

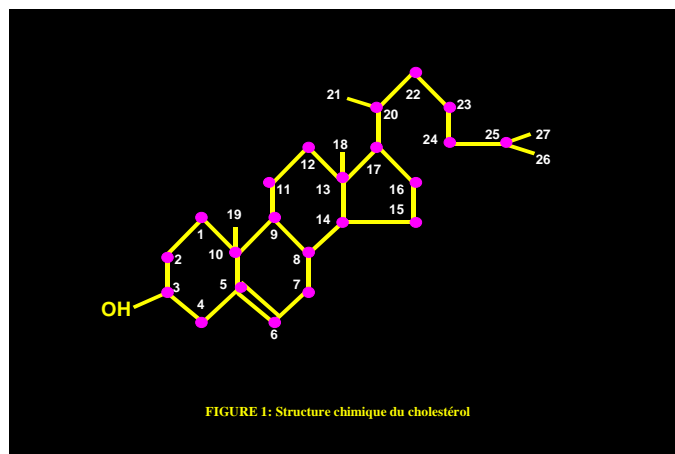
La biosynthèse des acides biliaires

Docteur Maâmar Souidi

Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire. IRSN, B.P. n°17, F 92262 Fontenay-aux-Roses Cedex, FRANCE. e-mail : maamar.souidi@irsn.fr

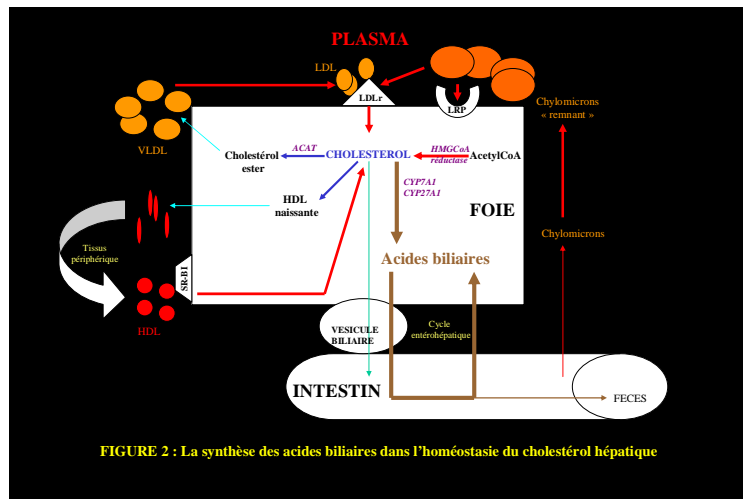
INTRODUCTION

La biosynthèse hépatique des acides biliaires est essentielle pour l'organisme car elle participe pour une part très importante à l'équilibre dynamique du cholestérol (Figure 1). Celui-ci, considéré comme stérol caractéristique des Mammifères, est un lipide essentiel à l'intégrité et au fonctionnement de l'organisme, un élément clef de la structure des membranes cellulaires, et le précurseur des hormones stéroïdiennes, de la vitamine D et des acides biliaires. D'origine mixte (exogène et endogène), le cholestérol est absorbé ou synthétisé par de nombreux tissus et organes dont principalement l'intestin et le foie. En raison de son insolubilité en milieu aqueux, son transport plasmatique est assuré par les lipoprotéines.



La concentration plasmatique du cholestérol est maintenue constante grâce à l'équilibre entre les processus de synthèse et de transport du cholestérol vers le plasma et ceux de stockage et d'élimination après sa transformation. Le foie joue un rôle déterminant dans cette homéostasie, il capte le cholestérol plasmatique grâce à différents récepteurs membranaires aux lipoprotéines tel que le LRP (Low density lipoprotein Receptor-related-Protein, associé à la clairance des remnants des chylomicrons), le LDLr (récepteur des lipoprotéines de faible densité (LDL) ou

