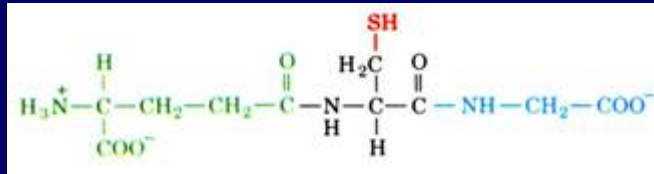




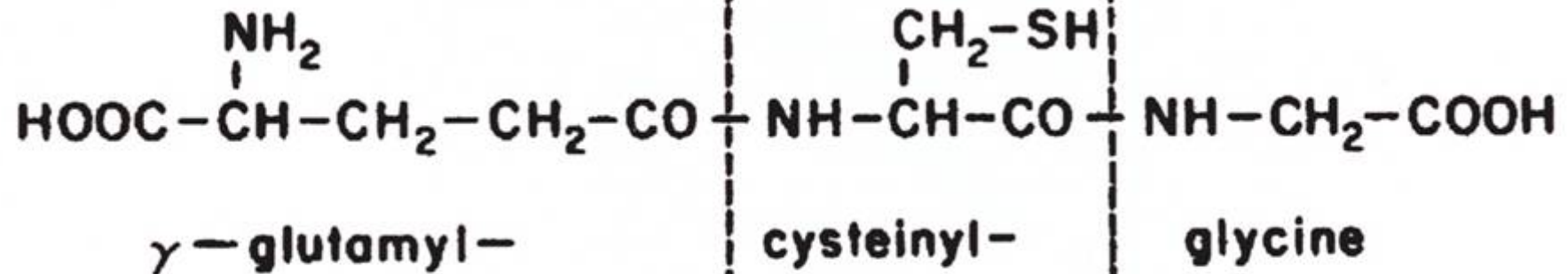
## ENZYMY 2. FÁZE BIOTRANSFORMACE:

- Glutathion-S-transferázy (GST)
- Uridindifosfoglukuronyltransferázy (UDPGT)
- Sulfotransferázy (SULF)
- N-, O-acetyltransferázy (NAT, OAT)
- Methyltransferázy
- Enzymy syntézy kyseliny merkapturové
  
- Antioxidační enzymy - NQO, GST, GSPx, GR, CAT, SOD

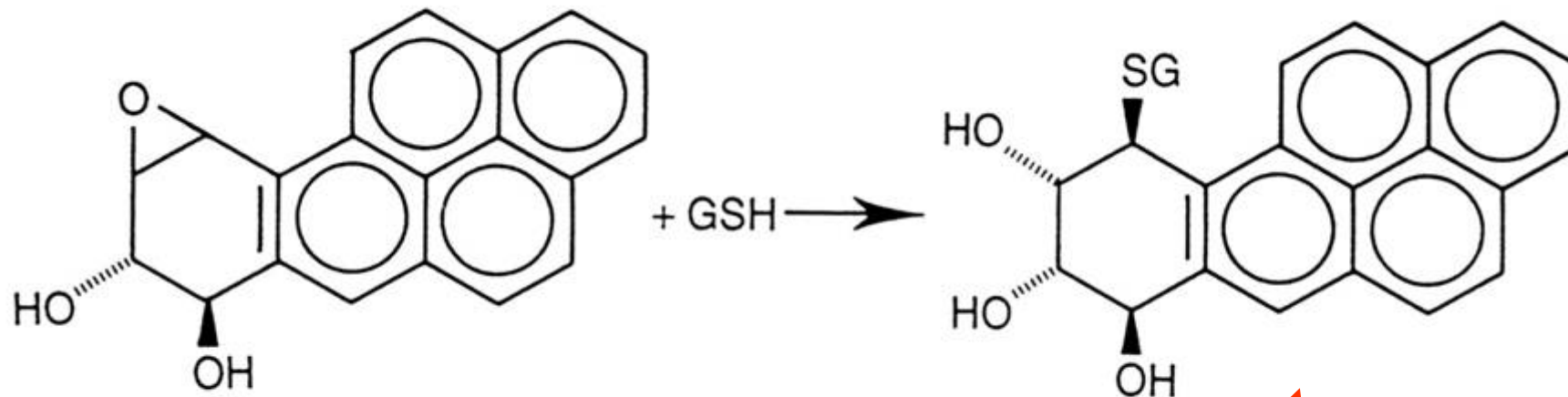
# GLUTATHION-S-TRANSFERÁZY



Konjugační agens je nukleofil (GSH);  
typické substráty GST: elektrofilní xenobiotika / intermediáty  
(alifatické a aromatické epoxidy a halidy, organické nitráty)



