

Inovace studia molekulární a buněčné biologie reg. č. CZ.1.07/2.2.00/07.0354

Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Investice do rozvoje vzdělávání

ZTOX / Základy Toxikologie

ce do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Investice do rozvoje vzdělávání

Biotransformace a její regulace

Radim Vrzal

ce do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Investice do rozvoje vzdělávání

Rozdělení biotransformace

Typy reakcí v jednotlivých fázích

Cytochrom P450, Fáze biotransformace

ce do rozvoje vzdělávání

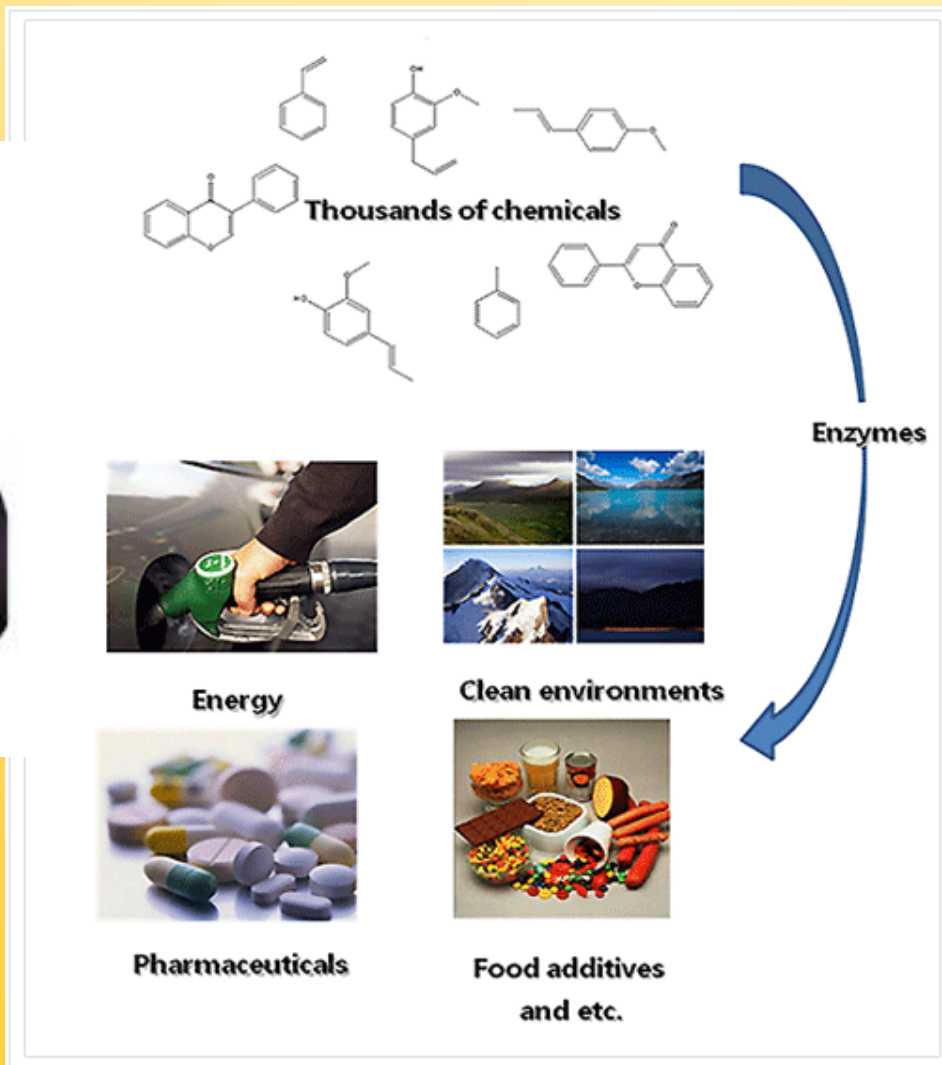


MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Biotransformace a její regulace



Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Základní členění

Účinek působení škodliviny je dán rozsahem metabolismu.

Několik rodin enzymů se širokou substrátovou specifitou.

Většina metabolismu xenobiotik = **játra, střevo**, plíce, kůže

Fáze I – zpolarizování sloučeniny (oxidace, redukce, hydrolýza ... - cytochromy P450, flavin obsahující monooxygenasy, reduktasy, hydrolasy, atd.)

Fáze II – vazba s endogenním substrátem (glukuronidasy, sulfotransferasy, methyltransferasy, atd.)
- Fáze I + II – deaktivace i aktivace (reaktivní intermediáty)

„Fáze III“ – transport ven z buňky (P-glykoprotein, OATPs, OCTs)

(„Fáze 0“ – transport dovnitř buňky)

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



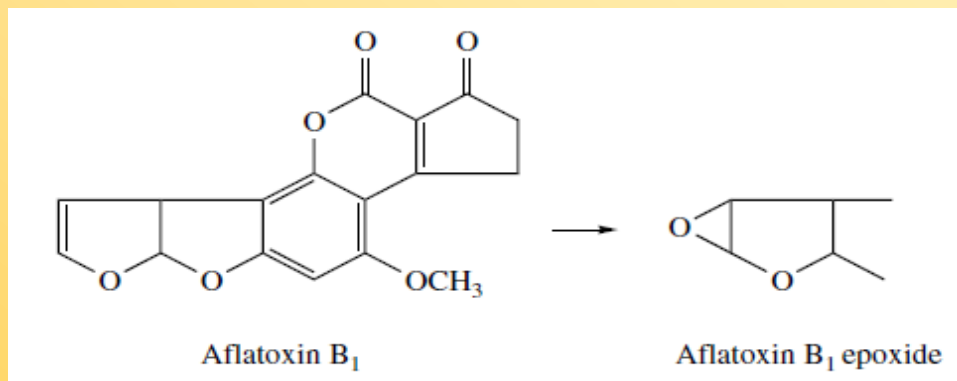
OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

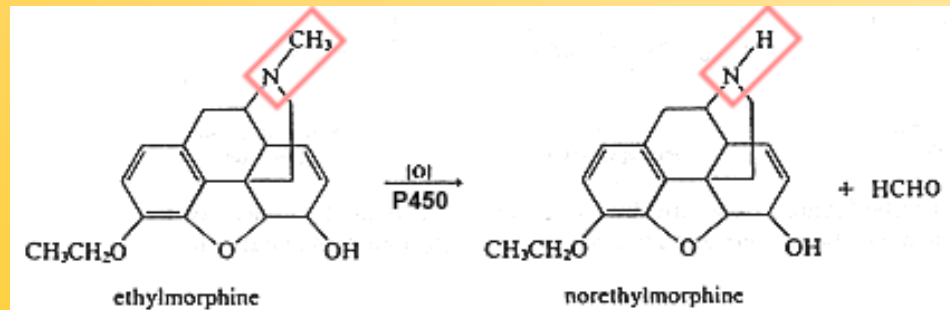
Reakce fáze I.

-Zavedení / odkrytí polární skupiny

-Epoxidace/hydroxylace – benzo(a)pyren (produkt spalování),
aflatoxin B1 (mykotoxin)



-Dealkylace – **ethylmorphine** (opiátové analgetikum), p-nitroanisol
(barviva)



Investice do rozvoje vzdělávání



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



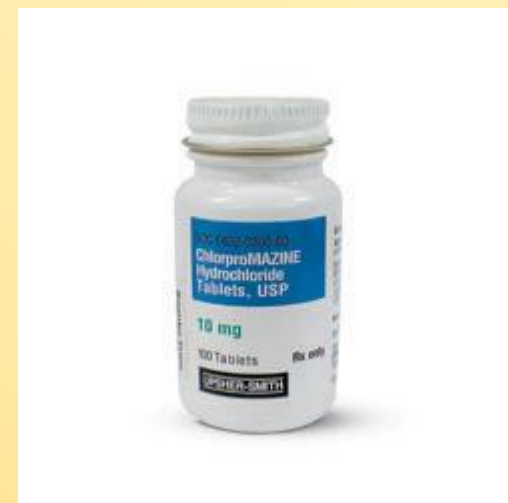
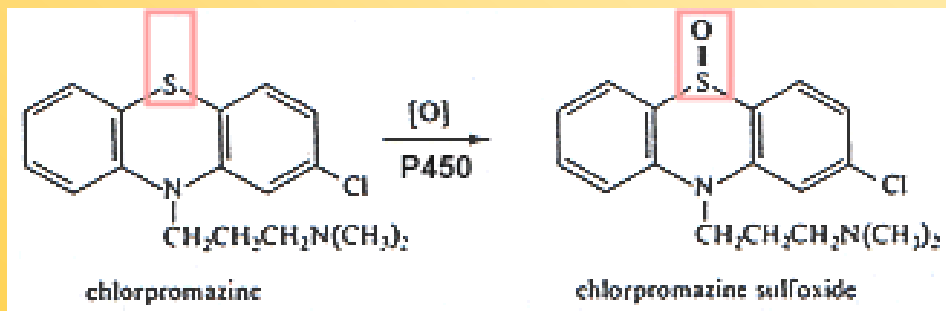
OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

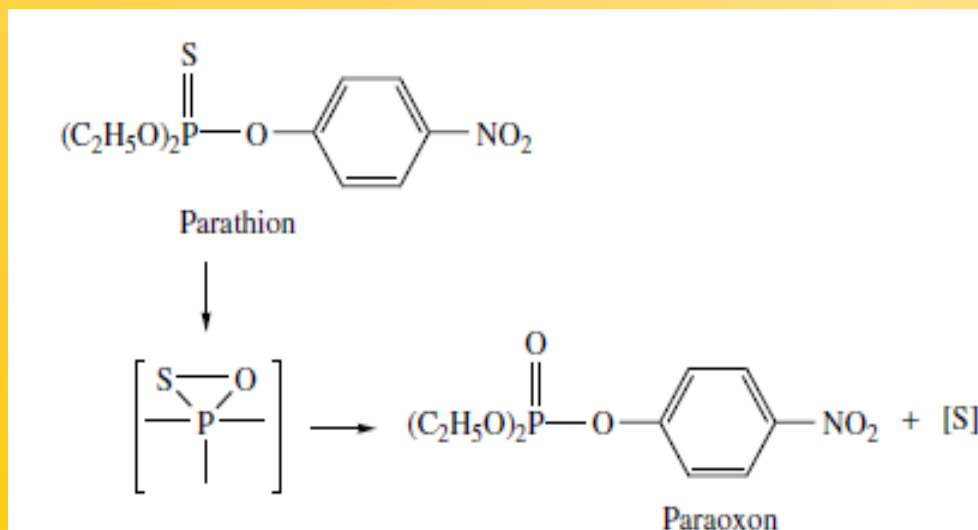
Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Reakce fáze I.

-Oxidace – **chlorpromazin** (neuroleptikum)



-Desulfurace – **parathion** (insekticid), sirouhlík (na výrobu kaučuku, celofánu)



Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Reakce fáze I.

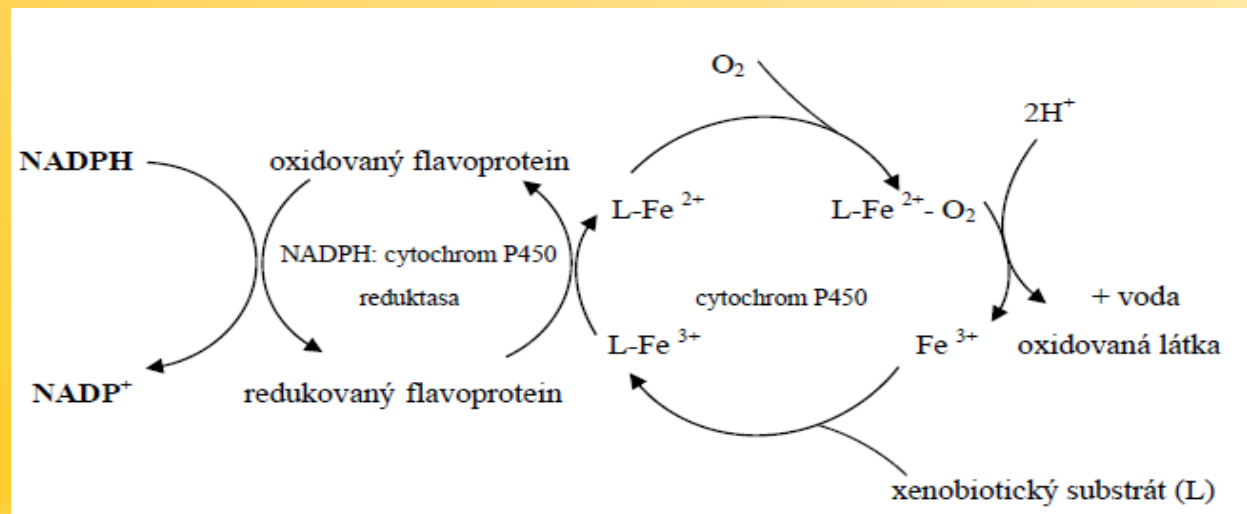
Cytochromy P450 – pigment

- absorpce při 450nm ve vazbě s CO
- Protein + Hem

- reakce:



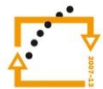
- Monooxygenace – dříve „oxidace se smíšenou funkcí“
- Většina tkání – játra, střevo, plíce - kotvený v ER (**mikrosomech**)
- Nutná komponenta - reduktasa



Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



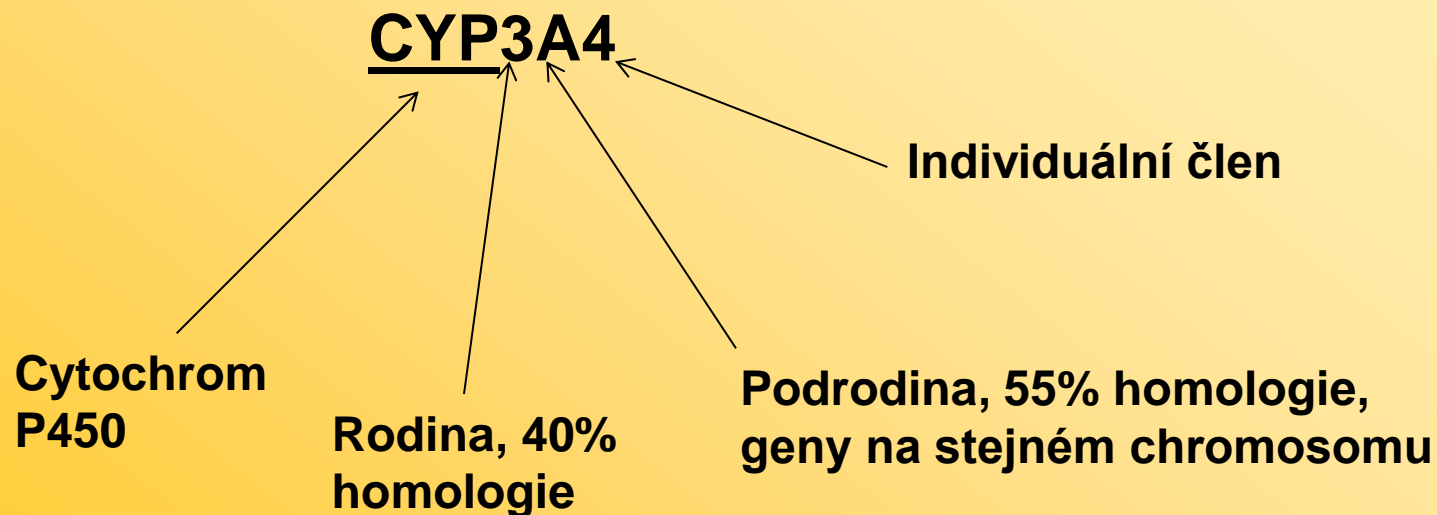
OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Reakce fáze I.

Klasifikace / Nomenklatura P450 – podobnost v AK sekvenci



Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Reakce fáze I.

P450	Drugs	Carcinogens/Toxicants/ Endogenous Substrates	Diagnostic Substrates In vivo [In vitro]
1A1	Verlukast (very few drugs)	Benzo(a)pyrene, dimethylbenz(a)anthracene	[Ethoxyresorufin, benzo(a)pyrene]
1A2	Phenacetin, theophylline, acetaminophen, warfarin, caffeine, cimetidine	Aromatic amines, arylhydrocarbons, NNK, ³ aflatoxin, estradiol	Caffeine, [acetanilide, methoxyresorufin, ethoxyresorufin]
2A6	Coumarin, nicotine	Aflatoxin, diethylnitrosamine, NNK ³	Coumarin
2B6	Cyclophosphamide, ifosfamide, nicotine	6 Aminochrysene, aflatoxin, NNK ³	[7-ethoxy-4-trifluoro- methyl coumarin]
2C8	Taxol, tolbutamide, carbamazepine	—	[Chloromethyl fluorescein diethyl ether]
2C9	Tienilic acid, tolbutamide, warfarin, phenytoin, THC, hexobarbital, diclofenac	—	[Diclofenac (4' -OH)]
2C19	S-Mephenytoin, diazepam, phenytoin, omeprazole, indomethacin, impramine, propanolol, proguanil	—	[S-Mephentoin (4' -OH)]
2D6	Debrisoquine, sparteine, bufuralol, propanolol, thioridazine, quinidine, phenytoin, fluoxetine	NNK ³	Dextromethorphan, [bufuralol (4' -OH)]
2E1	Chlorzoxazone, isoniazid, acetaminophen, halothane, enflurane, methoxyflurane	Dimethylnitrosamine, ben- zene, halogenated alkanes (eg, CCl ₄) acylonitrile, alcohols, aniline, styrene, vinyl chloride	Chlorzoxazone (6-OH), [p-nitrophenol]
3A4	Nifedipine, ethylmorphine, warfarin, quinidine, taxol, ketoconazole, verapamil, erythromycin, diazepam	Aflatoxin, 1-nitropyrene, benzo(a)pyrene 7,8-diol, 6 aminochrysene, estradiol, progesterone, testosterone, other steroids, bile acids	Erythromycin, nifedipine [testosterone (6-β)]

- 18 rodin u savců
- jen rodiny 1-3
metabolizují
xenobiotika

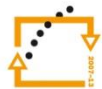
<http://drnelson.uths.c.edu/CytochromeP450.html>

<http://www.icgeb.trieste.it/p450>

Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

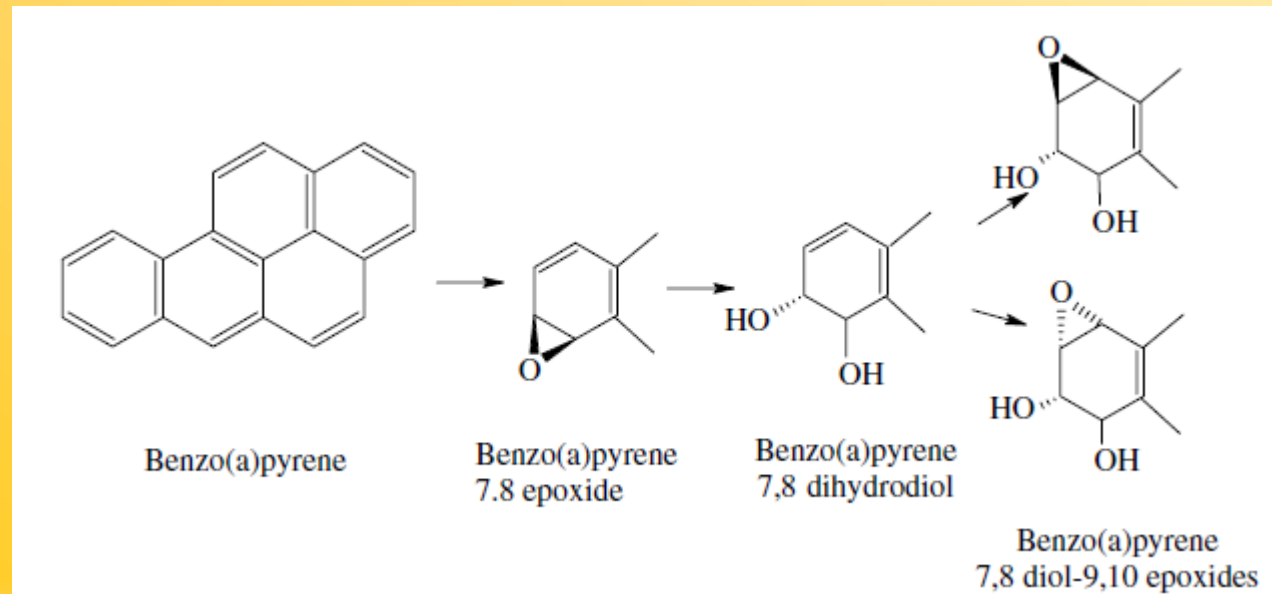
Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Reakce fáze I.

Rodiny CYPů v metabolismu xenobiotik

CYP1 – CYP1A1/1A2/1B1

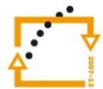
- 1A1/2 – překrývající se substrátové specifity – aktivace prokarcinogenů
- 1A1 – extrahepatální enzym – plíce, prsa
- 1A2 – jaterní enzym
- indukce exprese polyaromatickými aryluhlovodíky (PAH), dioxiny přes Aryluhlovodíkový receptor (AhR)



Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

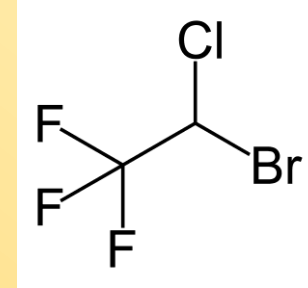
INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

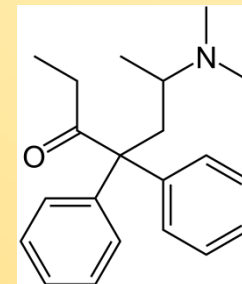
Reakce fáze I.

Rodiny CYPů v metabolismu xenobiotik

- **CYP2** – 10 podrodin
 - **2A6** – převážně játra
(**halothan** – inhalační anestetikum;
nikotin – asociace s kouřením)



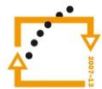
- **2B6** – játra – vysoká variabilita mezi jedinci (**methadon** – syntetický opiát,
cyclophosphamide – alkylační cytostatikum)



Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Reakce fáze I.

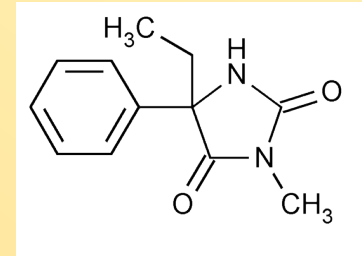
Rodiny CYPů v metabolismu xenobiotik

2C8, 2C9, 2C19 – játra cca 20 % - role

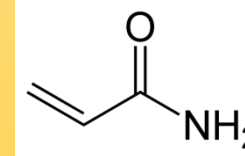
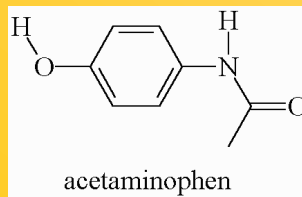
polymorfismu – **PM = poor metabolizers**

– cca 3-5 % běloši, 12-23 % Asiaté

(**mephenytoin** – antikonvulzivum)



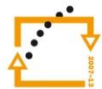
- 2E1 - regulace zvýšenou stabilitou mRNA a proteinu (ethanol, **acetaminophen, akrylamid**)



Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

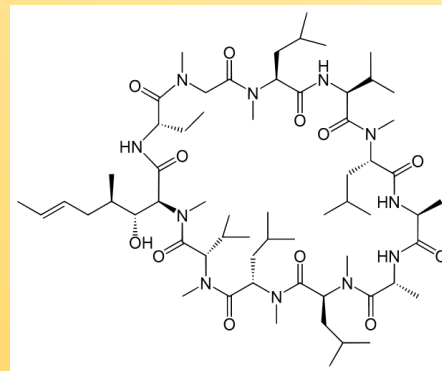
INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Reakce fáze I.

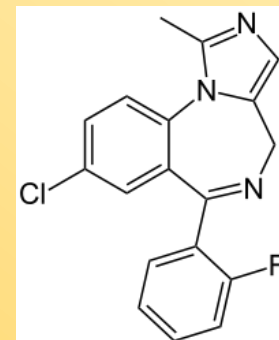
- **CYP3** - regulace převážně skrz pregnanový X receptor (PXR)
- 3A4 – cca 30%, metabolizace cca 50-60% léčiv

(**cyklosporin A** –
imunopresivum;



digitoxin – srdeční selhání;
midazolam – antikonvulzivum, anxiolytikum;
tamoxifen – rakovina prsu)

➔ nutnost testovat na mezi-lékové interakce (drug-drug interactions)



Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

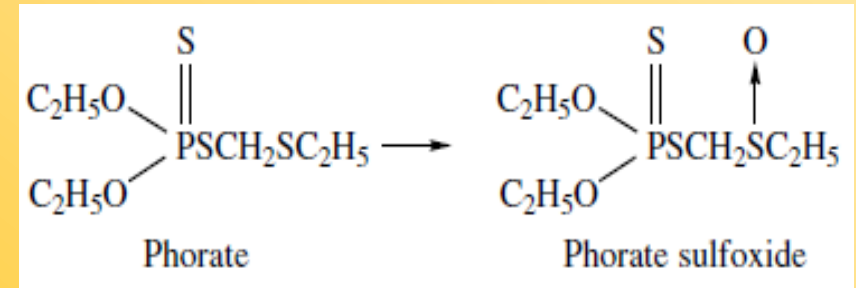
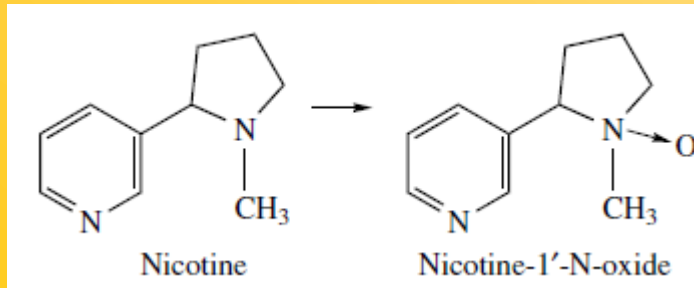
INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Reakce fáze I.