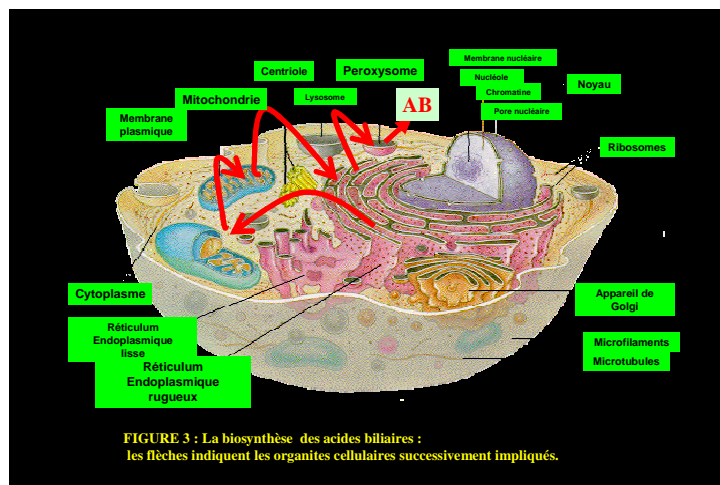
récepteur apoB/E), le SR-BI (récepteur « scavenger » de classe B, Type I ou récepteur des lipoprotéines de haute densité : HDL). Le foie synthétise du cholestérol par une voie de biosynthèse complexe où l'enzyme 3-hydroxy-3-méthyl-glutaryl-coenzyme A réductase (HMG-CoAR) est considérée comme limitante. Il secrète des lipoprotéines, stocke du cholestérol sous forme d'esters via l'activité de l'acyl-CoA cholestérol acyltransférase (ACAT), et en transforme en acides biliaires, biosynthèse initiée par la cholestérol 7 α -hydroxylase (CYP7A1) et la stérol 27-hydroxylase (CYP27A1) (Figure 2) .



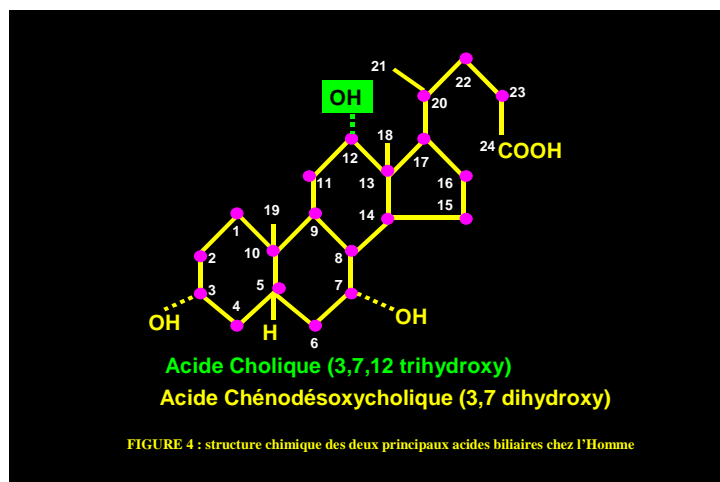
La synthèse hépatique des acides biliaires est donc une voie principale d'élimination du cholestérol de l'organisme. Les acides biliaires sont, de plus, indispensables à la solubilisation et l'absorption intestinale des lipides et des vitamines liposolubles alimentaires.

LES VOIES DE LA BIOSYNTHESE DES ACIDES BILIAIRES

La transformation du cholestérol en acides biliaires met en jeu une vingtaine d'enzymes différentes dans l'hépatocyte, impliquant une cascade de réactions au niveau du réticulum endoplasmique, du cytosol, des mitochondries et des péroxysomes (Figure 3).



Les acides biliaires primaires ainsi formés dans le foie, chez l'Homme, sont l'acide cholique (hydrophile) et l'acide chénodésoxycholique (hydrophobe) (Figure 4).



Ces derniers sont conjugués soit à la glycine ou à la taurine avant d'être sécrétés par le foie. Les acides biliaires primaires sont transformés en acides biliaires secondaires par la flore bactérienne du tube digestif, en acide désoxycholique (à partir du cholique) et lithocholique (à partir du chénodésoxycholique) (Figure 5).