# GST – TYPICKÉ SCHÉMA KONJUGAČNÍ REAKCE



Glutathione-S-transferase

Reaktivní intermediát BaPDE

Konjugát

# KLASIFIKACE GST ENZYMŮ

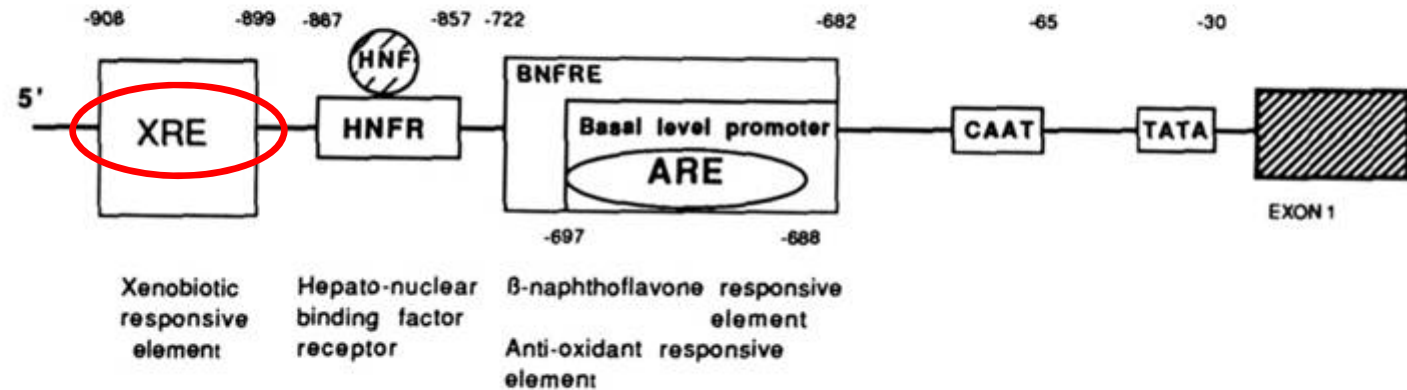
Funkční GST enzymy jsou dimery

membránově vázaný GST

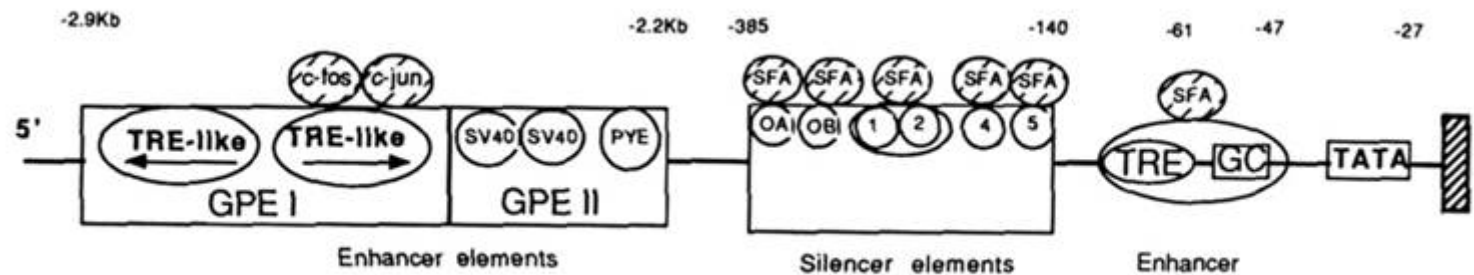
Isoenzyme	Class	Apparent subunit $M_r$ (kdalton) <sup>a</sup>	Subunit $M_r$ <sup>b</sup>
1-1	Alpha	25	25 434
1-2	Alpha	25 + 28	—
2-2	Alpha	28	25 209
3-3	Mu	26.5	25 806
3-4	Mu	26.5	—
3-6	Mu	26.5 + 26	—
4-4	Mu	26.5	25 592
4-6	Mu	26.5 + 26	—
5-5	— <sup>c</sup>	26.5	—
6-6 <sup>d</sup>	Mu	26	—
7-7	Pi	24	23 307
8-8	Alpha	24.5	—
Microsomal	—	17	17 237

