

SKVALÉN: OD TRADIČNEJ MEDICÍNY K MODERNÝM APLIKÁCIÁM

MARTINA GARAIOVÁ a IVAN HAPALA

Ústav biochémie a genetiky živočíchov, Centrum biovied,
Slovenská akadémia vied, Dúbravská cesta 9, 840 05
Bratislava
martina.garaiova@savba.sk

Došlo 10.10.16, prepracované 12.1.18, prijaté 12.2.18.

Kľúčové slová: skvalén, izoprenoid, aplikácie, prírodné zdroje, biotechnologická produkcia

Obsah

1. Úvod
2. Štruktúra, syntéza a vlastnosti skvalénu
3. Aplikácie skvalénu
 - 3.1. Dietetický skvalén a ľudské zdravie
 - 3.2. Farmakologické aplikácie
 - 3.3. Skvalén v kozmetických prípravkoch
 - 3.4. Skvalén ako lubrikant
4. Prírodné zdroje a produkcia skvalénu
5. Záver

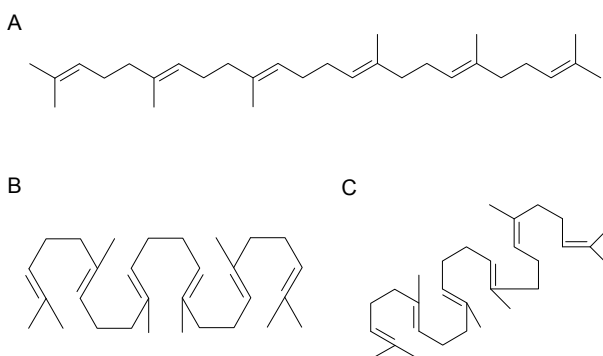
1. Úvod

V posledných dvoch desaťročiach je možné pozorovať zvýšený záujem o látky prírodného pôvodu, ktoré sú vďaka svojim vlastnostiam zaujímavé z hľadiska zdravej výživy a ochrany ľudského zdravia. Patrí medzi ne aj skvalén, ktorý sa vyskytuje prakticky u všetkých organizmov od prokaryotov cez Archaea až po eukaryoty. Ide o látku, ktorej využívanie siaha hlboko do histórie, v súčasnosti však získala nové uplatnenia v medicíne aj v rôznych priemyselných odvetviach. Hlavné medicínske aplikácie skvalénu sú pritom do veľkej miery predznačené už v samotnej histórii jeho objavu. Prvotným podnetom, ktorý viedol k izolácii a charakterizácii tejto zaujímavej molekuly, boli pozitívne účinky konzumácie oleja z pečene hlbokomorských žralokov na zdravie a dlhovekosť obyvateľov rybárskych osád na severných japonských ostrovoch. Japonskí rybári nazvali pôvodne túto látku Samedawa (liečivý olej) a pripisovali mu moc predlžovať život. Dokonca starovekí bojovníci z Japonska, Číny, ako aj Maori z Nového Zélandu pili olej zo žraločej pečene pred odchodom na vojnu. Zmienku o sile tohto extraktu môžeme nájsť i v japonských legendách a v starovekých čínskych písomnostiach z obdobia dynastie Ming¹.

Tajomstvo liečivého oleja Samedawa bolo odhalené až v roku 1906, keď japonský chemik Mitsuru Tsujimoto identifikoval v extrakte žraločej pečene látku, ktorú nazval skvalén. Meno odvodil od názvu čeľade žralokov *Squalidae*, z ktorej extrakt izoloval, pretože si myslel, že ide o látku charakteristickú práve pre túto čeľad². O rok neskôr výskum rozšíril na ďalších 36 druhov žralokov a výsledky tohto bádania preukázali, že skvalén je všeobecnou zložkou pečene väčšiny žralokov, i keď jeho obsah nemusí byť až taký vysoký ako je to práve u čeľade *Squalidae*³. Nezávisle od Tsujimota izoloval Chapmann v roku 1917 uhľovodík z pečene žralokov *Centrophorus granulosus* a *Scymnorhinus lichia*, ktorý nazval spinacén. Tsujimoto medzitým pripravil hexachlorid skvalénu, ktorý mal vlastnosti veľmi podobné spinacénu. Keď sa o niekoľko rokov potvrdilo, že spinacén a skvalén sú totožné molekuly, vďaka časovej prioritě objavu M. Tsujimota ostal novej látke ním zvolený názov – skvalén.