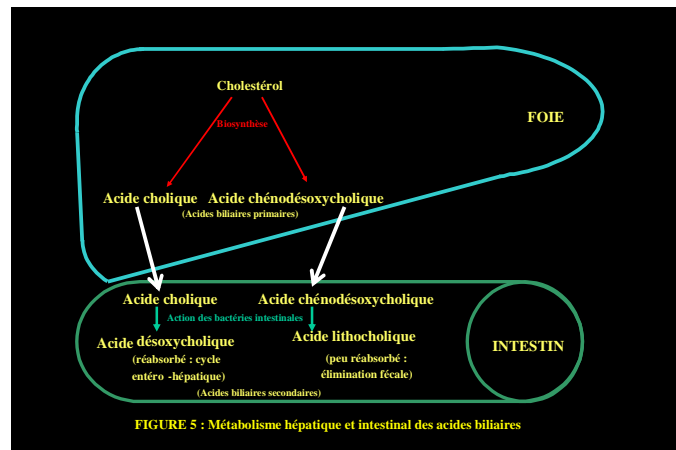
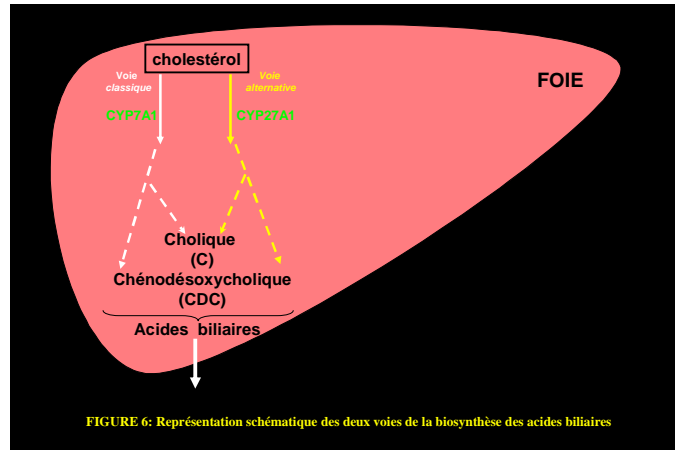


FIGURE 5 : Métabolisme hépatique et intestinal des acides biliaires

Les acides biliaires synthétisés par le foie sont soumis à un cycle entérohépatique qui permet la conservation de 95% du pool des acides biliaires en conditions physiologiques. Ce cycle entérohépatique implique la réabsorption intestinale, le transport dans le sang portal, le captage par le foie, le transport intra-hépatocytaire, la sécrétion biliaire et l'excrétion dans la lumière intestinale des acides biliaires (Figure 2).

La biosynthèse des acides biliaires est caractérisée par l'existence de deux voies (Figure 6) : la voie classique, dont l'enzyme clef, est la CYP7A1 et la voie alternative dont l'enzyme clef est la CYP27A1. Cette dernière est connue depuis longtemps mais son action n'était connue que très en aval dans la voie de biosynthèse des acides biliaires. L'importance de cette enzyme, dans la synthèse des acides biliaires chez l'Homme et d'autres espèces, a donc été récemment réévaluée par la mise en évidence de son implication comme enzyme initiatrice de la voie alternative. Il a été montré que cette voie contribuait de manière significative à la synthèse des acides biliaires. Récemment, il a été mis en évidence que certains métabolites (dérivés du

cholestérol), produits dans des tissus extra-hépatiques, sont métabolisés en acides biliaires au niveau du foie. Ainsi, certains auteurs parlent d'une origine extra-hépatique de la biosynthèse des acides biliaires.



LES VOIES HEPATIQUES

La voie classique: la cholestérol 7 α -hydroxylase (CYP7A1) et la stérol 12 α -hydroxylase (CYP8B1)

La première étape de la voie classique est limitante (Figure 7) et correspond à la transformation du cholestérol en 7 α -hydroxycholestérol par une enzyme du réticulum endoplasmique (microsomes), la CYP7A1. La voie classique permet la synthèse des acides cholique et chénodésoxycholique, acides qui se différencient par une 12 α -hydroxylation effectuée par la stérol 12 α -hydroxylase (CYP8B1).