# REGULACE GENOVÉ EXPRESE ISOENZYMŮ GST

GST-1 gene regulatory elements



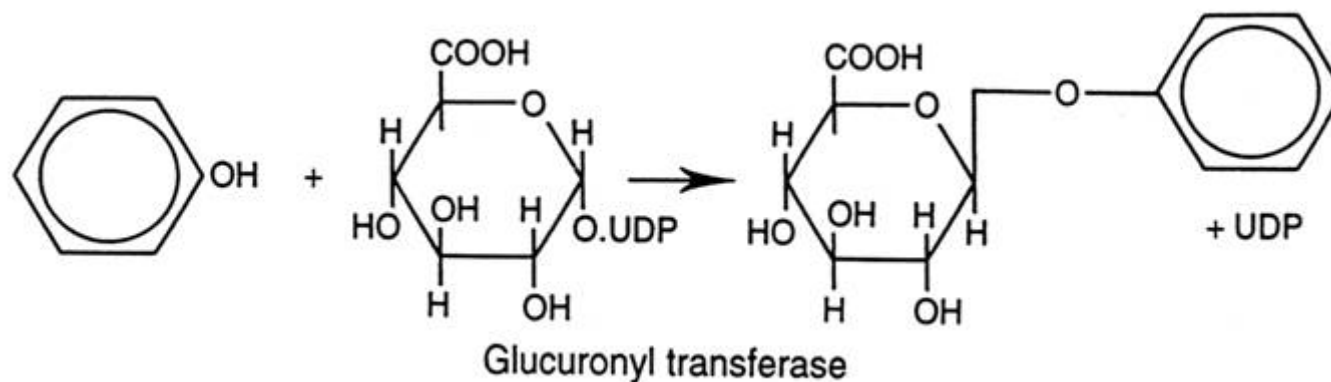
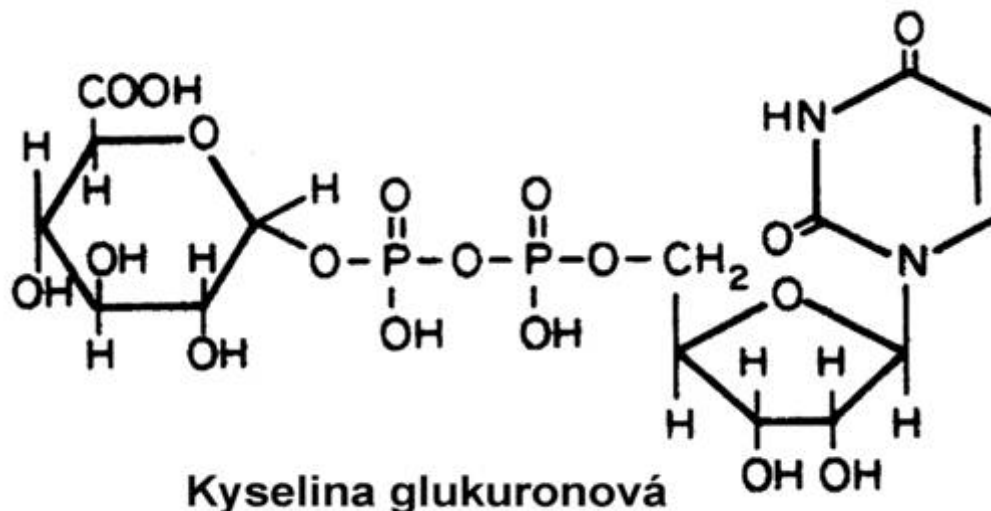
GST-7 gene regulatory elements

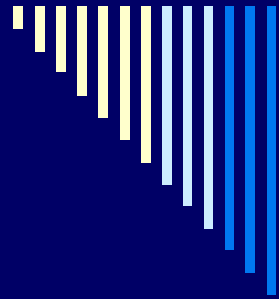


# UDP-GLUKURONYLTRANSFERÁZY

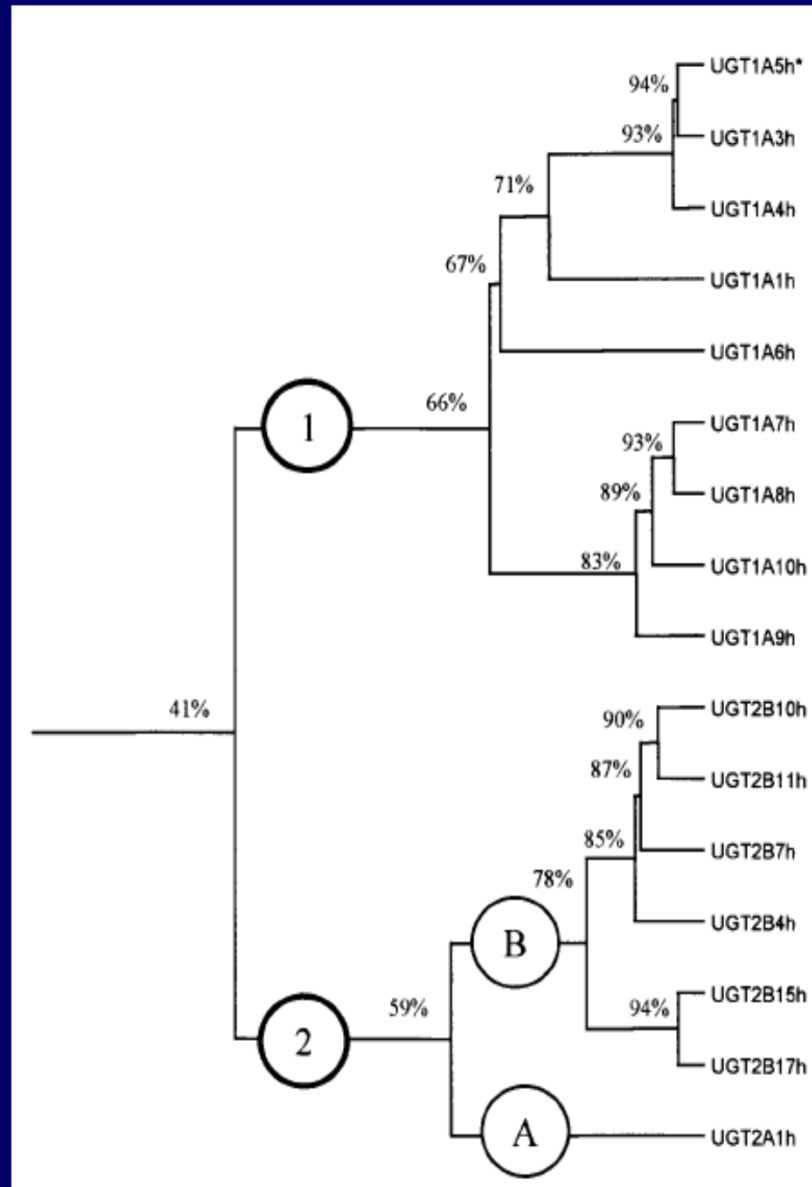
Konj. agens elektrofil  
(kys. UDP-glukuronová);