2. Štruktúra, syntéza a vlastnosti skvalénu

Skvalén ($C_{30}H_{50}$; 2,6,10,15,19,23-hexametyl-2,6,10,14,18,22-tetrakozahexán) je biologicky významný polyizoprenoid, ktorý patrí do skupiny triterpenoidov. Jeho najdôležitejšou a univerzálnou funkciou je účasť na tvorbe membrán buď priamo ako jej stavebná zložka (napríklad u Archaea), alebo ako prekursor komplexnejších zložiek membrán – sterolov u eukaryotov a hopanoidov u eubaktérií. Ide o symetrickú lineárnu molekulu tvorenú 6 izoprénovými jednotkami, pričom prítomnosť 6 dvojitých väzieb umožňuje molekule skvalénu zaujať aj komplexnejšie konformácie (obr. 1). Skvalén neobsahuje žiadne polárne skupiny, čo výrazne ovplyvňuje jeho integ-



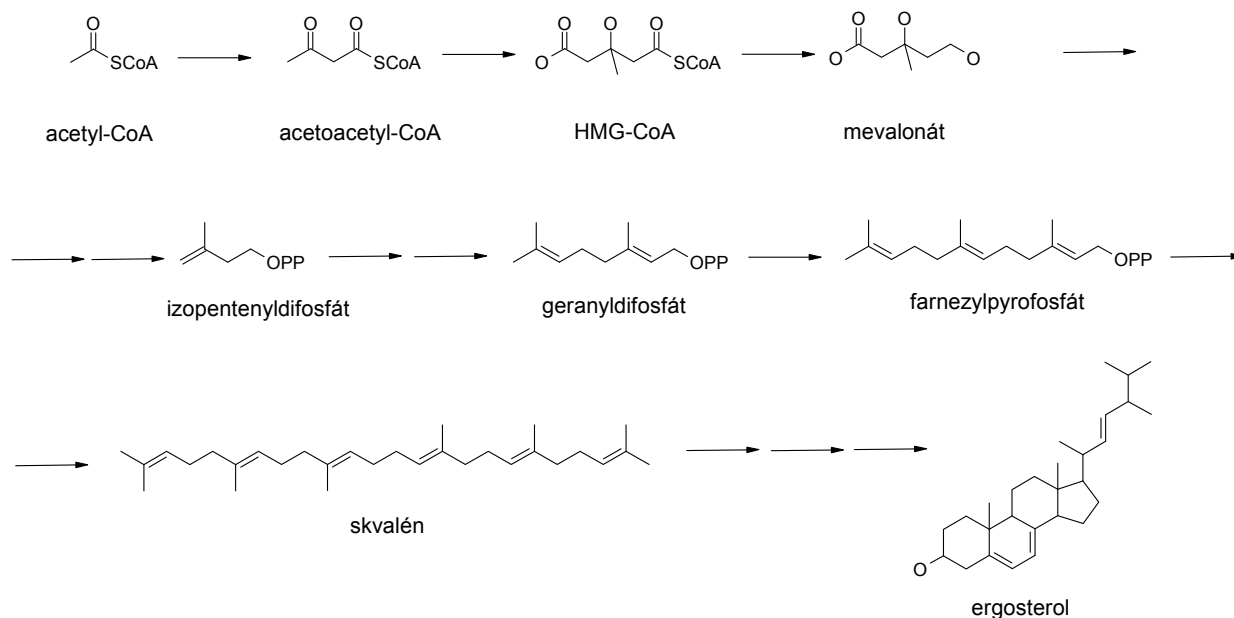
Obr. 1. Štruktúra skvalénu: A – lineárny vzorec molekuly skvalénu, B – zvinutá konformácia molekuly skvalénu, C – konformácia simulujúca štruktúru molekuly sterolu

ráciu do membrán. V obmedzenom množstve sa môže vyskytovať v umelých aj biologických membránach, pričom môže zaujať všetky tri konformácie uvedené v obr. 1. Pri zvýšenej akumulácii je však skvalén v eukaryotických bunkách prednostne ukladaný do organel špecializovaných na skladovanie neutrálnych lipidov – do lipidových častíc^{4,5}.

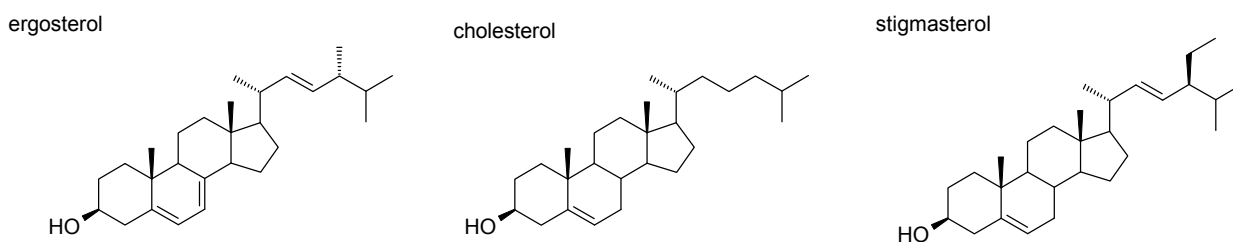
Syntéza skvalénu prebieha v organizmoch dvomi mechanizmami – v tzv. mevalonátovej (MVA) dráhe a 2-C-metyl-D-erytritol-4-fosfátovej (MEP) dráhe. MEP dráha sa začína kondenzáciou glyceraldehyd-3-fosfátu a pyruvátu a cez MEP, izopentenylidifosfát (IPP) a dimetylalylidifosfát (DMAPP) je v nej syntetizovaný farnezylpyrofosfát (FPP) – priamy prekurzor skvalénu. Táto dráha sa vyskytuje u väčšiny prokaryotov (eubaktérie, sinice) a v plastidoch rastlín, ktoré sú odvodené od prokaryotických endosymbiontov. Z hľadiska rozšírenia v prírode (výskyt u eukaryotov a Archaea) aj z hľadiska produkcie skvalénu ako priemyselne dôležitej molekuly je významnejšia MVA dráha (obr. 2). Východnou molekulou pre syntézu skvalénu je tu acetyl-koenzým A (acetyl-CoA), ktorý je cez acetoacetyl-koenzým A (acetoacetyl-CoA) premenený na 3-hydroxy-3-metylglutaryl-koenzým A (HMG-CoA). Redukciou HMG-CoA vzniká mevalonát, podľa ktorého je celá dráha pomenovaná. Tento krok je kľúčovým kontrolným bodom nielen v mevalonátovej dráhe, ale v celej syntéze sterolov⁶. Mevalonát je fosforylovaný a dekarboxylovaný na IPP, ktorý je kondenzovaný na FPP. FPP je prekurzor pre syntézu viacerých esenciálnych bunkových zložiek ako sú hém, chinóny, dolicholy a steroly, a preto všetky reakcie vedúce k jeho tvorbe sú pre eukaryotické organizmy esenciálne⁷. Syntéza skvalénu kondenzáciou 2 molekúl