Flavin obsahující monooxygenasy (FMO)

- závislé na NADPH a O₂
- 6 isoformem – FMO1- 6, cca 82% podobnost mezi orthology
- některé ztrácí expresi v dospělosti (FMO1)
- nejvíce zastoupená isoforma FMO3 – nezávislá na pohlaví (na rozdíl od jiných druhů) – některé polymorfismy zodpovědné za „**fish odor syndrome**“ – neschopnost metabolizovat trimethylamin na N-oxid
- látky obsahující nukleofil – vhodný substrát (chlorpromazine, tamoxifen, nicotine)



- **FMO jsou termolabilní** – možnost odlišení CYP vs. FMO aktivity

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Reakce fáze I.

Nemikrosomální oxidace

- mitochondrie, cytoplasma

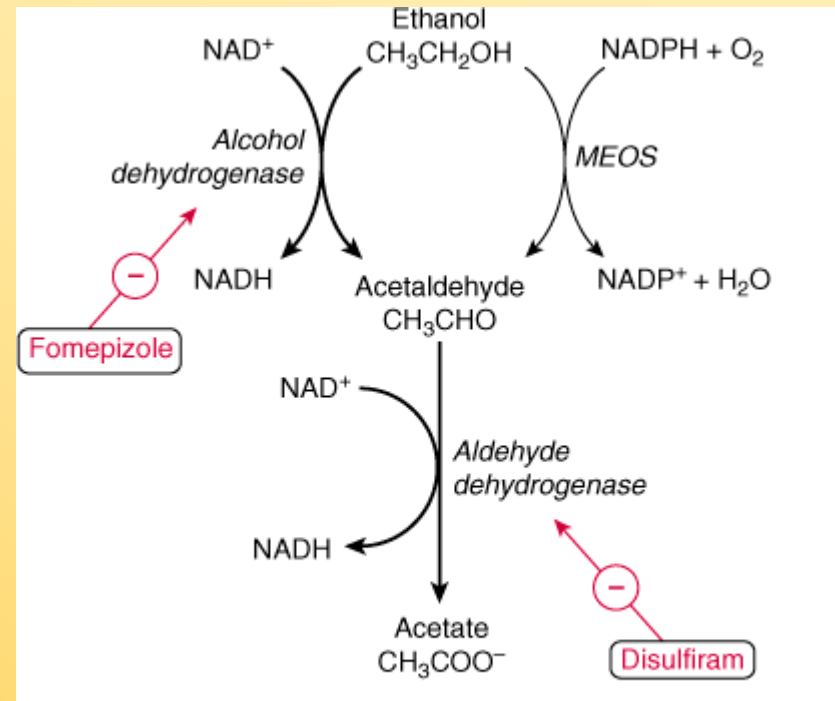
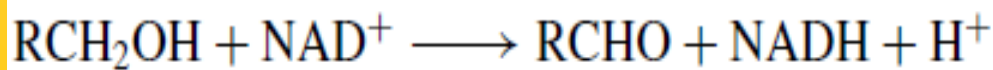
- Alkohol dehydrogenáza
(EC 1.1.1.1)

- reakce je reversibilní

- játra, ledviny, plíce

- dimer, může použít NAD⁺
nebo NADP⁺ (pomalejší)

- inhibice heterocykly (pyrazol, imidazol)



Source: Katzung B.G, Masters SB, Trevor AJ: *Basic & Clinical Pharmacology*, 11th Edition: <http://www.accessmedicine.com>

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.



Investice do rozvoje vzdělávání



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Reakce fáze I.

Nemikrosomální oxidace



- Aldehyd dehydrogenáza (EC 1.2.1.3)

- aldehydy – tvorba z intermediálního metabolismu (biogenní aminy, lipidy)
- inhibitor Disulfiram (Antabus)
- často toxický účinek – elektrofilní sloučeniny



- lidé – 16 genů + 3 pseudogeny
- polymorfismus aldehyd dehydrogenasy 2 – „**flushing syndrome**“ – u Asiatů (červenání v obličeji, tlukot srdce, kocovina)



- Xanthin oxidáza – obsahuje Mo

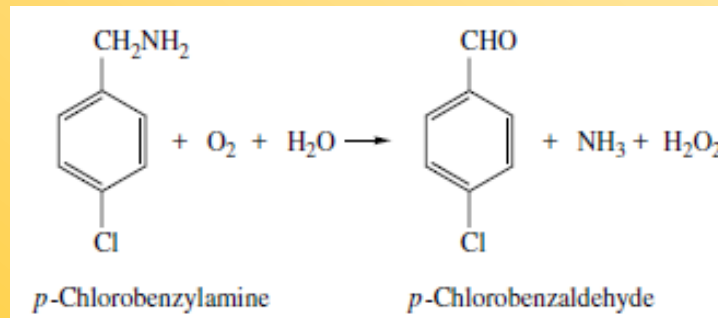
Reakce fáze I.

Nemikrosomální oxidace

- Amin oxidázy

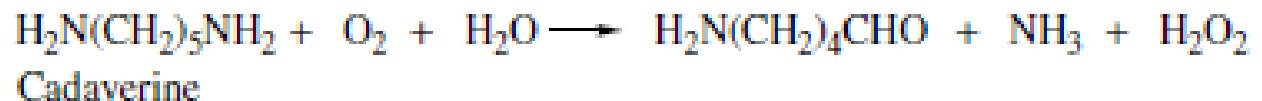
- Monoamin oxidázy (MAO) – játra, mozek, ledviny, střeva, destičky

- CNS – turnover neurotransmiterů



- Diamin oxidázy – játra, ledviny, placenta

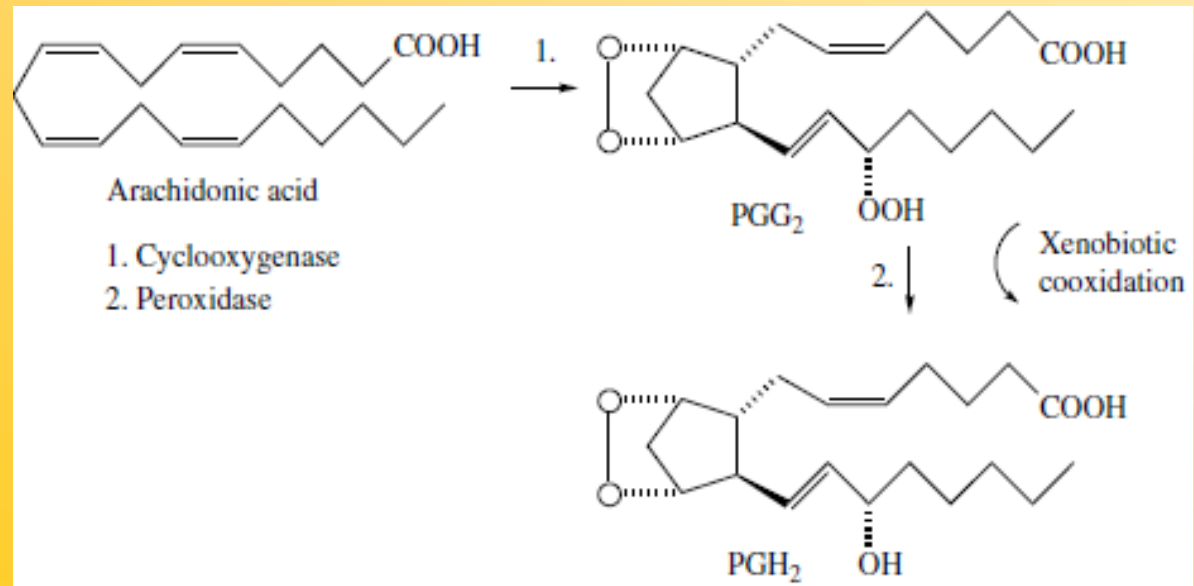
- pyridoxal fosfát obsahující proteiny s mědí



Reakce fáze I.

Cyklooxygenázy (kooxidace)

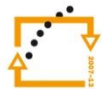
- **prostaglandin H syntáza (PHS, COX)** – plíce, ledviny (mikrozomy)
 - glykoprotein – obsahuje hem
 - 2 formy – COX-1 (housekeeping) / COX-2 (inducibilní, při zánětech)
 - v tkáních s nízkým CYP je vysoká exprese COX → karcinogenicita aromatických aminů



Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

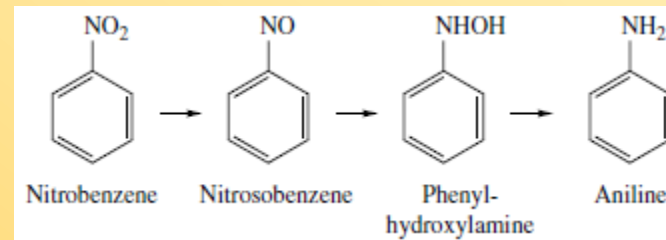
INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

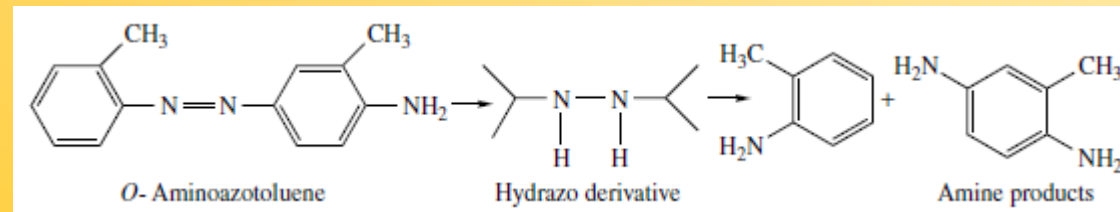
Reakce fáze I.

Redukční reakce

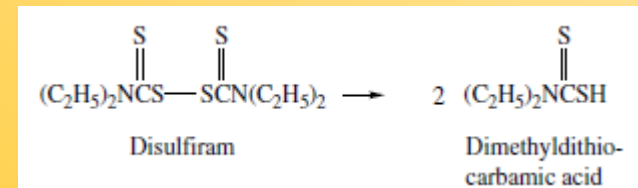
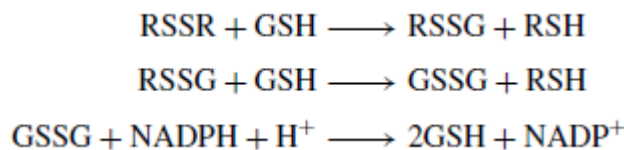
- Nitro redukce – některé bakteriální mikroflórou, enzymaticky (CYP) i neenzymaticky



- Azo redukce – anaerobní podmínky a NADPH, bakteriální mikroflóra



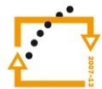
- Disulfidové redukce – mnoho reakcí víceúrovňových, poslední reakce katalyzovaná glutathion reduktasou s GSH jako kofaktorem



Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

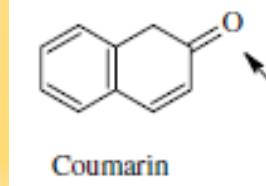
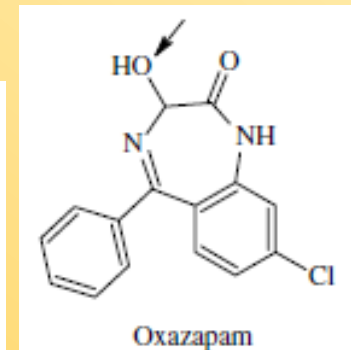
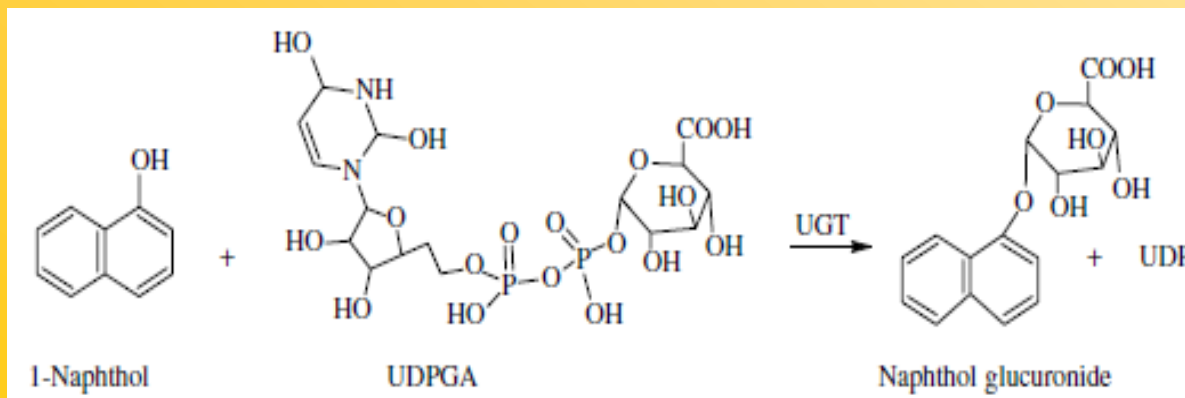
Reakce fáze II.

Konjugace produktů fáze I. s endogenními látkami

- cukry, aminokyseliny, glutathion, sulfát, etc.
- polárnější, méně toxické, snazší urinární exkrece

Glukuronidace

- reakce s uridin 5'-difosfoglukuronovou kyselinou (UDPGA)
- absolutní požadavek – ostatní UDP-cukry nestačí
- katalýza UDP-glukuronosyl transferázou (UGT) – mikrozomy jater, ledvin, střeva



Reakce fáze II.