substráty jsou nukleofilní  
xenobiotika / intermediáty  
(fenoly, alkoholy, aminy,  
karboxylové kyseliny)



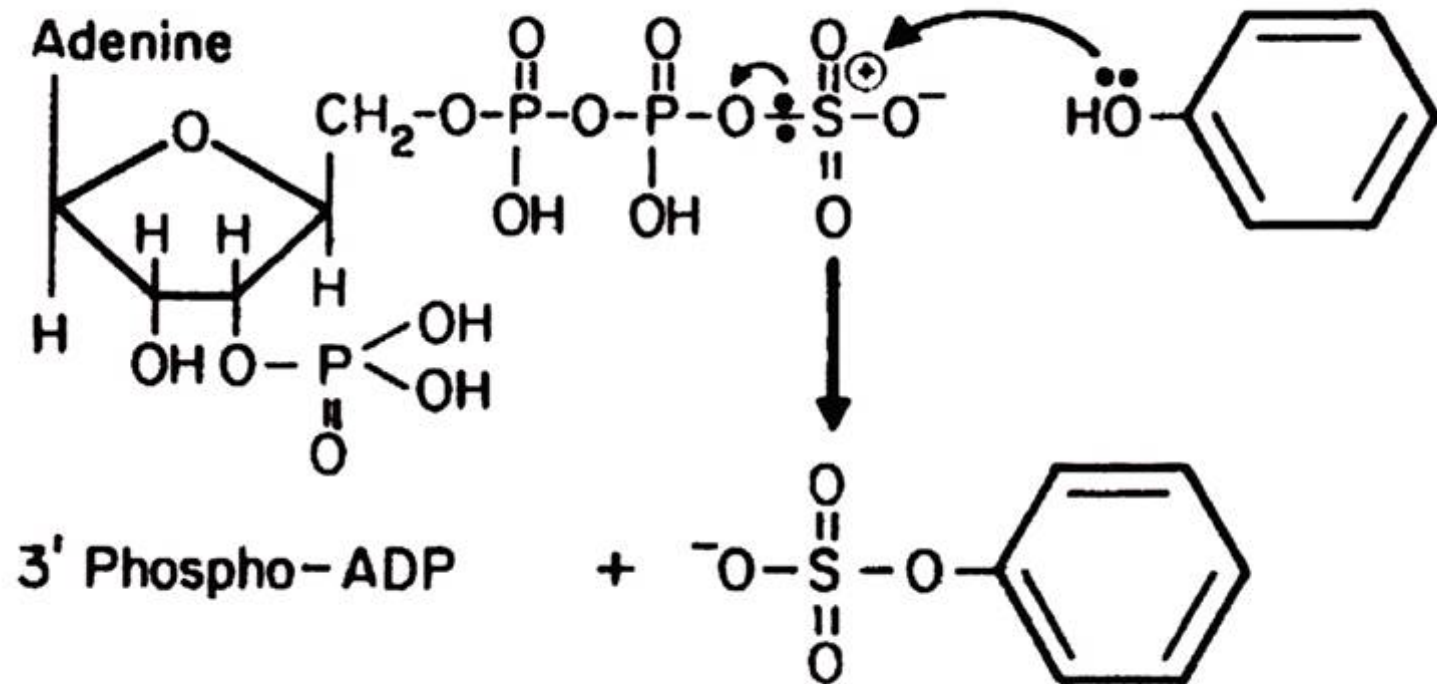


# SEKVENČNÍ PŘÍBUZNOST UGT

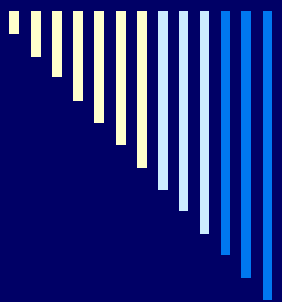


## SULFOTRANSFERÁZY

elektrofilní konjugační agens 3'-fosfoadenosin-5'-fosfosulfát (PAPS) reaguje s fenolem aj. nukleofily