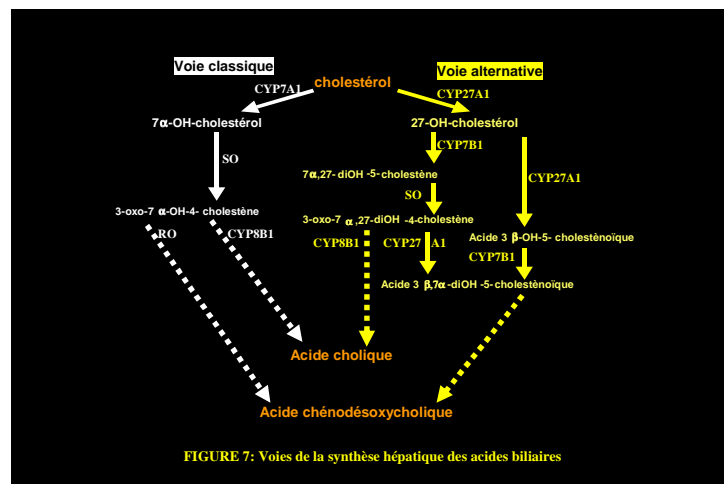
La CYP7A1 localisée dans le réticulum endoplasmique lisse, est active sous forme phosphorylée. Elle appartient à la super famille des monooxygénases à cytochromes P-450. Cette enzyme utilise des cofacteurs comme le NADPH, donneur d'électrons, et la NADPH cytochrome P-450 réductase, nécessaire au transfert d'électrons lors de la catalyse enzymatique. La CYP7A a

été purifiée en 1985. Elle comporte 504 acides aminés (53 kDa) chez l'Homme. Cette enzyme présente une région N-terminale (très hydrophobe) ancrée dans la membrane, un domaine de liaison avec l'hème et un site de liaison au cholestérol. Par la suite, son ADNc a été cloné et son gène séquencé chez différentes espèces. Le gène humain de la CYP7A1, présent sous une seule copie, a été localisé sur le chromosome 8. Cette enzyme n'a été détectée que dans le foie.

La seconde étape de la biosynthèse des acides biliaires est catalysée dans le réticulum endoplasmique par la 3β -OH- Δ^5 -C₂₇-Stéroïde Oxydoréductase (SO). Le produit de cette réaction, le $3\alpha,7\alpha$ -hydroxy-4-cholestène, est un métabolite occupant une position clef dans la synthèse des acides biliaires (Figure 7). Il peut être substrat de la CYP8B1 et conduire, après cascade enzymatique, à la formation de l'acide cholique. Il peut être également substrat de la Δ^4 -3-Oxostéroïde-5 β -Réductase (OR) microsomale pour donner, après plusieurs étapes, l'acide chénodésoxycholique.

Bien que peu étudiée, la CYP8B1 située uniquement dans le réticulum endoplasmique des hépatocytes, est une enzyme majeure du métabolisme des acides biliaires car en introduisant un groupement hydroxyle en 12α , elle initie la formation de l'acide cholique. Elle joue donc un rôle important dans la voie classique puisqu'elle oriente qualitativement la synthèse des acides biliaires vers la formation d'acides biliaires hydrophiles (cholique) si elle agit ou hydrophobes (chénodésoxycholique) si elle n'agit pas. Cette enzyme appartient à la super famille des monooxygénases à cytochromes P-450 et a besoin de NADPH comme cofacteur. Son poids moléculaire est de 50 kDa (purification à partir du foie de Lapin). Très récemment, l'ADNc de la CYP8B1 a été cloné et son gène séquencé chez d'autres espèces. Le gène humain de la CYP8B1, présent sous une seule copie, a été localisé sur le chromosome 3.