Glukuronidace

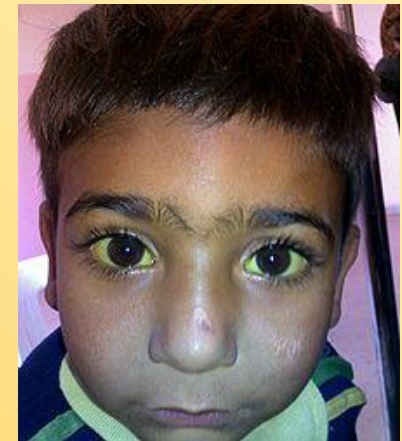
- **produkty méně chemicky a biologicky aktivní**
- vyjimka: N-hydroxy-2-acetylaminofluoren – neschopen vazby na DNA bez metabolismu – po glukuronidaci – hepatocarcinogen
- **substráty**: NSAIDs, hypolipemická léčiva (clofibrate), antikonvulziva (kys.valproová)

-2 rodiny

- **UGT1** - enzymy vzniklé alternativním splicingem (sdílené exony 2-5) – 9 isoenzymů

- **UGT2** - produkty rozdílných genů - glukuronidace steroidů, žlučových kyselin – 10 isoenzymů

- pouze **UGT1A1 konjuguje bilirubin** – nedostatek či inhibice alternativním substrátem (**ethinyl estradiol**) → **žloutenka** (bilirubin > 35 μ M v krvi)



Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

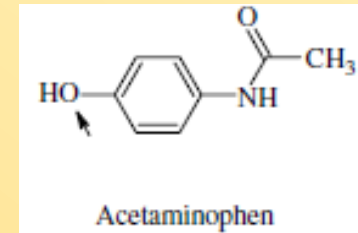
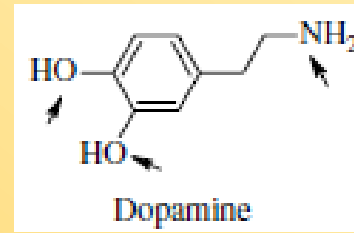
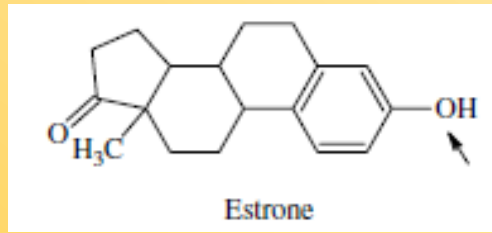
INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Sulfatace

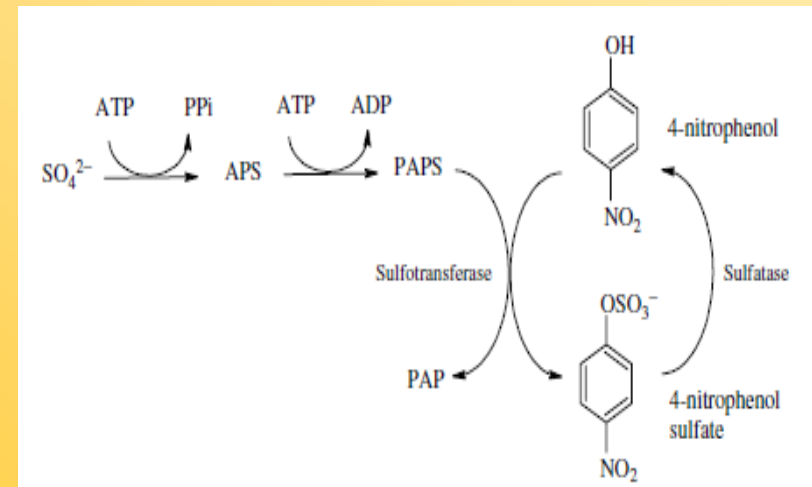
Reakce fáze II.

- sulfotransferasy (SULTs), sulfatasy
- hormony (testosteron, T3), katecholaminy, alkoholy, arylaminy



- energeticky náročné – 2 ATP pro syntézu **PAPS (3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate)**
- nejen inaktivace ale i vznik reaktivních produktů (1-hydroxysafrole)

- 4 rodiny – cytosolické enzymy
- phenol SULTs (**SULT1**)
- hydroxysteroid SULTs (**SULT2**)
- **SULT4A1**, **SULT6B1**
- Široká tkáňová distribuce



Investice do rozvoje vzdělávání



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

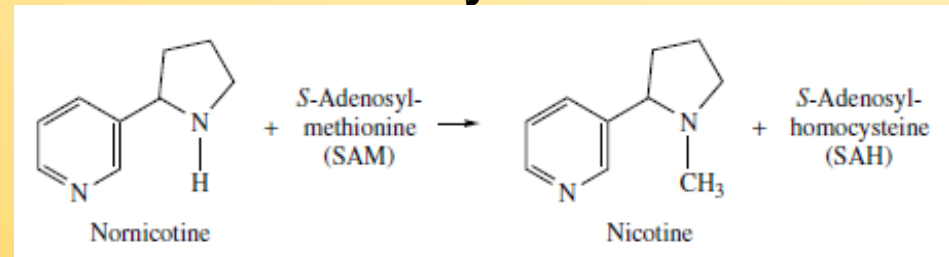
Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Methylace

Reakce fáze II.

- methyltransferázy – dárce CH_3 - skupiny je **S-adenosyl methionin (SAM)**

- N-methyltransferázy – nikotinamid N-methyltransferáza



- O-methyltransferázy – katechol-O-methyltransferáza (COMT) – vyžaduje SAM a Mg^{2+} - methylace adrenalinu a noradrenalinu – játra, ledviny – cytosolická, membránově vázaná forma

- **S-methyltransferázy** – thiopurine S-methyltransferázy - mikrosomální enzym - 6-merkaptopurin (imunopresivum)

Biomethylace prvků



- pomocí mikroorganismů - environmentální toxikologie – methylace kovů zvyšuje dostupnost v živých systémech - enzymy – využívají SAM nebo B12 – Pb, Sn, Tl

Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

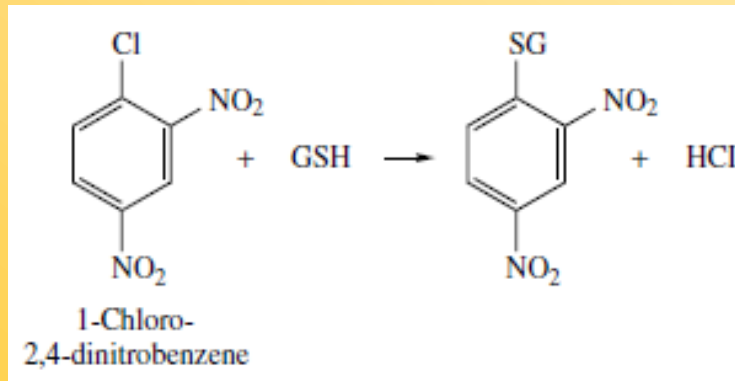
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Reakce fáze II.

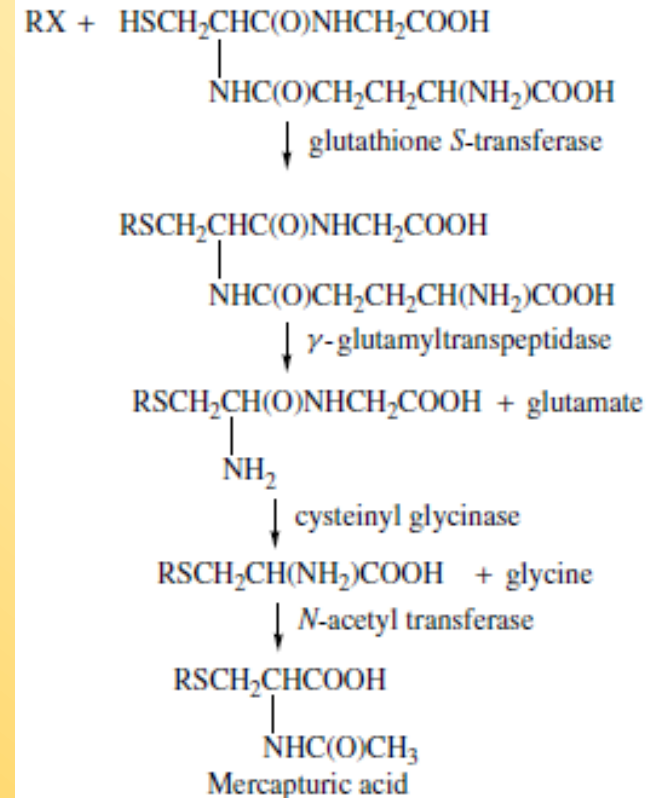
Glutathion-S-transferázy (GSTs)

- konjugace elektrofilního substrátu s glutathionem (GSH)



- 3 rodiny - cytosolická (savčí – dimery)
- mitochondriální
- mikrosomální

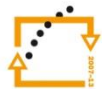
- **buněčná ochrana před oxidačním stresem**
- distribuce - játra, ledviny, mozek
- substráty GST - epoxidy, estery, peroxidy



Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

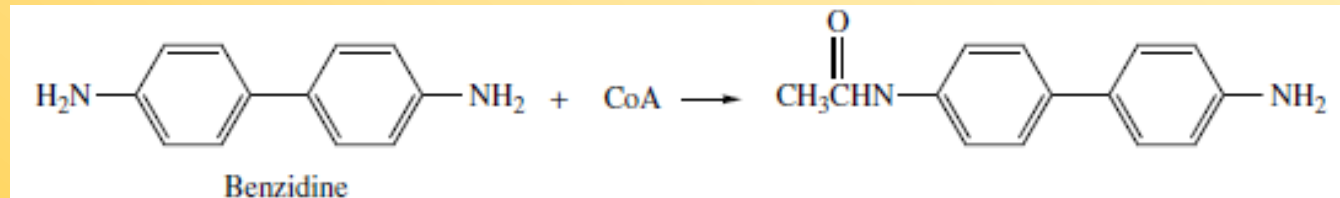
INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

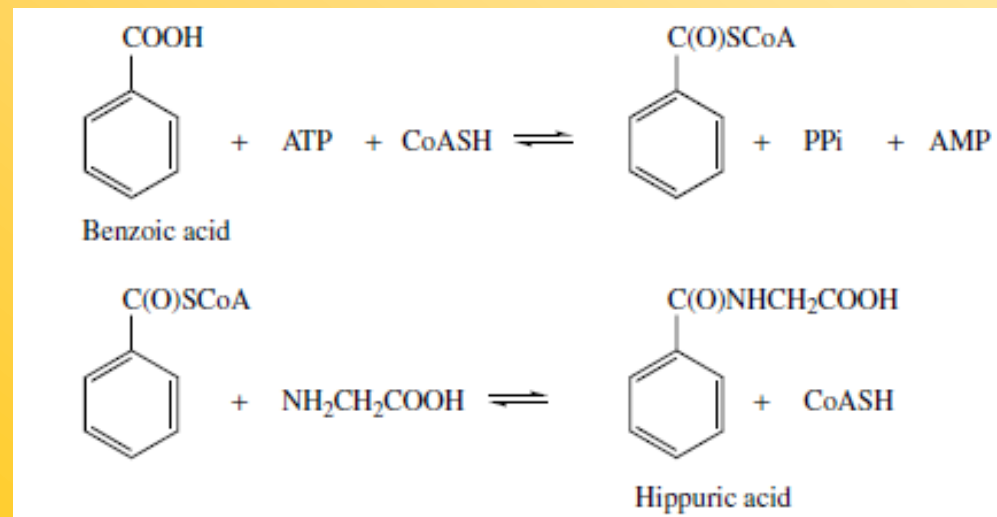
Reakce fáze II.

Acetylase (arylamine N-acetyltransferases)

- 2 typy reakcí – detoxifikace - pomocí **koenzymu A (CoA)**, N-acetylase (benzidine – barviva)



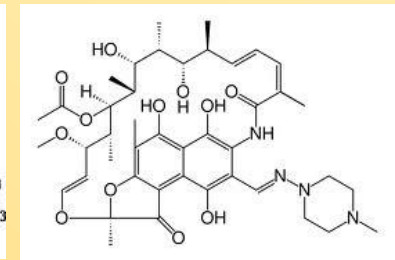
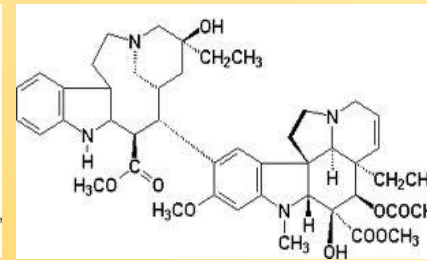
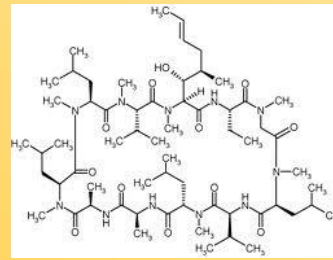
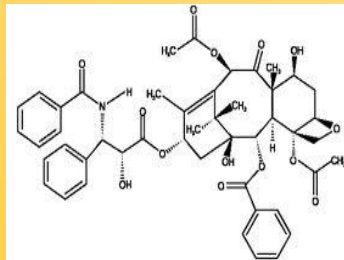
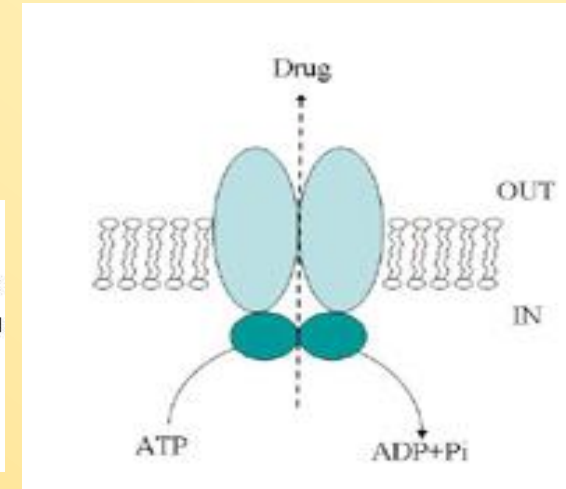
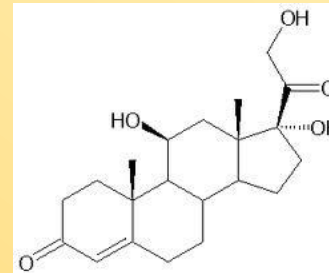
- **aktivace cizí struktury a následná acylace aminokyselinou (O-acetylase) – 3-nitrobenzantrone (výfukové plyny)**



Fáze III.

