cholesterol transport fluxes. *Current Opinion in Lipidology* **25**(1), 40-47.
- Insull W. (2009) The Pathology of Atherosclerosis: Plaque Development and Plaque Responses to Medical Treatment. *American Journal of Medicine, The* **122**(1), S3-S14.
- Liao S. & McLachlan C.S. (2018) Cholesterol Efflux: Does It Contribute to Aortic Stiffening? *Journal of Cardiovascular Development and Disease* **5**(2), 23.
- Marques L.R., Diniz T.A., Antunes B.M., ym. (2018) Reverse Cholesterol Transport: Molecular Mechanisms and the Non-medical Approach to Enhance HDL Cholesterol. *Frontiers in Physiology* **9**, 526.
- Rader D.J. (2006) Molecular regulation of HDL metabolism and function: implications for novel therapies. *The Journal of Clinical Investigation* **116**(12), 3090-3100.
- Remaley A.T. (2011) "Who's on First": Determining the Roster for the Key Players in the Reverse Cholesterol Transport Pathway. *Atherosclerosis* **218**(2), 287-289.
- Rosenson R.S., Brewer J., Bryan H., ym. (2012) Cholesterol efflux and atheroprotection: advancing the concept of reverse cholesterol transport. *Circulation* **125**(15), 1905-1919.
- Rossi F.E., Fortaleza A.C.S., Diniz T.A., ym. (2018) Changes in HDL-c concentrations after 16 weeks of combined training in postmenopausal women: characteristics of positive and negative responders. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism* **43**(1), 38-44.
- Shilpasree A., Sahukar S., Murthy J., ym. (2013) A Study of Serum Apolipoprotein A1, Apolipoprotein B and Lipid Profile in Stroke. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR* **7**(7), 1303-1306.
- Tall A.R. & Wang N. (2000) Tangier disease as a test of the reverse cholesterol transport hypothesis. *The Journal of Clinical Investigation* **106**(10), 1205-1207.
- Trapani L., Segatto M. & Pallottini V. (2012) Regulation and deregulation of cholesterol homeostasis: The liver as a metabolic "power station". *World Journal of Hepatology* **4**(6), 184-190.