Les étapes finales de la voie classique conduisent au raccourcissement de la chaîne latérale du cholestérol, processus qui a lieu dans les mitochondries et les peroxyosomes. Il comprend à la fois l'oxydation de la chaîne latérale par la CYP27A1 et l'introduction d'un groupement CoA. Après une hydroxylation en position 24, le stérol ainsi formé est dégradé en un composé ne comportant que 24 atomes de carbone (futur acide biliaire) et en propionyl-CoA. Avant sa sécrétion par l'hépatocyte, la fonction acide de l'acide biliaire va être activée par fixation de coenzyme A grâce à une CoA-synthétase microsomale. Les acides cholique et chénodésoxycholique résultants sont conjugués à la glycine et à la taurine par l'action de l'acide N-acyltransférase. Cette conjugaison est nécessaire à leur solubilisation dans la bile et permet leur action physiologique dans l'intestin.



La voie alternative : la stérol 27-hydroxylase (CYP27A1) et l'oxystérol 7α-hydroxylase (CYP7B1)

Cette voie est initiée par l'hydroxylation du cholestérol sous l'action de la CYP27A1, enzyme située dans la membrane interne des mitochondries et qui est active sous forme phosphorylée. La CYP27A1 fait également partie de la super famille des monooxygénases à

cytochromes P450. Son activité nécessite donc le NADPH comme cofacteur et la présence de deux protéines, la ferrédoxine et la ferrédoxine réductase, nécessaires pour le transfert des électrons lors de la catalyse enzymatique. Elle utilise différents substrats dont le cholestérol, certains intermédiaires de la biosynthèse des acides biliaires et la vitamine D3. Chez l'Homme, la CYP27A1 est une protéine de 57 kDa. Le gène humain de la CYP27A1 fait 18,6 kb, possède 9 exons et 8 introns et est localisé sur le chromosome 2. Deux types d'ARNm de la CYP27A1 ont été détectés : de 2,2 et 1,8 kb chez l'Homme.

La CYP27A1 initie donc la voie alternative de la biosynthèse des acides biliaires en transformant le cholestérol en 27-hydroxycholestérol (Figure 7). Ce premier métabolite est ensuite partiellement transformé en un intermédiaire aldéhyde puis en acide 3 β -OH-5-cholesténoïque par cette même enzyme. La CYP27A1 a en effet été décrite comme ayant plusieurs fonctions enzymatiques. Ces intermédiaires de la voie alternative peuvent être ensuite 7 α hydroxylés par la CYP7B1 microsomale chez l'Homme et donner des composés tels que le 7 α -27-dihydroxy-5-cholestène et l'acide 3 β ,7 α -dihydroxy-5-cholesténoïque (Figure 7). Le 7 α -27-dihydroxy-5-cholestène, après action de la 3 β -OH- Δ^5 -C₂₇-Stéroïde Oxydoréductase (SO), est transformé en 3 oxo-7 α -27-dihydroxy-4-cholestène, métabolite intermédiaire jouant très probablement un rôle central dans l'aiguillage entre la voie alternative et la voie classique (Figure 7). En effet, ce composé serait substrat de la CYP8B1 et conduirait à la formation de l'acide cholique.

Depuis peu, la CYP7B1, est considérée comme la deuxième enzyme importante de la voie alternative. Cette enzyme est décrite dans la littérature sous 2 noms : oxystérol 7 α -hydroxylase ou 27 hydroxycholestérol-7 α -hydroxylase. Elle est distincte de la CYP7A1 mais appartient aussi à la super famille des monooxygénases à cytochromes P450, utilisant comme cofacteur le

NADPH. Elle est capable de métaboliser un certain nombre d'intermédiaires de la voie alternative de la biosynthèse des acides biliaires et principalement le 27-hydroxycholestérol hépatique, ce qui permet à la fois la formation d'acide chénodésoxycholique, et d'acide cholique. Certains auteurs, privilégiant surtout une origine-extra hépatique du 27-hydroxycholestérol, suggèrent que cette enzyme pourrait même initier la voie alternative. On admet actuellement que la voie alternative contribue, *in vitro*, au moins pour 50% à la synthèse des acides biliaires chez l'Homme.