FPP predstavuje prvý krok špecifický pre biosyntézu sterolov u eukaryotov. Jednotlivé taxonomické skupiny syntetizujú steroly s mierne odlišnou štruktúrou⁸ (obr. 3), v membránach však všetky plnia rovnaké esenciálne funkcie – udržiavanie ich štruktúry, fyzikálnych vlastností a permeability.

Hladina skvalénu je v eukaryotických bunkách udržiavaná na nízkej úrovni rýchlou konverziou v biosyntéze sterolov. Pri nadbytku sterolov je mechanizmom spätnej inhibície znižovaná aktivita MVA dráhy cez kľúčové regulačné miesto – enzým HMG-CoA reductázu, ktorá sprostredkúva konverziu HMG-CoA na mevalonát. Zníženie aktivity MVA dráhy zabraňuje akumulácii prekurzorov syntézy sterolov vrátane skvalénu. Existujú však bunky resp. tkanivá, u ktorých produkcia skvalénu nesúvisí priamo so syntézou sterolov, ale skôr s jeho inými špeciálnymi funkciami. Medzi špecifické funkcie skvalénu patrí napr. jeho účasť na funkčnosti bakteriorodopsínu⁹ resp. stabilizácia nedvojvrstvových membránových štruktúr v sietnici¹⁰. Skvalén je produkovaný vo zvýšenej miere tiež v adipocytoch alebo v bunkách ľudských mazových žliaz. Aj keď nie je jasné, ako je zvýšená produkcia skvalénu v mazových žľazách regulovaná, odráža sa na vysokom obsahu skvalénu v kožnom maze (12–13 % celkových lipidov). Je zaujímavé, že vysoký obsah skvalénu v kožnom maze je typický pre človeka a nevyskytuje sa napr. u príbuzných hominidov. Súvisí to pravdepodobne so špecifickými nárokmi na ochranu ľudskej pokožky, hlavne pri zvýšenej expozícii UV žiareniu a pri oxidatívnom ataku¹¹. Chemické a fyzikálne vlastnosti skvalénu do veľkej miery predurčujú jeho súčasné aj potenciálne aplikácie. Po fyzikálnej stránke je skvalén pri izbovej teplote kvapa-



Obr. 2. Syntéza skvalénu v mevalonátovej dráhe



Obr. 3. Štruktúra sterolov

lina slabozltej farby, sladkastej chuti a takmer bez zápachu¹². Vlastnosti ako nízka viskozita, tepelná stabilita a nízky bod tuhnutia z neho robia cenné biologicky degradovateľné mazivo. Už spomínaná hydrofóbnosť skvalénu a s tým súvisiaca afinita k bunkovým membránam sú zase základom niektorých aplikácií vo farmakológii a kozmetike. Z hľadiska chemických vlastností skvalénu je významná prítomnosť dvojitych väzieb, ktoré na jednej strane znižujú jeho stabilitu, na druhej strane prispievajú k schopnosti skvalénu zhášať kyslíkové radikály a k jeho antioxidačným vlastnostiam.

3. Využitie skvalénu

Ako je spomínané v úvode, využívanie pozitívnych účinkov skvalénu na ľudský organizmus siaha hlboko do histórie. Ako chemicky čistá látka bol skvalén izolovaný a charakterizovaný na začiatku minulého storočia z prírodného materiálu aplikovaného v tradičnej japonskej medicíne. Je preto dosť prekvapujúce, že trvalo takmer 90 rokov, kým sa pozitívne zdravotné účinky skvalénu začali v širšej miere využívať v oblastiach ako výživa, medicína, farmaceutický priemysel a kozmetika.