Transmembránový přenos

- **P-glycoprotein (MDR1)** – transport rozličných sloučenin vně buňku (ATP-dependent) – cortisol, paklitaxel, cyklosporin A, vinblastin, rifampicin

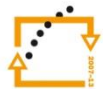


- **OATPs** (Organic anion transporting polypeptides) – transport amfipatických rozpouštědel – žlučové soli, organická barviva, thyroïdní hormony - BBB, plíce, srdce, střevo
- **OCTs** (Organic cation transporters) – malé organické kationty – tetramethylamonium, cholin, dopamin, serotonin
- játra

Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

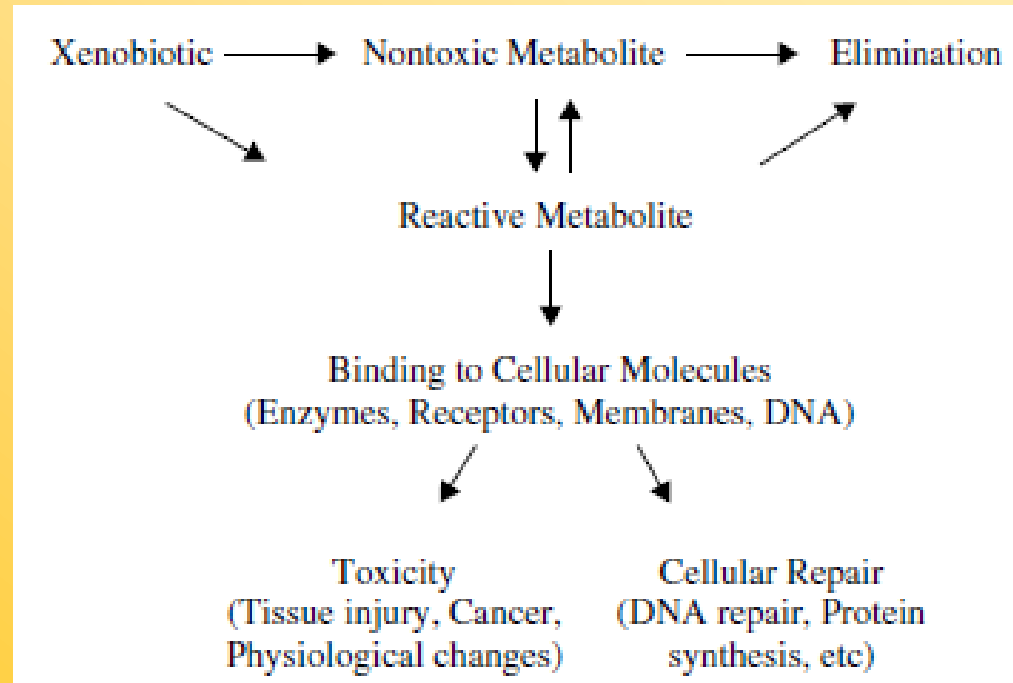
Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Reaktivní metabolity

- Interakce s buněčnými cíli → toxický účinek
- 40. a 50. léta 20.století – důkaz konverze – reaktivní metabolity azo barviva DAB (*N,N*-dimethyl-4-aminoazobenzen) – hepatokarcinogen – vazba na proteiny a nukleové kyseliny

= elektrofilní sloučeniny (v těle reagují s nukleofily – proteiny, nukleové kyseliny, GSH), volné radikály

- Cesta aktivace je většinou minoritní



Reaktivní metabolity II.

Parentální sloučenina (**prokarcinogen**)

Ultimátní karcinogen/toxický metabolit

Aktivační enzymy

- tkáňově-specifická toxicita
- inducibilita

Type of Reaction	Enzyme
Oxidation	Cytochrome P450s Prostaglandin synthetase Flavin-containing monooxygenases Alcohol and aldehyde dehydrogenases
Reduction	Reductases Cytochromes P450 Gut microflora
Conjugation	Glutathione transferases Sulfotransferases Glucuronidases
Deconjugation Hydrolysis	Cysteine <i>S</i> -conjugate β -lyase Gut microflora, hydrolyses

Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Reaktivní metabolity III.

- S krátkou dobou života – vazba na parentální enzym – „sebevražené substráty“ – tienilová kyselina
- Se střední dobou života – zůstávají v buňce – kovalentní modifikace buňky = lokalizované tkáňové poškození
- S dlouhou dobou života- transport do jiných částí těla (aromatické aminy – metabolisace v játrech a transport do močového měchýře kde dochází k uvolnění v důsledku kyselosti moče)

Faktory ovlivňující toxicitu reaktivních metabolitů

- hladina aktivačního enzymu – indukce vlastního metabolitu (PAH)
- hladina konjugačního enzymu
- hladina kofaktorů či konjugačních sloučenin – N-acetylcystein

Investice do rozvoje vzdělávání



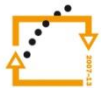
evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

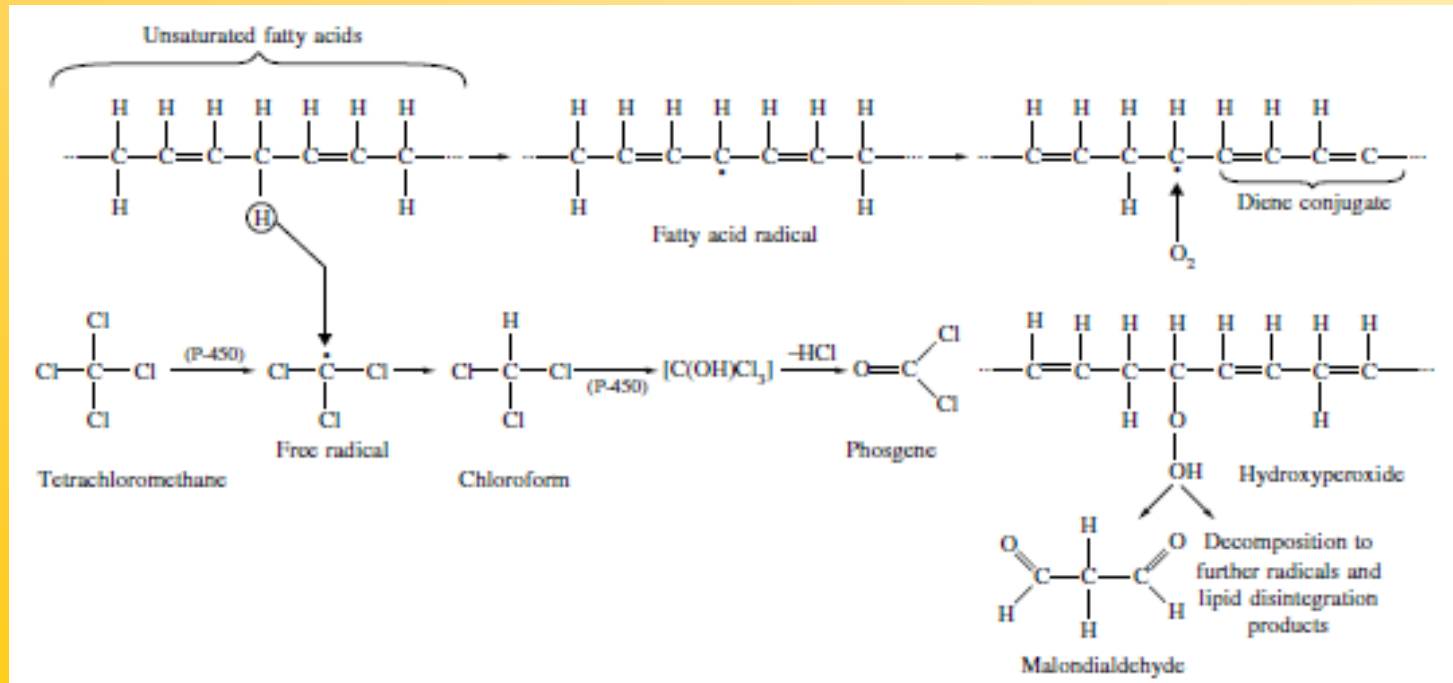
INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Reaktivní metabolity III.

Osud metabolitů

- vazba na makromolekuly
- peroxidace lipidů
- uvěznění a odstranění – rovnováha přísunu a odstranění toxikantu – protektivní role GSH



Investice do rozvoje vzdělávání



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



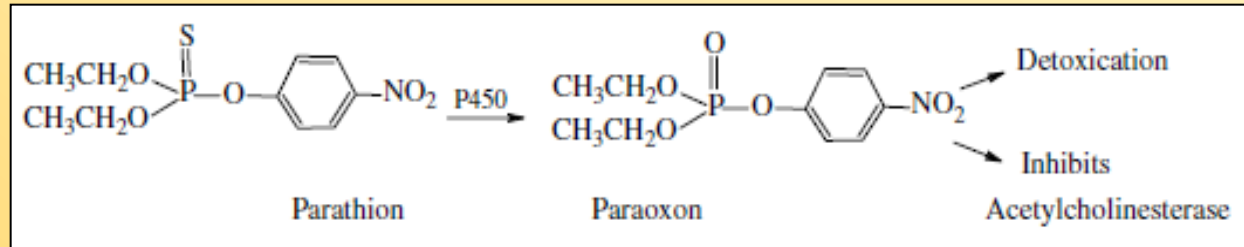
OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

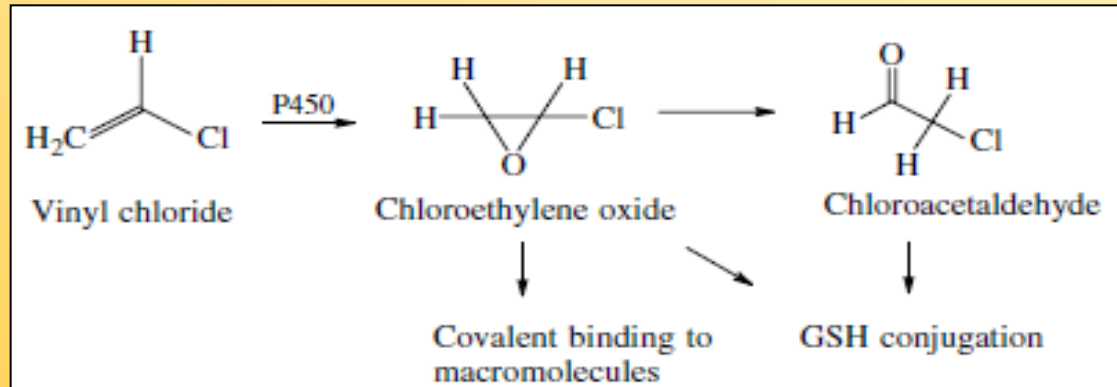
Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Reaktivní metabolity IV.