Très récemment, la CYP7B1 a été également clonée chez l'Homme. Son homologie de séquence avec la CYP7A1 n'est que de 40%. La CYP7B1 comporte 506 acides aminés. Le gène humain de la CYP7B1 de 10 kb comprend 6 exons et 5 introns ; présent sous une seule copie, il a été localisé sur le chromosome 8 comme pour la CYP7A1. Par Northern blotting, un seul ARNm de 9 kb a été détecté chez l'Homme.

LA VOIE EXTRA-HEPATIQUE

La stérol 27-hydroxylase (CYP27A1) extra- hépatique

Enzyme ubiquitaire la CYP27A1 (Figure 8), a été localisée dans le foie, les poumons, l'intestin, les artères, les glandes surrénales, les testicules, les ovaires, les cellules endothéliales, les macrophages et les fibroblastes. Récemment, un nouveau mécanisme oxydatif pour l'élimination du cholestérol intracellulaire des parois des vaisseaux lui a été associé. En effet, on lui attribue un rôle de détoxification, par la transformation extrahépatique du cholestérol en des composés plus solubles et mieux éliminés du plasma, le 27-hydroxycholestérol et l'acide 3 β -hydroxy-5-cholesténoïque. Transportés des tissus vers le foie par les lipoprotéines (principalement les HDL, pour le 27-hydroxycholestérol) et l'albumine (pour l'acide 3 β -OH-5-

cholesténoïque), ces deux composés sont ensuite métabolisés en acides biliaires après action de la CYP7B1 hépatique.

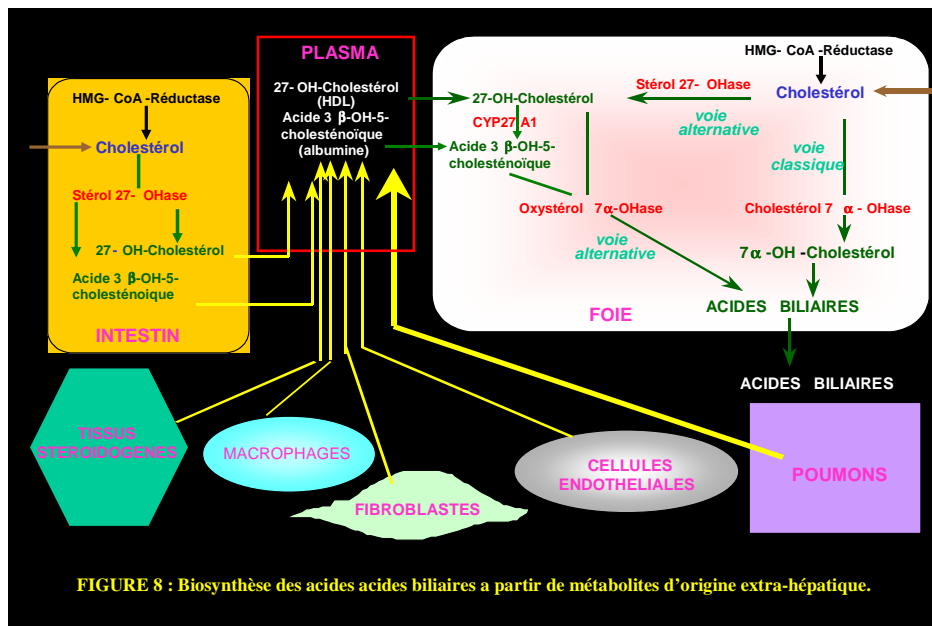


FIGURE 8 : Biosynthèse des acides biliaires à partir de métabolites d'origine extra-hépatique.

ROLES DES ENZYMES DANS LA PHYSIOPATHOLOGIE DE CERTAINES MALADIES LIPIDIQUES

Une meilleure connaissance du métabolisme du cholestérol et, plus particulièrement, de la biosynthèse des acides biliaires, permet de mieux comprendre les dérèglements qui contribuent à l'apparition de différentes pathologies comme certaines maladies cardiovasculaires, les dyslipémies, la lithiase biliaire cholestérolique, la xanthomatose cérébro-tendineuse ou encore certaines cholestases (Tableau 1).