3.1. Dietetický skvalén a ľudské zdravie

Skvalén je v ľudskom tele produkovaný ako prekurzor v biosyntéze cholesterolu, môže však byť prijímaný aj ako súčasť potravy. Zo skvalénu prijatého v potrave je 65 až 80 % absorbovaných v čreve a prostredníctvom sérových lipoproteínov (najmä lipoproteínov s veľmi nízkou hustotou, VLDL) distribuovaných do cieľových tkanív¹³. Len veľmi malá časť skvalénu prijatého potravou je však ďalej metabolizovaná a k zvýšeniu hladiny cholesterolu nedochádza ani pri vysokom príjme externého skvalénu. Naopak, Chan a spol.¹⁴ zistili, že denný príjem 860 mg skvalénu po dobu 20 týždňov viedol k zníženiu celkovej hladiny cholesterolu u hypercholesterolemických pacientov približne o 17 %. Tento pozitívny účinok dietetického skvalénu môže súvisieť s jeho schopnosťou regulovať aktivitu HMG-CoA reduktázy, ako aj vylučovanie cholesterolu a žlčových kyselín¹⁵. Dietetický skvalén sa môže pozitívne prejavíť aj na znížení tvorby aterosklerotických

plakov. Okrem inhibície syntézy cholesterolu a jeho akumulácie v sérových lipoproteínoch môže tento účinok súvisieť aj s inhibíciou expresie CD36 receptora na povrchu makrofágov a s tým súvisiacou zníženou schopnosťou endocytózy oxidovaných lipoproteínov s nízkou hustotou (LDL)¹⁶.

Vďaka svojej chemickej štruktúre môže skvalén pôsobiť v ľudskom tele ako „vychytávač“ voľných kyslíkových radikálov. Oxidatívny stres a zvýšená hladina voľných kyslíkových radikálov predstavujú jeden z faktorov podieľajúcich sa na starnutí a vzniku rakoviny. Svojimi antioxidačnými vlastnosťami tu skvalén môže pôsobiť ako ochranný faktor a jeho užívanie by mohlo predstavovať istý druh prevencie¹⁷. V *in vitro* podmienkach bol antioxidačný účinok skvalénu pozorovaný v epitelových bunkách a bunkách kostnej drene cicavcov, nie však v neuroblastómových bunkách a v nádorových bunkách prsníka, aj keď kontrolné antioxidanty boli účinné vo všetkých testovaných bunkách¹⁸. Predpokladá sa, že táto selektivita v antioxidačnej aktivite môže súvisieť so zvyšovaním množstva glutatiónu v normálnych bunkách (tzv. glutatiónový paradox)¹⁹, s rozdielmi v príjme, utilizácii a akumulácii skvalénu²⁰ alebo s rozdielmi v regulácii antioxidačných systémov u rôznych typov nádorových buniek²¹.

Ochranné účinky skvalénu pri vzniku a rozvoji rakoviny môžu súvisieť aj s jeho schopnosťou znižovať chemotoxicitu a stimulovať elimináciu cudzorodých látok z organizmu²².

3.2. Farmakologické aplikácie skvalénu

Okrem priamych účinkov dietetického skvalénu na ľudské zdravie viaceré aplikácie skvalénu vo farmaceutickom priemysle využívajú jeho špecifické vlastnosti na podporu procesov, ktoré priamo nesúvisia s jeho metabolickými funkciami. Skvalén je takto využívaný ako adjuvans v mnohých vakcínach, kde pôsobí stimulujúco na funkciu imunitného systému²³. V súčasnosti sa skvalén používa ako zložka novej generácie vakcín proti HIV, malárii, herpetickým vírusom, hepatitíde typu A a B, chrípke a ľudskému papiloma vírusu. V tejto súvislosti sa v minulosti vyskytli úvahy o negatívnych účinkoch skvalénu prítomného vo vakcínach, ktoré sa mali podieľať na

klinických príznakoch tzv. syndrómu vojny v Perzskom zálive (Gulf war syndrome). V krvi vojakov s rozvinutým syndrómom sa našli protilátky proti skvalénu, ktorý bol ako adjuvant súčasťou vakcíny proti antraxu používanej armádou USA. Epidemiologické analýzy a doplnujúce štúdie však ukázali, že výskyt spomínaných protilátok nemal súvis s udávanými klinickými príznakmi a nežiadaúce vedľajšie účinky vakcíny sa tak nepreukázali²⁴.