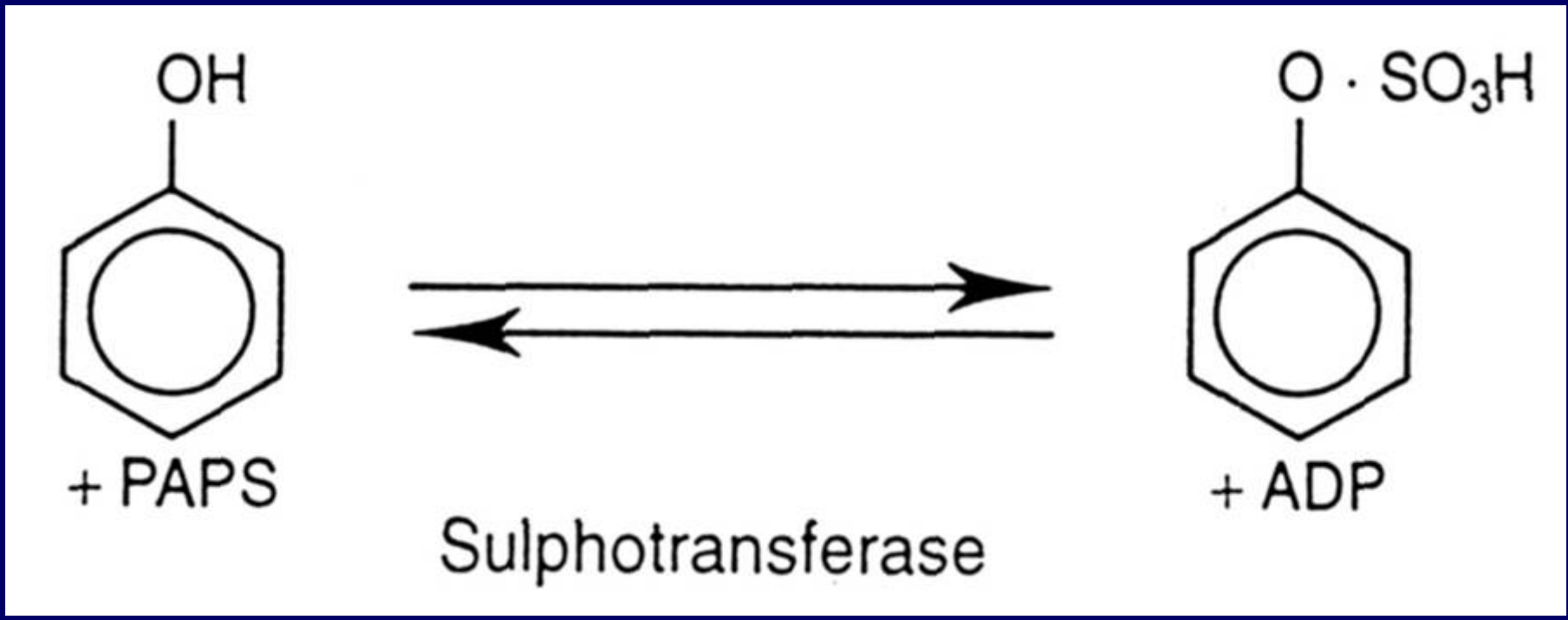






# SULFOTRANSFERÁZY

sumární rovnice

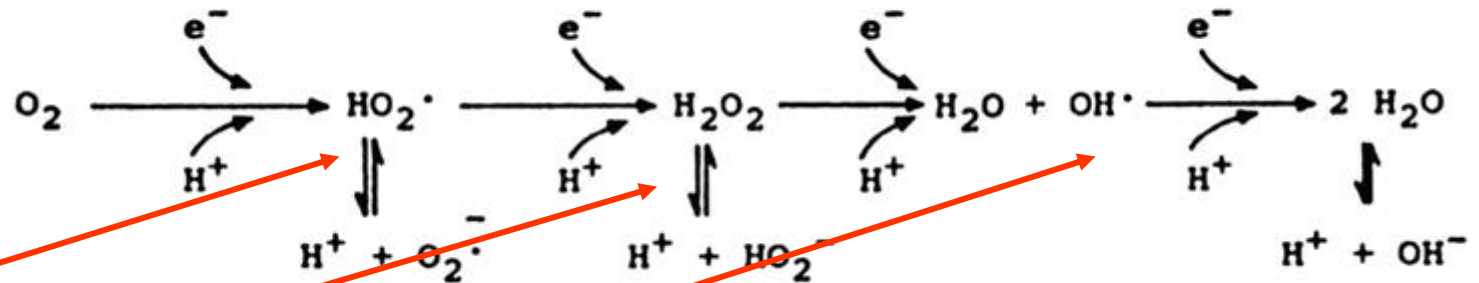




## ANTIOXIDAČNÍ OBRANNÉ SYSTÉMY

- **Nízkomolekulární antioxidanty (lipofilní a hydrofilní)**
- **Antioxidační enzymy (NQO, GST, GSPx, GR, CAT, SOD)**

# REAKTIVNÍ FORMY KYSLÍKU (ROS)

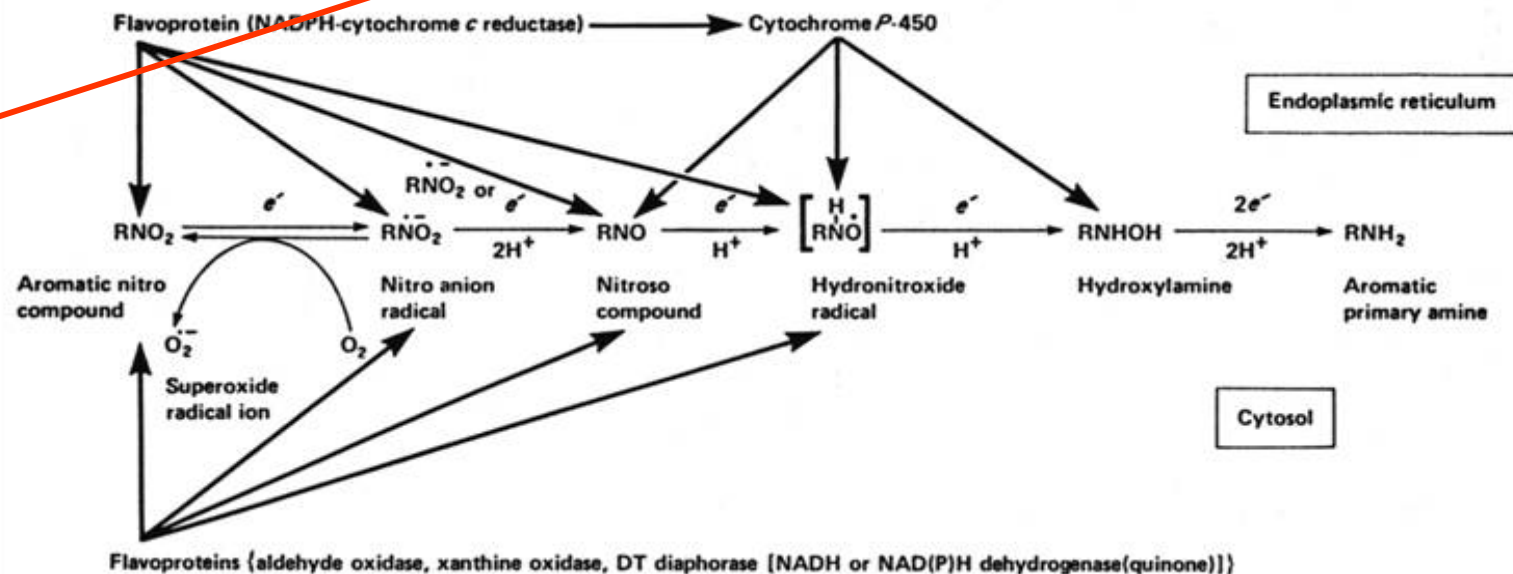


Superoxid

Peroxid

Hydroxylový radikál

Redukce nitrosloučenin





## ANTIOXIDAČNÍ OBRANNÉ SYSTÉMY (ENZYMY):

- **Superoxiddismutázy** katalyzují dismutaci  $O_2^{\cdot -}$  na  $H_2O_2$  - Cu/Zn SOD (cytosol, jádro), Mn SOD (mitochondrie), CuSOD (primárně plasma)
- **Kataláza** katalyzuje dismutaci  $H_2O_2$ , redukuje methyl- a ethylhydroperoxydy; tetramerní hemoprotein (peroxisomy)
- **Glutathionperoxidáza** katalyzuje redukci  $H_2O_2$  a dalších hydroperoxidů (včetně lipidperoxidů); selenoprotein (výskyt primárně v cytosolu, také v mitochondriích)
- **Glutathion-S-transferázy** redukují hydroperoxydy, výskyt v cytosolu, existuje také „mikrosomální“ GST v bun. membránách
- **Glutathionreduktáza** katalyzuje redukci nízkomolekulárních disulfidů, hlavně oxidovaný glutathion („GSH cyklus“)
- **NADPH/chinonoxidoreduktázy (NQO)** redukuje chinony na katecholy