TABLEAU 1: Enzymes de la biosynthèse des acides biliaires et pathologies chez l'Homme

Enzymes	Pathologies
CYP27A1 extra-hépatique (-)	Cholestases hépatiques et manifestations cardio-vasculaires : plaques d'athéromes
CYP7A1 (-)	Lithiase biliaire cholestérolique
CYP27A1 hépatique et extra-hépatique (m)	Xanthomatose cérébro-tendineuse : manifestations cardio-vasculaires et neurologiques
CYP7B1 (m)	Cholestases chroniques et manifestations cardio-vasculaires
3β-OH-Δ ⁵ -C ₂₇ -Stéroïde Oxydoréductase (m)	Hépatites et Cholestases chroniques
Δ ⁴ -3-Oxostéroïde-5β-Réductase (m)	Hépatites et Cholestases chroniques

(-) diminution de l'activité de l'enzyme; (m) mutation génétique de l'enzyme.

Dans le monde, deux de ces pathologies sont particulièrement fréquentes et constituent un problème majeur de santé publique. La première, l'athérosclérose, tient une place élevée dans la morbidité et la mortalité humaine. Une trop forte concentration plasmatique en cholestérol joue, dans la majorité des cas, un rôle dominant dans l'apparition de cette maladie. Il a été rapporté chez l'Homme qu'une déficience de l'activité de la CYP27A1 extra-hépatique (dans les macrophages et l'endothélium vasculaire) avait pour conséquence une accumulation du

cholestérol plasmatique, favorisant ainsi l'apparition de plaques d'athérome caractéristiques des maladies cardio-vasculaires. La seconde, la lithiase biliaire cholestérolique, est caractérisée par la formation de précipités et de calculs de cholestérol dans la vésicule biliaire. La genèse de cette maladie est encore mal connue et fait l'objet de recherches fondamentales et médicales très actives. Il lui a été décrit de nombreuses étiologies dont l'une est l'hypersécrétion de cholestérol associée à une hyposécrétion des acides biliaires dans la bile, conséquence pour certains auteurs de la diminution de l'activité de la CYP7A1 et de la CYP27A1 dans le foie. Certaines pathologies, beaucoup plus rares, sont directement liées à un dysfonctionnement d'enzymes du métabolisme des acides biliaires. La xanthomatose cérébro-tendineuse (CTX), pathologie très grave, qui entraîne chez des sujets jeunes des atteintes neurologiques, cardiaques et des xanthes, est la conséquence d'une accumulation de stérols (comme le cholestanol et le cholestérol). Cette maladie génétique est liée à un dysfonctionnement (mutations conduisant à la synthèse d'une enzyme non fonctionnelle) de la CYP27A1 hépatique et extra hépatique. Différentes mutations de cette enzyme ont été récemment caractérisées. De même, récemment, une mutation de la CYP7B1 a été associée une pathologie dans laquelle des stérols, tels que le 27-hydroxycholestérol d'origine extra hépatique, ne pouvant plus être métabolisés au niveau du foie par la CYP7B1, s'accumulent dans le plasma et entraînent des atteintes cardiovasculaires. De plus, la mutation de cette enzyme chez ces patients entraîne des cholestases hépatiques très graves. Chez l'Homme, d'autres pathologies caractérisées par une carence en vitamines liposolubles, des cholestases hépatiques et des manifestations cliniques de type neurologique, ont également pour cause la mutation de certaines enzymes tels que la 3β -OH- Δ^5 -C₂₇-Stéroïde Oxydoréductase (SO) ou la Δ^4 -3-Oxostéroïde-5 β -Réductase (OR) communes aux deux voies de

biosynthèse des acides biliaires. Ces mutations entraînent une absence de synthèse des acides biliaires primaires (acides cholique et chénodésoxycholique).

Enfin, il est utile de noter que certaines cholestases hépatiques très graves observées chez des patients après transplantation d'organe ont pour origine l'utilisation de la ciclosporine. En effet, ce médicament, essentiellement éliminé par le foie entraîne une baisse de la synthèse des acides biliaires mais également une altération de leur qualité via une inhibition de type post-traductionnelle (au niveau de la protéine) et transcriptionnelle (au niveau du gène) de la CYP27A1.