Skvalén sa uplatňuje aj ako aditívum v rôznych lipidových emulziách, v ktorých zvyšuje rozpustnosť liečiv a zlepšuje ich inkorporáciu do cieľových buniek bez vedľajších účinkov. Významným využitím skvalénu v tejto oblasti je aj jeho priame naviazanie na molekulu liečiva (skvalenylácia), ktorá umožňuje tvorbu nanoštruktúr uľahčujúcich distribúciu liečiva v organizme a jeho vstup do buniek. Sem možno zaradiť skvalenyláciu nukleotidových analógov, ktoré pôsobia ako inhibitory DNA syntézy a používajú sa ako protirakovinové a protivírusové terapeutiká. Ich transport do buniek v metabolicky vhodnejšej forme nukleozid monofosfátov je však limitovaný prítomnosťou fosfátovej skupiny, ktorá obmedzuje prechod membránou²⁵. Naviazanie skvalénu na fosfátovú skupinu umožňuje túto bariéru prekonať²⁶. Podobným spôsobom bola využitá skvalenylácia v liečbe papilárneho karcinómu štítnej žľazy. Skvalenylovaná krátká interferujúca RNA (siRNA) proti onkogénu RET/PTC1 bola stabilnejšia ako samotná siRNA a zároveň sa vďaka zvýšenej hydrofóbnosti zlepšil jej transport do buniek, čo viedlo k lepšej inhibícii rastu nádoru²⁷. Najnovšou aplikáciou skvalénu v protinádorovej liečbe je jeho využitie ako súčasť multifunkčných nanočastíc, pozostávajúcich z molekúl Gemcitabínu ako aktívneho liečiva, skvalénu zlepšujúceho stabilitu nanočastíc a ich vstup do buniek, biotínu ako ligandu zabezpečujúceho nasmerovanie do rakovinových buniek, a rodamínu ako fluorescenčného markera umožňujúceho sledovanie procesu interakcie nanočastíc s bunkami a ich internalizácie. Takéto multifunkčné nanočastice sa ukázali ako účinnejšie v porovnaní s nanočasticami čiste skvalenylovaného Gemcitabínu bez naviazaného biotínu²⁸.

3.3. Skvalén v kozmetických prípravkoch

Ako bolo spomenuté vyššie, skvalén tvorí významnú časť ľudského kožného mazu. Jeho hlavnou funkciou je udržiavanie prirodzenej vlhkosti a pružnosti epidermy a ochrana pred účinkami UV žiarenia. Pri externej aplikácii skvalén účinne preniká do pokožky a uľahčuje vstup iných látok do jej hlbších vrstiev. Vďaka tomu je skvalén obľúbenou prísadou do krémov, vlasových prípravkov a iných produktov kozmetického priemyslu. Ochranná funkcia skvalénu pred oxidačným atakom a UV žiarením súvisí s prítomnosťou 6 dvojitych väzieb v jeho molekule. Kohno a spol.²⁹ zistili, že skvalén je najefektívnejší zhášač kyslíkových radikálov medzi lipidmi kožného mazu, pričom znižuje riziko reťazového priebehu reakcie peroxidácie membránových lipidov. Hydrofilnejšie produkty oxidácie skvalénu (napr. skvalén monoperoxid) prenikajú hlboko do pokožky, kde ich biologické účinky môžu byť ako

pozitívne (napr. indukcia syntézy melanínu³⁰), tak negatívne (stimulácia zápalových procesov pri vzniku akné³¹ a vlasových lupín³², starnutie pokožky³³). Negatívnym dopadom prítomnosti nenasýtených väzieb v molekule skvalénu je jej znížená stabilita, čo ovplyvňuje trvanlivosť kozmetických prípravkov. Z tohto dôvodu kozmetický priemysel využíva hlavne skvalán ako hydrogénovanú formu skvalénu. Vďaka neprítomnosti dvojitych väzieb je skvalán odolnejší voči oxidácii a dekompozícii účinkom UV žiarenia, pričom si zachováva fyzikálne vlastnosti potrebné pre jeho aplikácie ako zmäkčovadlo³⁴.

3.4. Skvalén ako lubrikant

So stúpajúcou spotrebou rôznych technických kvapalín syntetického pôvodu stúpa aj riziko environmentálnej kontaminácie, ako aj problémy s likvidáciou odpadu pochádzajúceho z týchto syntetických kvapalín. Tomuto riziku sa dá vyhnúť využívaním biodegradovateľných produktov vyrábaných na báze rastlinných a živočíšnych tukov. U väčšiny týchto prírodných produktov je však problémom vysoká teplota tuhnutia (čo obmedzuje ich použitie pri bežných teplotách) a relatívne nízky bod vznietenia (čo zvyšuje riziko pri trení namáhaných súčiastok v strojoch). Skvalén predstavuje v tomto ohľade výnimočné biodegradovateľné mazivo s vynikajúcou lubrikačnou schopnosťou, tepelnou a oxidačnou stabilitou, nízkym bodom tuhnutia a vysokým bodom vznietenia³⁵. Hlavným limitujúcim faktorom pre jeho širšie využitie v tejto oblasti ostáva vysoká cena, ktorá súvisí s obmedzenými prírodnými zdrojmi.