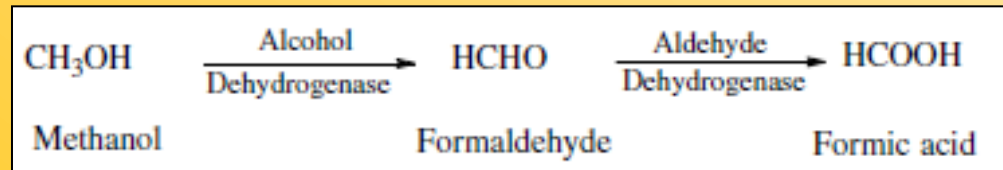
**Parathion –
pesticid,
sebevražedný
substrát**



**Vinyl chlorid -
sebevražedný
substrát,
karcinogen**



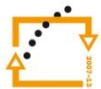
**Methanol – akumulace formaldehydu vede ke
slepotě, příležitostně k smrti v důsledku acidosis,
protijed = etanol**



Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



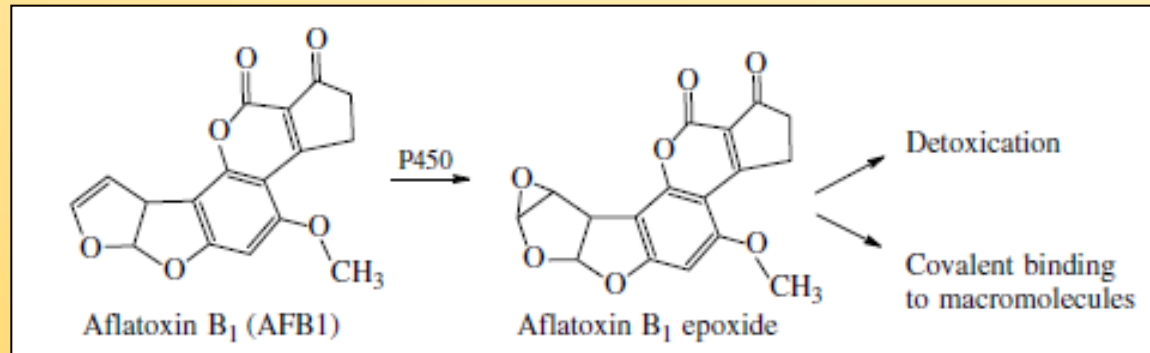
OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

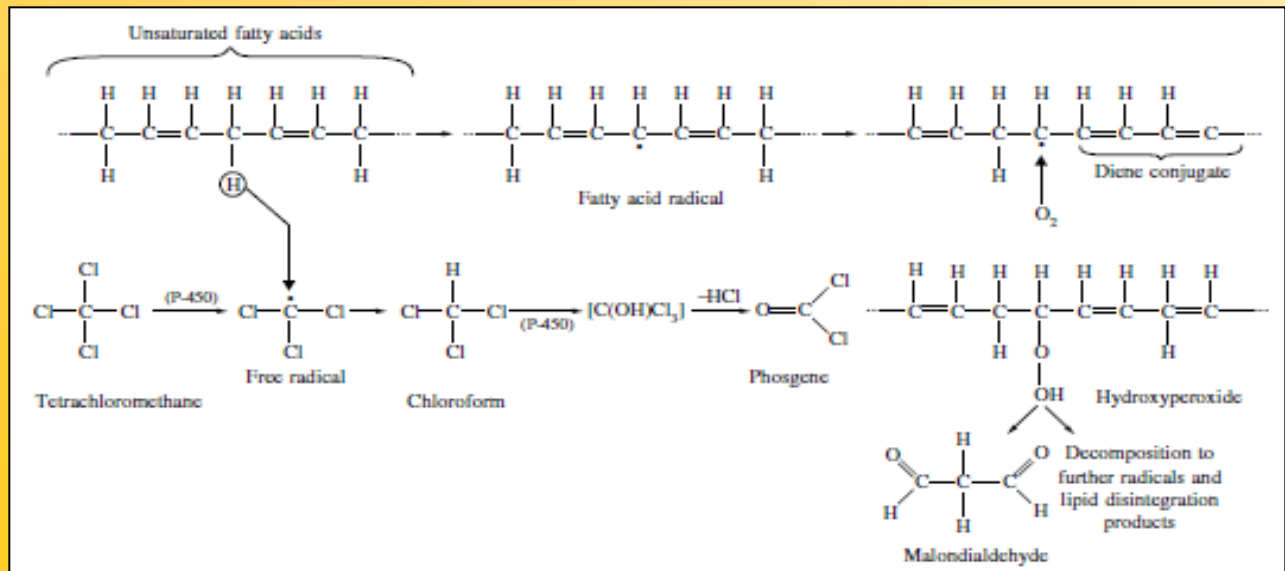
Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Reaktivní metabolity V.

Aflatoxin B1 – hepatokarcinogen, toxicita se liší mezi druhy



Chloroform – způsobuje akumulaci tuků a jaterní nekrosu



Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



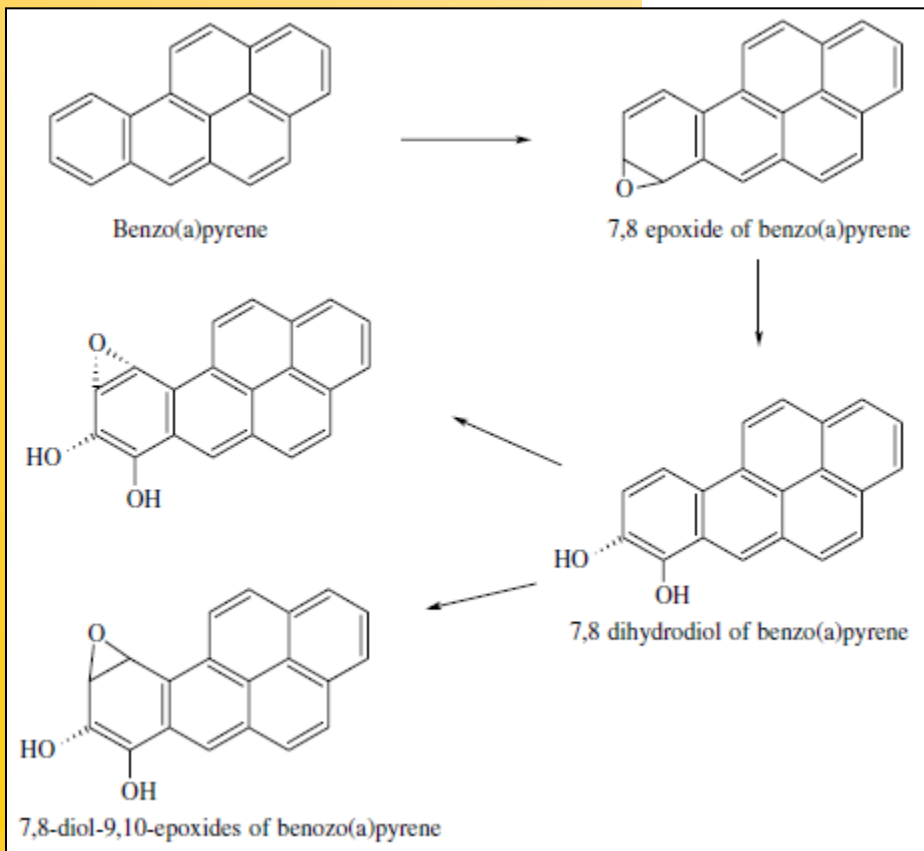
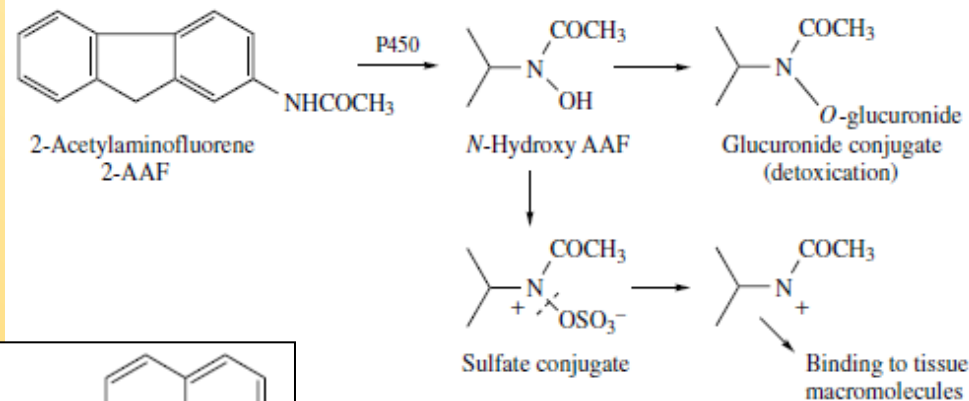
OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Reaktivní metabolity VI.

**Acetylaminofluoren –
eliminace jako glukuronid,
aktivace jako sulfát**

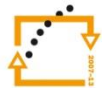


**Benzo(a)pyren –
cigaretový kouř,
produkt nekompletního
spalování, aktivace přes
CYP1A1 a
epoxidasovou
hydrolasu**

Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

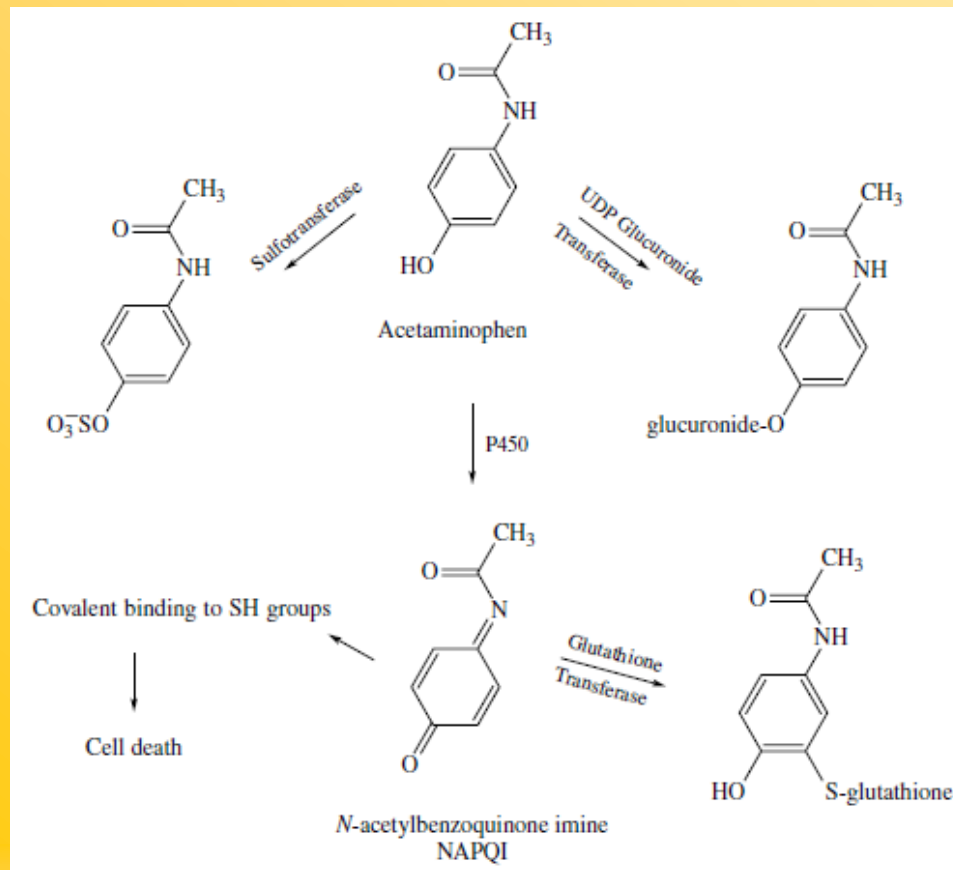
INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Reaktivní metabolity VII.

Acetaminofen – (paracetamol) –
deplece PAPS, UDPGA při vysokých dávkách → toxicita

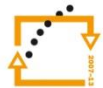
Zvýšená bioaktivace pomocí **CYP2E1** u alkoholiků !!!



Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



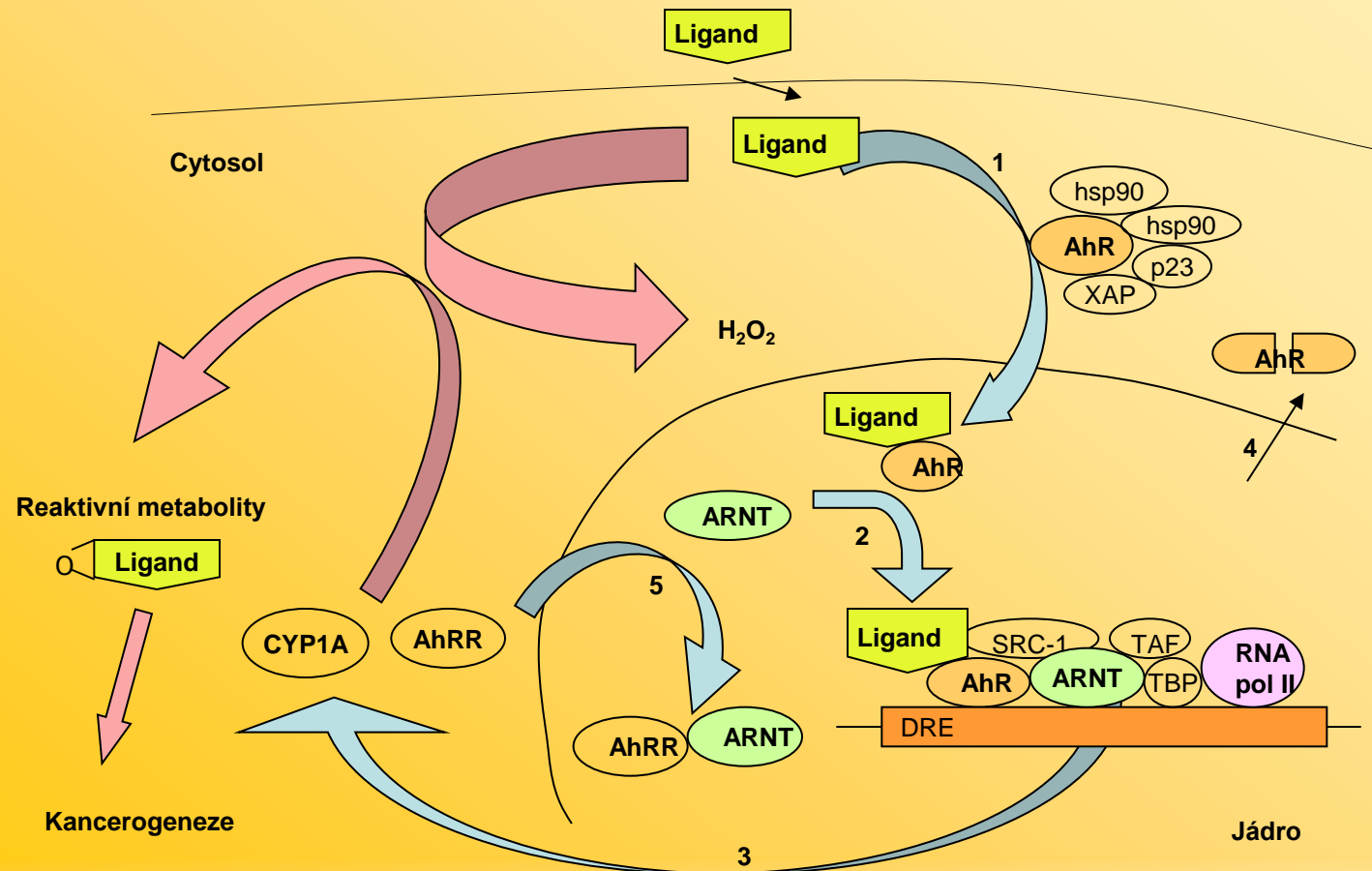
OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Regulace enzymů biotransformace

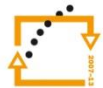
- zvýšením transkripce (ligandem aktivované transkripční faktory) – **PXR (pregnane X receptor)**, **AhR (aryluhlovodíkový receptor)**, **konstitutivní androstanový receptor (CAR)** – CYP1A, CYP3A, UGT, GST, MDR1....



Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Regulace enzymů biotransformace II.

- polymorfismus

- **CYP2D6** – 8% bělochů – autosomálně recesivní znak – „poor metabolizers“ – nebezpečí u podávaných léčiv; >20 mutací známo

- ztráta, abnormální, normální, zvýšená enzymová aktivita

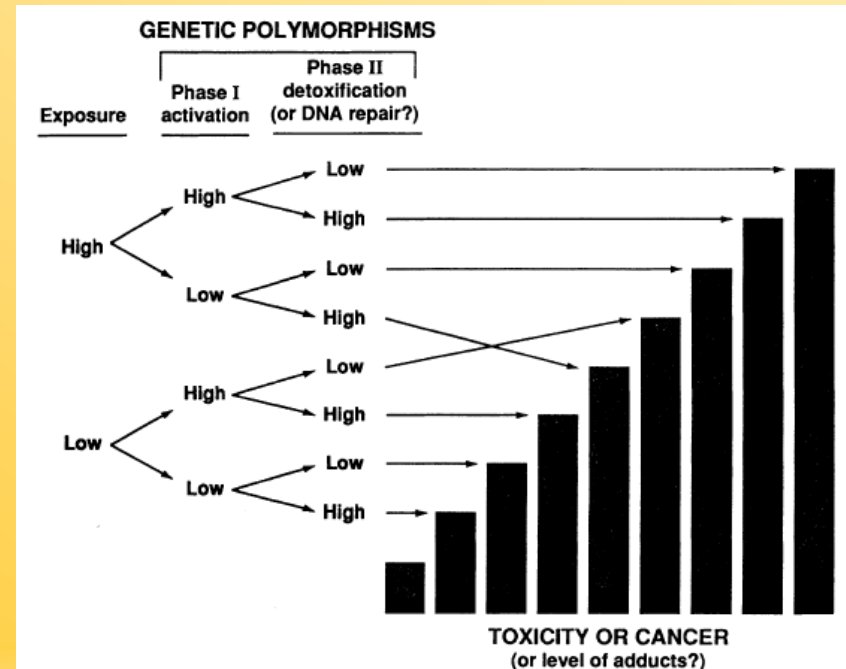
- nepřítomnost proteinu či syntéza nefunkčního

- kompletní delece genu či jen delece nukleotidu s následkem posunu čtecího rámce

- **CYP2C19, 2C9**

- stabilita mRNA či proteinu

- **CYP2E1** – transkripčně (aceton, alkohol) ale i stabilizací – vazba enzymu se substrátem → stabilita proteinu



Ovlivnění metabolismu xenobiotik

Stravovací návyky I

- **Proteiny** - nízkoproteinová dieta – snížení monooxygenasové aktivity u kryš - výhoda – např. dimethylnitrosamine - netoxický
 - nevýhoda – např. strychnin – více toxický

- **Sacharidy** – vysokosacharidová dieta = podobné účinky jako nízkoproteinová u kryš



- **Lipidy** – deficit v linoleové kyselině či jiných nenasycených = redukce monooxygenasové aktivity
- **Mikronutrienty** – deficit vitamínů přináší pokles monooxygenasové aktivity (Riboflavin – pokles P450 reduktasy, nárůst P450; vitamin C – deficit vede k poklesu P450 u morčat; deficit A a E – pokles monooxygenasové aktivity; thiamin – nárůst; Co, Mn, Pb – pokles P450)



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

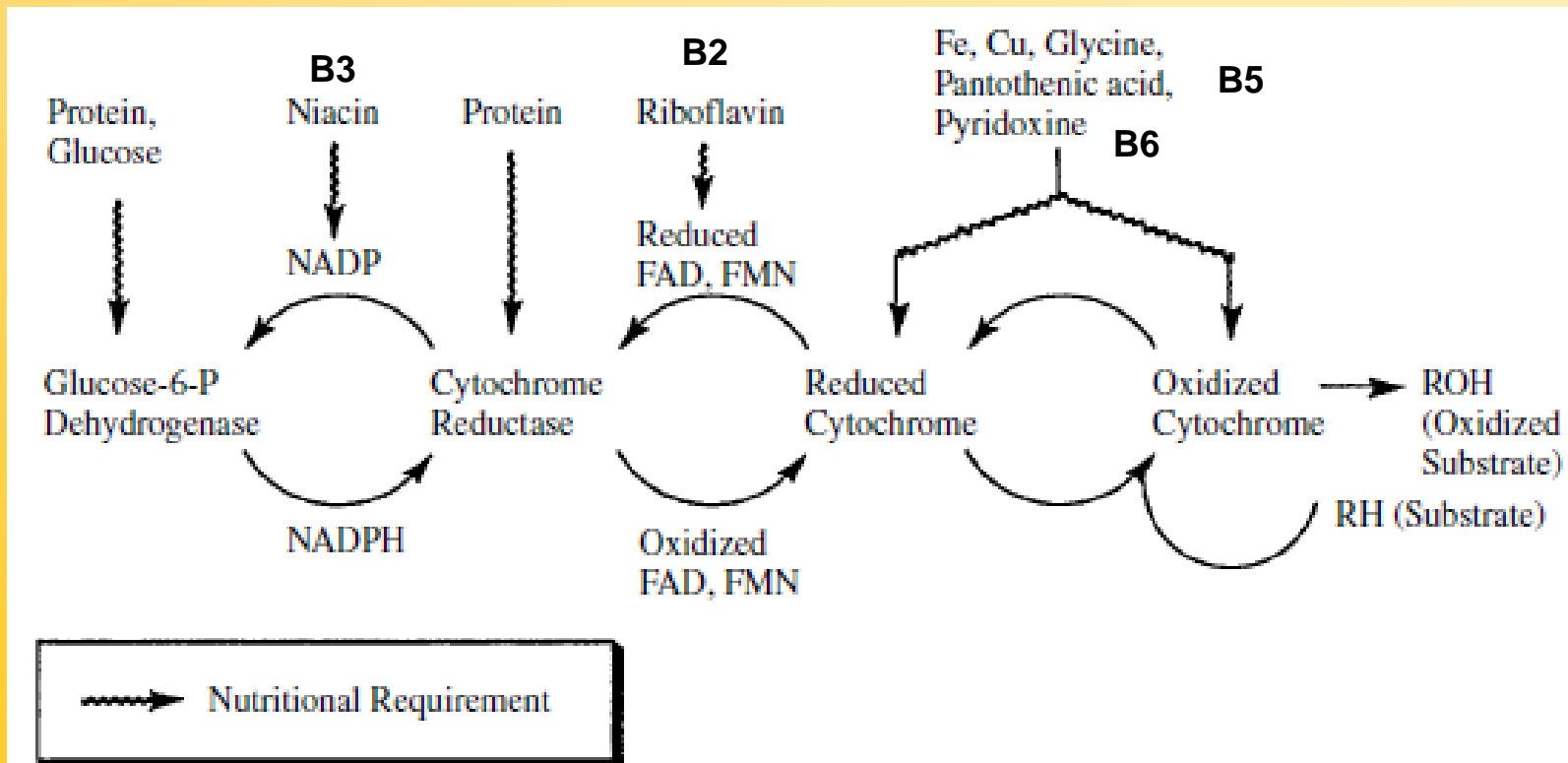
INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Investice do rozvoje vzdělávání

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Nutriční potřeby pro metabolismus xenobiotik

Stravovací návyky II



Investice do rozvoje vzdělávání

P450 – vitamin B komplexu, železo



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

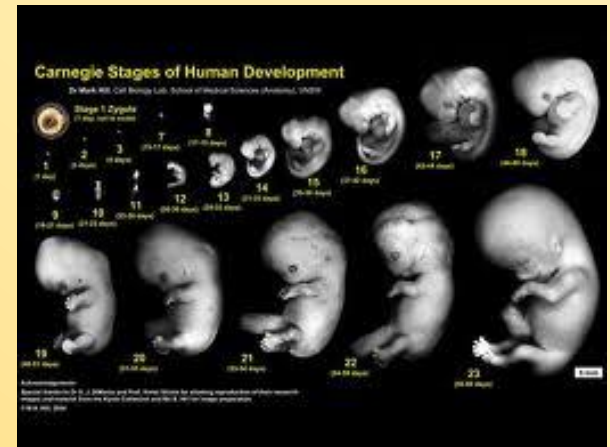
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Fysiologické účinky I.

Vývoj - nárůst v množství enzymů po narození u savců

- rychlost nárůstu rozdílná mezi druhy
- novorozenecká žloutenka
- konjugace s glycinem dosahuje normálu po 30 dnech u krys, po 8 týdnech u lidí



Těhotenství - pokles mnoha XMEs (glukuronidace – progesteron je inhibitor UGT *in vitro*)

- podobný účinek na sulfataci u těhotných krys a morčat

Nemoc - pokles schopnosti metabolizovat sloučeniny (hepatitis)

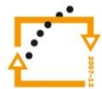
- produkce prozánětlivých cytokinů aktivuje MAP kinasy které potlačují expresi a aktivitu některých XMEs



Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Fysiologické účinky II.

Pohlavní rozdíly - rozdíly začnou být nápadné od puberty

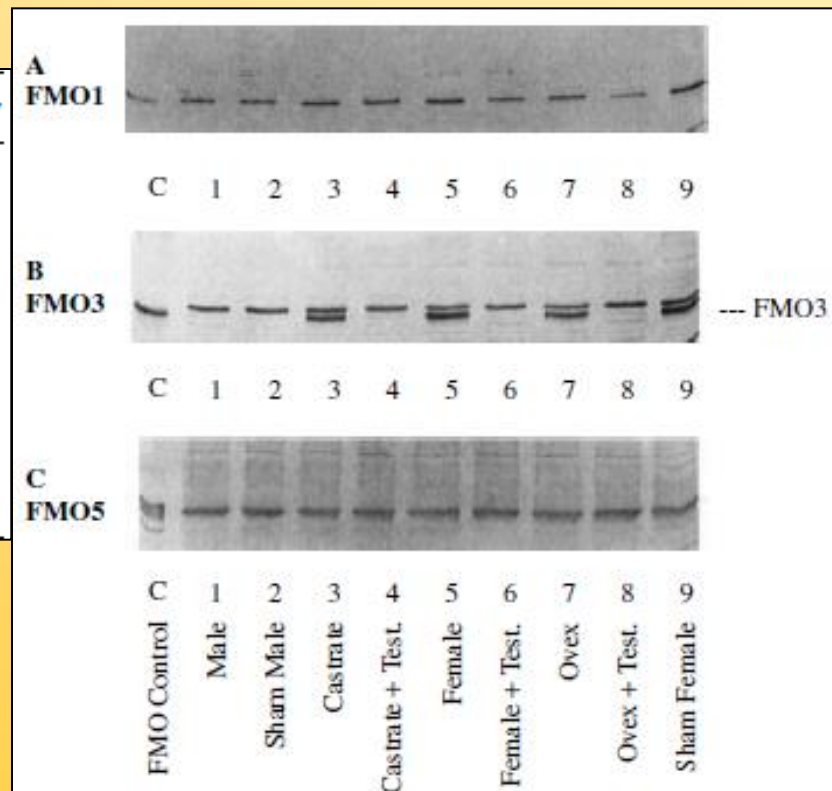
- samci krys metabolizují některé látky

(hexobarbital, aminopyrin) rychleji než samice

- u člověka jsou rozdíly méně výrazné (P450,

FMO, UGT)

Species	Toxicant	Susceptibility
Rat	EPN, warfarin, strychnine, hexobarbital, parathion	F > M
	Aldrin, lead, epinephrine, ergot alkaloids	M > F
Cat	Dinitrophenol	F > M
Rabbit	Benzene	F > M
Mouse	Folic acid	F > M
	Nicotine	M > F
Dog	Digitoxin	M > F



Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Mezidruhové vlivy

- **komparativní toxikologie** – studie variací v toxicitě exogenních sloučenin u rozdílných kmenů či taxonomických druhů
- **Přínos ve dvou oblastech** – akutní toxicita a metabolismus
 - selektivní toxicita – sloučenina toxická k určitému druhu (hmyzu)
 - experimentální modely – vhodný model a extrapolace na člověka
 - environmentální cyklus xenobiotik – rozsah metabolických procesů v přírodě

- Rozdíly mezi taxonomickými třídami – tvorba glukosidů u hmyzu a rostlin vs glukuronidů u ostatních zvířat

Conjugating Group	Common	Unusual
Carbohydrate	Glucuronic acid (animals) Glucose (insects, plants)	<i>N</i> -Acetylglucosamine (rabbits) Ribose (rats, mice)
Amino acids	Glycine Glutathione Methionine	Glutamine (insects, humans) Ornithine (birds) Arginine (ticks, spiders) Glycyltaurine (cats) Glycylglycine (cats) Serine (rabbits)
Acetyl	Acetyl group from acetyl-0CoA	
Formyl		Formylation (dogs, rats)
Sulfate	Sulfate group from PAPS	
Phosphate		Phosphate monoester formation (dogs, insects)

Evoluční rozdíly v konjugaci

Investice do rozvoje vzdělávání



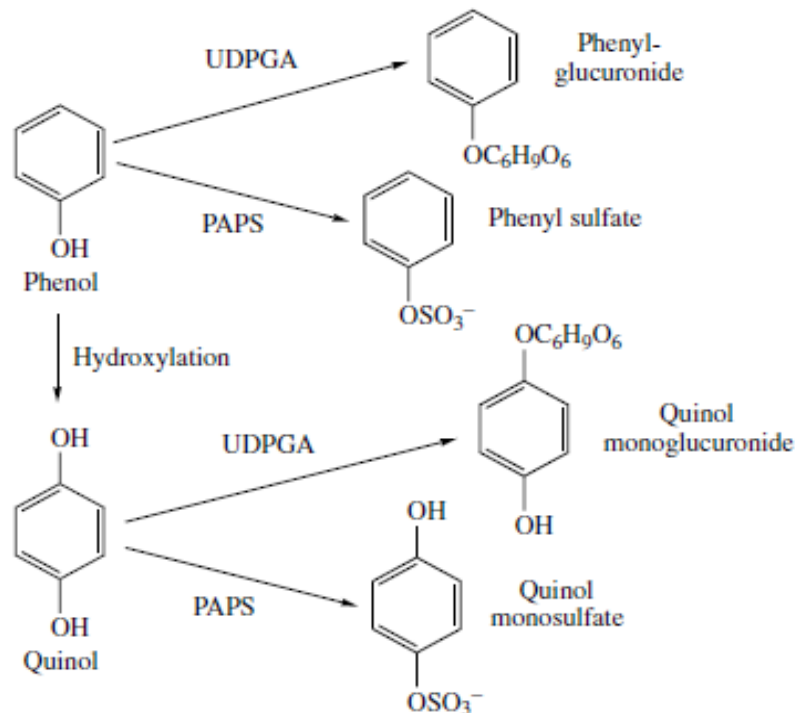
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



Species	Percent of 24-hr Excretion as Glucuronide		Percent of 24-hr Excretion as Sulfate	
	<i>Phenol</i>	<i>Quinol</i>	<i>Phenol</i>	<i>Quinol</i>
Pig	100	0	0	0
Indian fruit bat	90	0	10	0
Rhesus monkey	35	0	65	0
Cat	0	0	87	13
Human	23	7	71	0
Squirrel monkey	70	19	10	0
Rat-tail monkey	65	21	14	0
Guinea pig	78	5	17	0
Hamster	50	25	25	0
Rat	25	7	68	0
Ferret	41	0	32	28
Rabbit	46	0	45	9
Gerbil	15	0	69	15

Druhové rozdíly v metabolické konverzi fenolu *in vivo*

Chemické vlivy

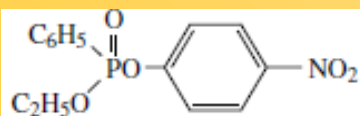
- Lidé vystaveni spoustě sloučenin
- Xenobiotika mohou být induktory či inhibitory enzymových aktivit

Number	Type	Source of Estimate ^a
1500	Active ingredients of pesticides	EPA
4000	Active ingredients of drugs	FDA
2000	Drug additives (preservatives, stabilizers, etc.)	FDA
2500	Food additives (nutritional value)	FDA
3000	Food additives (preservatives, stabilizers, etc.)	FDA
50,000	Additional chemicals in common use	EPA

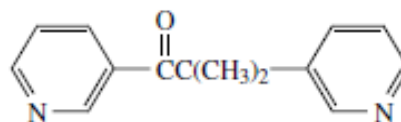
^aEPA, Environmental Protection Agency; FDA, Food and Drug Administration.

Enzymová inhibice – nárůst či pokles toxicity

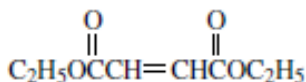
Investice do rozvoje vzdělávání



EPN [esterases]
O-Ethyl-O-p-nitrophenyl
phenylphosphonothioate



Metyrapone
[P450]



Diethyl maleate
[glutathione S-transferase]



Disulfiram (Antabuse)
[aldehyde dehydrogenase]

-Kompetitivní – nárůst
Km, Vm konstantní

-Nekompetitivní – pokles
Vm, Km stejná

-Akompetitivní – změna Vm a Km ve stejném poměru

-Ireversibilní – kovy, CO

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

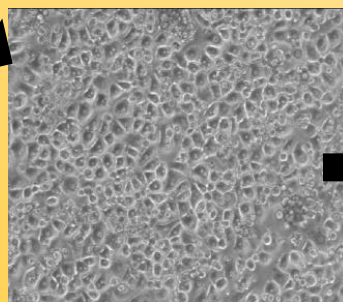


OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

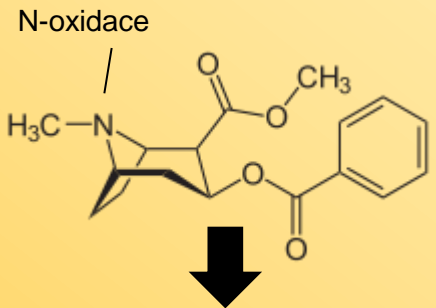
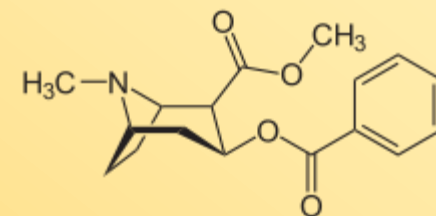
INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Následky isoforma-specifických CYP indukcí

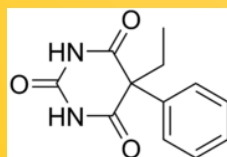
Bioaktivace kokainu – zvýšená toxicita



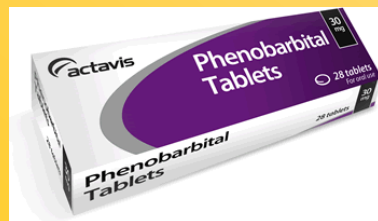
CYP2B
CYP3A/2A
u člověka



Jaterní nekróza



Fenobarbital



antikonvulzivum

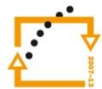
Indukce CYPů skrze CAR !!

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

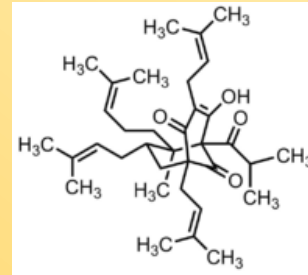


OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Následky isoforma-specifických CYP indukcí

Snížená biodostupnost

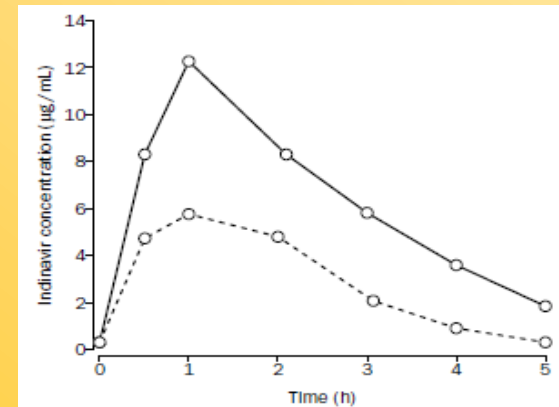
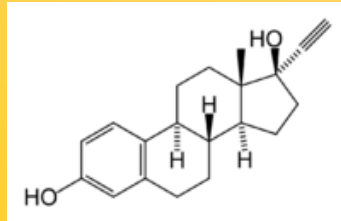


Hyperforin

→ PXR → CYP3A4 ↑



Investice do rozvoje vzdělávání



Nežádoucí

!!!!

Snížení plasmatické hladiny indinaviru

Žádoucí ???



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

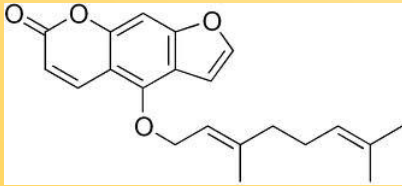


OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

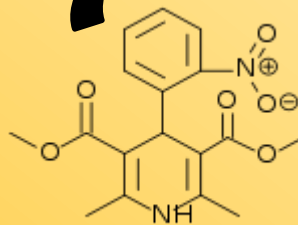
Následky isoforma-specifických CYP inhibicí



Bergamottin



CYP3A4

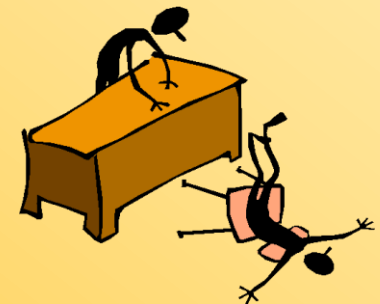


Nifedipine
antihypertensivum



Nárůst AUC

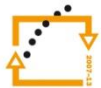
Bradykardie
Hypotenze
Ztráta vědomí



Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

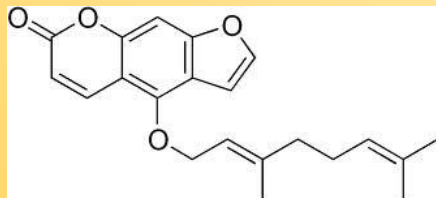


OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

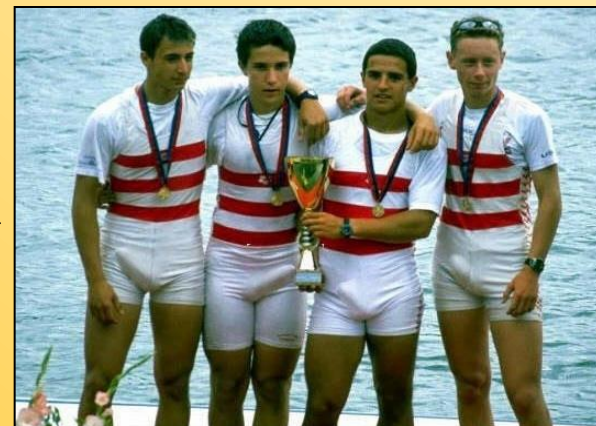
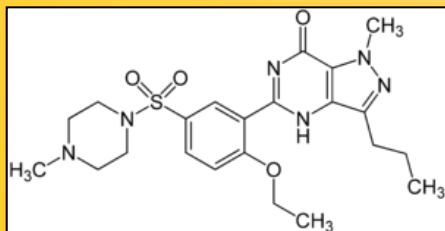
Následky isoforma-specifických CYP inhibicí



Bergamottin



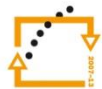
CYP3A4



Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

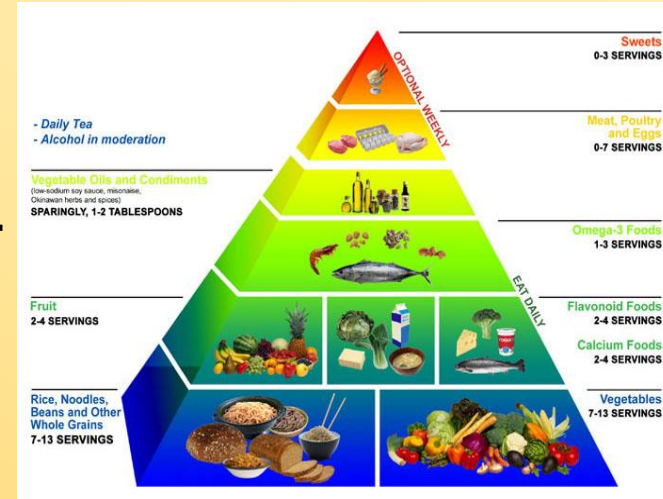
Slovo závěrem.....

Biotransformace = rovnováha mezi aktivací a detoxifikací



Genetika

+



Prostředí

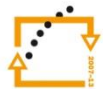


Vhodná kombinace vás dostane až ke hvězdám.....

Investice do rozvoje vzdělávání



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.