Ainsi, toutes ces données soulignent l'intérêt qu'il peut y avoir à explorer de façon approfondie le métabolisme des acides biliaires et plus particulièrement d'étudier les enzymes majeures et leur régulation.

CONCLUSIONS

Cette revue permet une vision nouvelle de la biosynthèse des acides biliaires qui devient complexe. En effet, durant les cinq dernières années de nouvelles voies de synthèse ont été mises en évidence et plus particulièrement la voie alternative et la voie d'origine extra-hépatique. A ce jour, il semble que cette biosynthèse possède deux voies: la voie classique initiée par la CYP7A1 microsomale et la voie alternative initiée par la CYP27A1 mitochondriale. Il est admis aujourd'hui que ces deux voies conduisent chez l'Homme à la fois à l'acide cholique et à l'acide chénodésoxycholique. De plus, il semble que, en aval de la CYP7A1 et de la CYP27A1, il existe deux autres enzymes possédant des positions clef dans la formation qualitative et quantitative des acides biliaires. Ainsi, la CYP7B1, autre enzyme majeure de la voie alternative, peut participer à l'initiation de la biosynthèse des acides biliaires en métabolisant des oxystérols d'origine extra-

hépatique tel que le 27-OH-cholestérol . Enfin, la CYP8B1, enzyme majeure de la voie classique est responsable de la synthèse qualitative des acides biliaires en initiant la synthèse de l'acide cholique.

Enfin, une meilleure connaissance des équilibres régissant les régulations des activités des quatre enzymes clés (CYP7A1, CYP27A1, CYP8B1 et CYP7B1) permettra d'envisager certaines perspectives thérapeutiques en liaison avec les pathologies hépatiques ou cardio vasculaires. Ainsi, un intérêt particulier doit être porté à l'étude, *in vivo*, des mécanismes biochimiques et moléculaires de ces régulations par différents effecteurs qu'ils soient de nature nutritionnelle, hormonale ou pharmacologique.

REFERENCES

- Björkhem I, Diczfalusy U, Lütjohann D. Removal of cholesterol from extrahepatic sources by oxidative mechanisms. *Current Opinion Lipidology* 1999 ; 10 : 161-165.
- Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986 ; 232 : 34-47.
- Erlinger S. la lithiase biliaire : progrès en hépato-gastro-entérologie 6. Paris, doin : Zittoun R 1991.
- Garuti R, Croce MA, Tiozzo R, Dotti MT, Federico A, Bertolini S, Calandra S. Four novel mutations of sterol 27-hydroxylase gene in Italian patients with cerebrotendinous xanthomatosis. *J Lipid Res* 1997 ; 38 : 2322-2334.
- Mathé D, Lutton C. Le cholestérol. Aspects dynamiques et métaboliques. *J Physiol* 1984 ; 79 : 41-97.
- Princen HMG, Post SM, Twisk Y. Regulation of bile acid biosynthesis. *Curr Pharmaceut Design* 1997 ; 3 : 59-84.
- Russell DW. Oxysterol biosynthetic enzymes. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1529: 126-135.
- Setchell KDR. Disorders of bile acid synthesis. In : Walker WA, Durie PR, Hamilton JR, Walker-Smith JA, Watkins JB, eds. *Pediatric gastrointestinal disease*. St Louis : MO, 1996 : 1205-1232.
- Setchell KDR, Schwarz M, O'Connell NC, Lund EG, Davis DL, Lathe R, Thompson HR, Tyson RW, Sokol RJ, Russell DW. Identification of a new inborn error in bile acid synthesis : mutation of the oxysterol 7 α -hydroxylase gene causes severe neonatal liver disease. *J Clin Invest* 1998 ; 102 : 1690-1703.
- Souidi M, Parquet M, Dubrac S, Lutton C. Les nouvelles voies de la biosynthèse des acides biliaires. *Gastroenterol Clin Biol* 2001; 25 : 81-92.