4. Prírodné zdroje a produkcia skvalénu

Ročná potreba skvalénu a jeho hydrogénovaného derivátu skvalánu na komerčné účely bola v r. 2013 odhadovaná na 2500 ton. Aj keď existuje postup na jeho chemickú syntézu³⁶, vysoké náklady obmedzujú výrobu syntetického skvalénu v priemyselnom merítku. Širšie využívanie skvalénu tak stále závisí od dostupnosti jeho prírodných zdrojov. Aj keď je skvalén univerzálnym prekurzorom syntézy sterolov a vyskytuje sa u všetkých eukaryotických organizmov, v bunkách sa rýchlo spotrebúva a jeho hladiny sú za normálnych okolností nízke. Obsah dostatočný z technologického hľadiska je tak obmedzený iba na malý počet rastlinných a živočíšnych druhov. Doposiaľ najvýznamnejším zdrojom skvalénu je pečeň hlbokomorských žralokov a veľrýb, kde skvalén môže predstavovať 40 až 70 % hmotnosti¹². Vysoký obsah skvalénu tu má zaujímavé vysvetlenie. Pečeň je u žralokov extrémne vyvinutá (dosahuje až 25 % celkovej telesnej hmotnosti), pričom 90 % jej objemu tvoria lipidy. Lipidy tu nepredstavujú zásobárňu energie, ale významne znižujú špecifickú hustotu pečene, ktorá tak slúži u žralokov ako hydrostatický orgán významne ovplyvňujúci energetickú bilanciáciu plávania³⁷. Využívanie pečene žralokov ako zdroja skvalénu komplikuje prítomnosť environmentálnych kontaminan-

tov ako sú polychlórované bifenyly, dioxíny a ťažké kovy. Navyše spríušovanie podmienok rybolovu a medzinárodné dohody o ochrane morských živočíchov nútia hľadať zdroje skvalénu napr. v rastlinnej ríši³⁸. Skvalén sa vyskytuje v oleji získavanom zo semien niektorých rastlín, jeho obsah je však pomerne nízky, a preto komerčne významným zdrojom sú hlavne zvyšky po čistení a rafinácii olivového oleja, ktoré obsahujú 8–21 % skvalénu³⁹. Okrem skvalénu sa však v týchto zvyškoch nachádzajú aj voľné mastné kyseliny a menšie množstvo fytosterolov a tokoferolov. Prítomnosť týchto zložiek s podobnou rozpustnosťou predstavuje technický problém pri extrahovaní skvalénu a komplexná purifikácia sa v konečnom dôsledku odráža na výrazne vyšších nákladoch v porovnaní so skvalénom izolovaným z pečene žralokov⁴⁰. Perspektívnym rastlinným zdrojom skvalénu sú aj semená láskavca (*Amaranthus*), ktoré obsahujú približne 6–8 % skvalénu⁴¹. *Amaranthus* je tzv. pseudocereália a pre svoju vysokú výživnú hodnotu a nenáročnosť pri pestovaní je nazývaná aj plodinou tretieho tisícročia. Prednosťou tejto rastliny je produkcia vysokého množstva semien a odolnosť voči škodcom a extrémnym klimatickým podmienkam. Získavanie skvalénu z amarantového oleja je však pre vysoké náklady zatiaľ ekonomicky nevýhodné, semená láskavca (prípadne z nich pripravená múka) však ako tzv. „funkčná potravina“ môžu predstavovať dostupný zdroj dietetického skvalénu.

Vhodným alternatívnym systémom pre biotechnologickú produkciu skvalénu by v budúcnosti mohli byť mikroorganizmy. Ich veľkou prednosťou je jednoduchá kultivácia, rýchly rast a stabilná produkcia nezávislá od klimatických podmienok. Výhody rýchleho rastu a s tým súvisiacou vysokou produkciou biomasy sú však zatiaľ obmedzované nízkymi výťažkami skvalénu. Štúdie zamerané na produkciu skvalénu sa uskutočnili na baktériách (*Rubritalea squalenifaciens*), kvasinkách (*Saccharomyces cerevisiae*, *Torulaspora delbrückii*) a riasach (*Aurantiochytrium mangrovei* a *Botryococcus braunii*)⁴². Ako veľmi sľubné sa v tomto ohľade ukazujú napr. kvasinky. Okrem izolácie produkčných organizmov zo špecifických ekosystémov (napr. kvasinky rodu *Pseudozyma* z mangrovových lesov⁴³) je perspektívnou stratégiou u kvasiniek ovplyvňovanie obsahu skvalénu pomocou modifikácie metabolických dráh (tzv. metabolické inžinierstvo) a optimalizácie kultivačných podmienok produkčných kmeňov. Metabolické dráhy ovplyvňujúce hladiny skvalénu sú u kvasiniek veľmi dobre preskúmané a ukazuje sa, že významné zvýšenie hladín skvalénu je možné dosiahnuť stimuláciou jeho syntézy (napr. nadexpresiou a dereguláciou enzýmu HMG-CoA reduktázy⁴⁴) aj blokovaním jeho ďalšieho metabolizmu v syntéze ergosterolu (napr. znížením aktivity skvalénepoxidázy⁴⁵). Významným faktorom, ktorý môže ovplyvňovať biotechnologickú produkciu skvalénu v kvasinkách, je aj skladovacia kapacita pre akumulovaný skvalén v lipidových časticiach. Vysoký obsah lipidových častíc je typický pre tzv. tukotvorné kvasinky⁴⁶, je tu však viazaný najmä na tvorbu triglyceridov. Kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* obsahujú

výrazne menej lipidových častíc a pri nadprodukcii skvalénu tak môže prísť k prekročeniu ich skladovacej kapacity a k narušeniu viability buniek v dôsledku lipotoxicity skvalénu pri jeho akumulácii v bunkových membránach⁴⁷. Sľubným prístupom z hľadiska zvyšovania obsahu skvalénu v kvasinkových bunkách resp. znižovania nákladov na jeho produkciu tak je využívanie netradičných kvasiniek s vysokou schopnosťou akumulovať lipidy ako aj kvasiniek schopných využívať pre tvorbu biomasy priemyselne odpady⁴⁸.

5. Záver

Skvalén predstavuje pomerne typický príklad prírodnej látky, ktorej pôvodné využívanie v tradičnej medicíne bolo v súčasnosti rozšírené na iné oblasti priamo nesúvisiace s priaznivými účinkami na zdravie človeka. Vďaka svojim fyzikálno-chemickým a biologickým vlastnostiam je skvalén v súčasnosti žiadanou surovinou v kozmetickom a farmaceutickom priemysle a veľmi perspektívne je aj jeho uplatnenie ako špeciálny lubrikant. Ako pri mnohých prírodných látkach, chemická syntéza skvalénu nie je v súčasnosti ekonomicky prijateľná a jeho využívanie v širšom merítke naráža na obmedzené prírodné zdroje. Alternatívne postupy pre priemyselnú produkciu skvalénu sú založené na hľadaní „netradičných“ prírodných zdrojov (napr. rastliny a mikroorganizmy). Biotechnologická produkcia mikroorganizmami vrátane kvasiniek využívajúca postupy metabolického inžinierstva pritom predstavuje najperspektívnejšiu cestu k pokrytiu potrieb skvalénu v rôznych priemyselných odvetviach.

Zoznam skratiek

acetoacetyl-CoA	acetoacetyl-koenzým A
acetyl-CoA	acetyl-koenzým A
DMAPP	dimetylalylidifosfát
FPP	farnezylypyrofosfát
HMG-CoA	3-hydroxy-3-metylglutaryl-koenzým A
IPP	izopentenylidifosfát
LDL	lipoproteíny s nízkou hustotou
MEP	2-C-metyl-D-erytritol-4-fosfát
MVA	mevalonátový
VLDL	lipoproteíny s veľmi nízkou hustotou

Práca vznikla v rámci riešenia projektov VEGA-2/0064/16 a APVV-15-0654.

LITERATÚRA

1. Das B.: *The Science Behind Squalene, the Human Antioxidant*. University of Toronto Press, Toronto 2000.
2. Tsujimoto M.: J. Ind. Eng. Chem. 8, 889 (1916).
3. Tsujimoto M.: J. Ind. Eng. Chem. 12, 600 (1920).
4. Tilvis R., Kovanen P. T., Miettinen T. A.: J. Biol. Chem. 257, 10300 (1982).

5. Spanova M., Czabany T., Zellnig G., Leitner E., Hapala I., Daum G.: *J. Biol. Chem.* **285**, 6127 (2010).
6. Burg J. S., Espenshade P. J.: *Prog. Lipid Res.* **50**, 403 (2011).
7. Daum G., Less N. D., Bard M., Dickson R.: *Yeast* **14**, 1471 (1998).
8. Edwards P. A., Ericsson J.: *Annu. Rev. Biochem.* **68**, 157 (1999).
9. Hendler R. W., Dracheva S.: *Biochemistry (Mosc.)* **66**, 1311 (2001).
10. Fliesler S. J., Boesze-Battaglia K., Paw Z., Keller R. K., Albert A. D.: *Exp. Eye Res.* **64**, 279 (1997).
11. De Luca C., Valacchi G.: *Mediators Inflamm.* Article ID 321494 (2010). doi: 10.1155/2010/321494.
12. Reddy L. H., Couvreur P.: *Adv. Drug Delivery Rev.* **15**, 1412 (2009).
13. Gylling H., Miettinen T. A.: *Atherosclerosis* **106**, 169 (1994).
14. Chan P., Tomlinson B., Lee C. B., Lee Y. S.: *J. Clin. Pharmacol.* **36**, 422 (1996).
15. Shin D. H., Heo H. J., Lee Y. J., Kim H. K.: *Br. J. Biomed. Sci.* **61**, 11 (2004).
16. Granados-Principal S., Quiles J. L., Ramirez-Tortosa C. L., Ochoa-Herrera J., Perez-Lopez P., Pulido-Moran M., Ramirez-Tortosa M. C.: *Mol. Nutr. Food Res.* **56**, 733 (2012).
17. Chen G., Fan K. W., Lu F. P., Li Q., Aki T., Chen F., Jiang Y.: *New Biotechnol.* **27**, 382 (2010).
18. Warleta F., Campos M., Allouche Y., Sánchez-Quesada C., Ruiz-Mora J., Beltrán G., Gaforio J. J.: *Food Chem. Toxicol.* **48**, 1092 (2010).
19. Das B., Yeger H., Baruchel H., Freedman M. H., Koren G., Baruchel S.: *Eur. J. Cancer* **39**, 2556 (2003).
20. Das B., Antoon R., Tsuchida R., Lotfi S., Morozova O., Farhat W., Malkin D., Koren G., Yeger H., Baruchel S.: *Neoplasia* **10**, 1105 (2008).
21. Klaunig J. E., Kamendulis L. M.: *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **44**, 239 (2004).
22. Kamimura H., Koga N., Oguri K., Yoshimura H.: *J. Pharmacobiodyn.* **15**, 215 (1992).
23. Allison A. C.: *Methods* **19**, 87 (1999).
24. Lippi G., Targher G., Franchini M.: *Eur. J. Intern. Med.* **2**, 70 (2010).
25. Galmarini C. M., Mackey J. R., Dumontet C.: *Lancet Oncol.* **3**, 415 (2002).
26. Couvreur P., Reddy L. H., Mangenot S., Poupaert J. H., Desmaële D., Lepêtre-Mouelhi S., Pili B., Bourgaux C., Amenitsch H., Ollivon M.: *Small* **4**, 247 (2008).
27. Raouane M., Desmaële D., Gilbert-Sirieix M., Gueutin C., Zouhiri F., Bourgaux C., Lepeltier E., Gref R., Ben Salah R., Clayman G., Massaad-Massade L., Couvreur P.: *J. Med. Chem.* **54**, 4067 (2011).
28. Bui D. T., Nicolas J., Maksimenko A., Desmaële D., Couvreur P.: *Chem. Commun. (Camb.)* **50**, 5336 (2014).
29. Kohno Y., Egawa Y., Itoh S., Nagaoka S., Takahashi M., Mukai K.: *Biochim. Biophys. Acta* **1256**, 52 (1995).
30. Ryu A., Arakane K., Koide C., Arai H., Nagano T.: *Biol. Pharm. Bull.* **32**, 1504 (2009).
31. Ottaviani M., Camera E., Picardo M.: *Mediators Inflamm.* **2010**, Article ID 858176 (2010).
32. Jourdain R., Moga A., Vingler P., el Rawadi C., Pouradier F., Souverain L., Bastien P., Amalric N., Breton L.: *Arch. Dermatol. Res.* **308**, 153 (2016).
33. Chiba K., Kawakami K., Sone T., Onoue M.: *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.* **16**, 242 (2003).
34. Kim S. K., Karadeniz F.: *Adv. Food Nutr. Res.* **65**, 223 (2012).
35. Walker K. A., Knuth M. E., Fong N. M., Beetham P. R.: *US* 8,470,568 (2013).
36. Nishida T., Ninagawa Y., Itoi K., Fujita Y.: *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **56**, 2805 (1983).
37. Del Raye G., Jorgensen S. J., Krumhansl K., Ezcurra J. M., Block B. A.: *Proc. Biol. Sci.* **17**, 280 (2013).
38. Storelli M. M., Ceci E., Storelli A., Marcotrigiano G. O.: *Mar. Pollut. Bull.* **46**, 1035 (2003).
39. Camin F., Bontempo L., Ziller L., Piangiolo C., Morchio G.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **24**, 1810 (2010).
40. Ruivo R., Couto R., Simoes P. C.: *Sep. Purif. Technol.* **59**, 231 (2008).
41. Sun H., Wiesenborn D., Rayas-Duarte P., Mohamed A., Hagen K.: *J. Am. Oil Chem. Soc.* **72**, 1551 (1995).
42. Spanova M., Daum G.: *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **113**, 1299 (2011).
43. Song X., Wang X., Tan Y., Feng Y., Li W., Cui Q.: *J. Agric. Food Chem.* **63**, 8445 (2015).
44. Donald K. A., Hampton R. Y., Fritz I. B.: *Appl. Environ. Microbiol.* **63**, 3341 (1997).
45. Garaiová M., Zambojová V., Simová Z., Griač P., Hapala I.: *FEMS Yeast Res.* **14**, 310 (2014).
46. Athenstaedt K., Jolivet P., Boulard C., Zivy M., Negróni L., Nicaud J. M., Chardot T.: *Proteomics* **5**, 1450 (2006).
47. Valachovic M., Garaiova M., Holic R., Hapala I.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **469**, 1123 (2016).
48. Drozdíková E., Garaiová M., Csáky Z., Obernauerová M., Hapala I.: *Lett. Appl. Microbiol.* **61**, 77 (2015).

M. Garaiová and I. Hapala (*Institute of Animal Biochemistry and Genetics, Centre of Biosciences, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovakia*): **Squalene: From Traditional Medicine to Modern Applications**

Squalene is a natural triterpenoid present virtually in all taxonomic groups. Its use for improving human health is rooted in ancient human history as several Pacific nations consumed the oil from livers of deep-sea sharks with high squalene content to improve their health and extend the life. In addition to the use as nutritional supplement, this molecule finds today many applications in pharmacology and cosmetics, or as a valuable industrial lubricant. Broad application potential of squalene is related to its

physico-chemical characteristics, antioxidant activity and to its ability to interact with cell membranes. The industrial use of squalene is limited by short natural resources. Even today squalene is acquired mainly from shark liver oil; however, this source is no more tenable from the environmental viewpoint. Plant sources (e.g. olives, amaranth seeds) and particularly microbial production are thus gaining importance as promising alternatives for extended industrial use of squalene.

Keywords: squalene, isoprenoid, applications, natural resources, biotechnological production