## ANTIOXIDAČNÍ OBRANNÉ SYSTÉMY (NÍZKOMOLEKULÁRNÍ LÁTKY):

lipidní  
sloučeniny

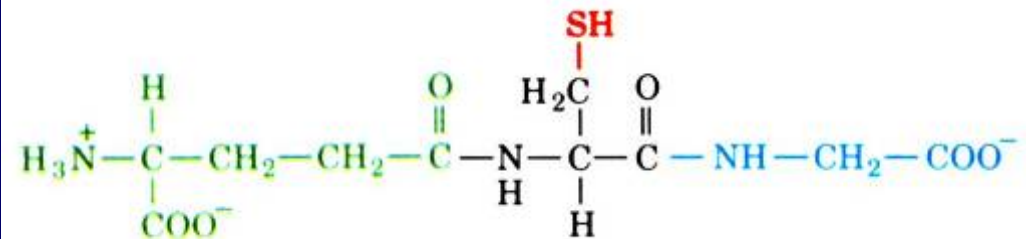
- **vitamín E** konvertuje  $O_2^{\cdot -}$ ,  $\cdot OH$  a lipidové peroxyradikály na méně reaktivní formy; zastavuje řetězové reakce lipidní peroxidace; lipidové membrány, extracelulární tekutiny
- **bilirubin** reaguje s  $ROO\cdot$ , produkt hemoproteinu, výskyt v krvi i tkáních
- **$\beta$ -karoten** zháší  $O_2^{\cdot -}$ , reakce s peroxyly; metabolický prekursor vitamínu A, výskyt v membránách

sloučeniny  
rozpuštěné  
ve vodě

- **vitamín C** přímo zháší  $O_2^{\cdot -}$  a  $\cdot OH$ , přispívá k regeneraci vitamínu E, distribuce v extra- i intracelulárních tekutinách
- **kyselina močová** (oxidovaná purinová báze); zháší peroxylové radikály,  $O_2^{\cdot -}$  a  $\cdot OH$ , zabraňuje oxidaci vit. C, váže transiční kovy; široká distribuce
- **glutathion (GSH)** substrát v reakcích GST a GSHPx, také přímo reaguje s organickými volnými radikály,  $O_2^{\cdot -}$  a  $\cdot OH$
- další antioxidanty: cystein, glukóza aj.



# GLUTATHION JAKO ANTIOXIDANT



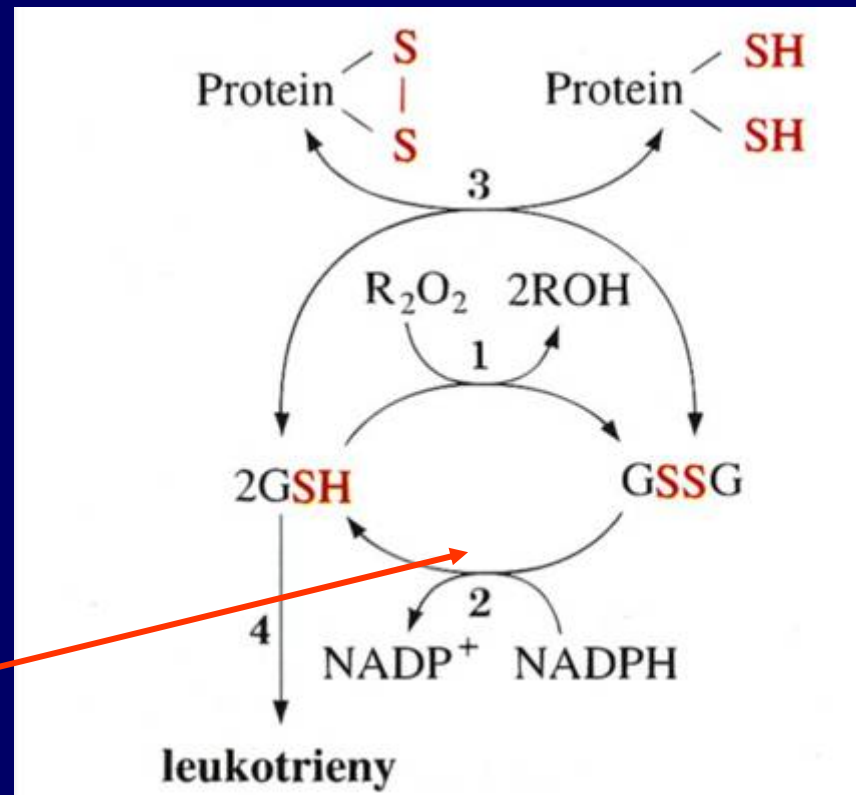
## Funkce GSH:

- redukce disulfidických můstků
- přímá reakce s ROS a kyslík. metabolity (lipid. peroxidy...)
- kofaktor glutathionperoxidáz (Se-dependentních GPx, GST)

## Další funkce:

- kofaktor konjugačních reakcí katalyzovaných GST, např. s fenoly
- účast v biosyntéze leukotrienů

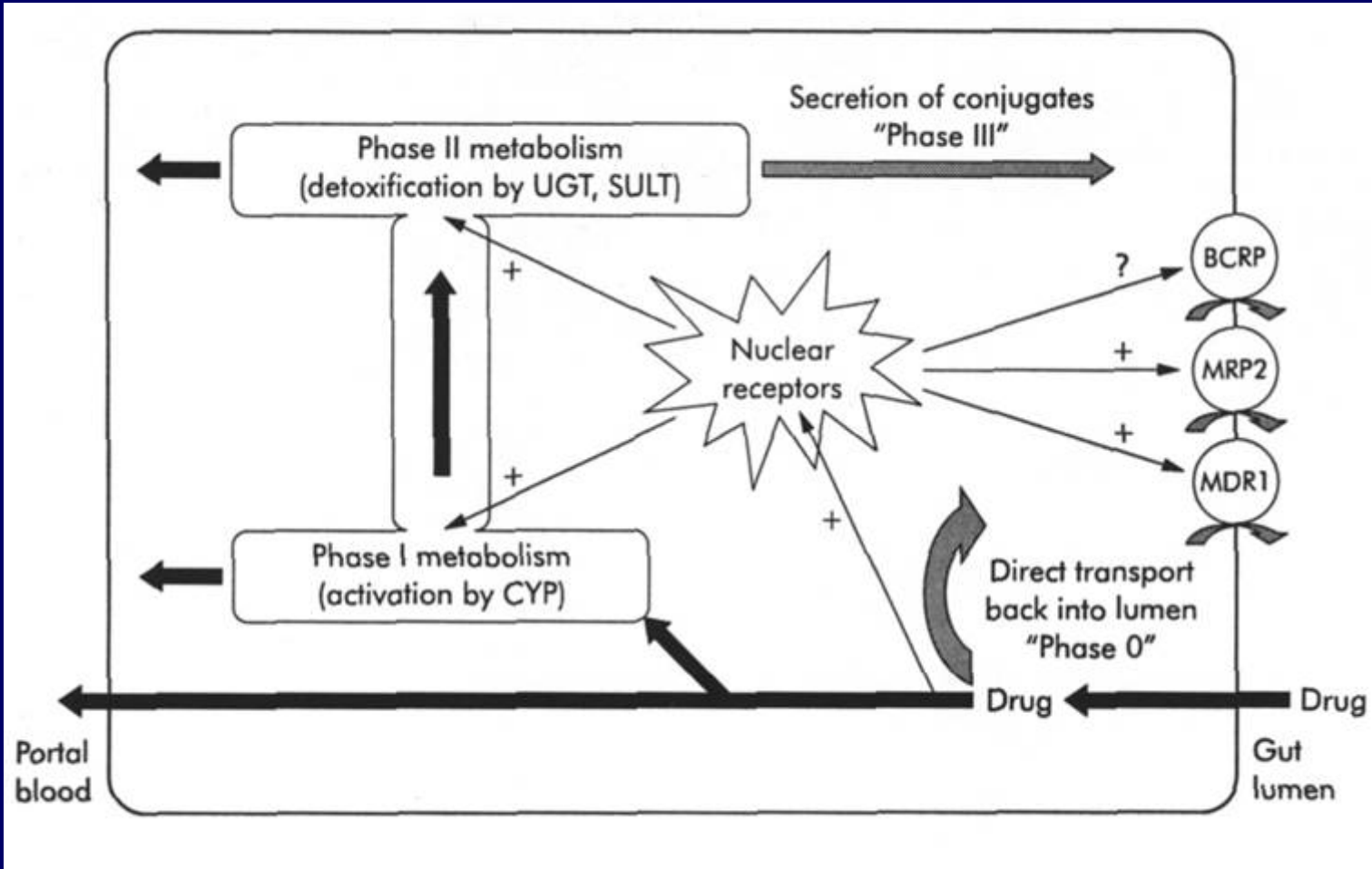
Redukce GSSG na GSH pomocí GR



### 3. FÁZE BIOTRANSFORMACE

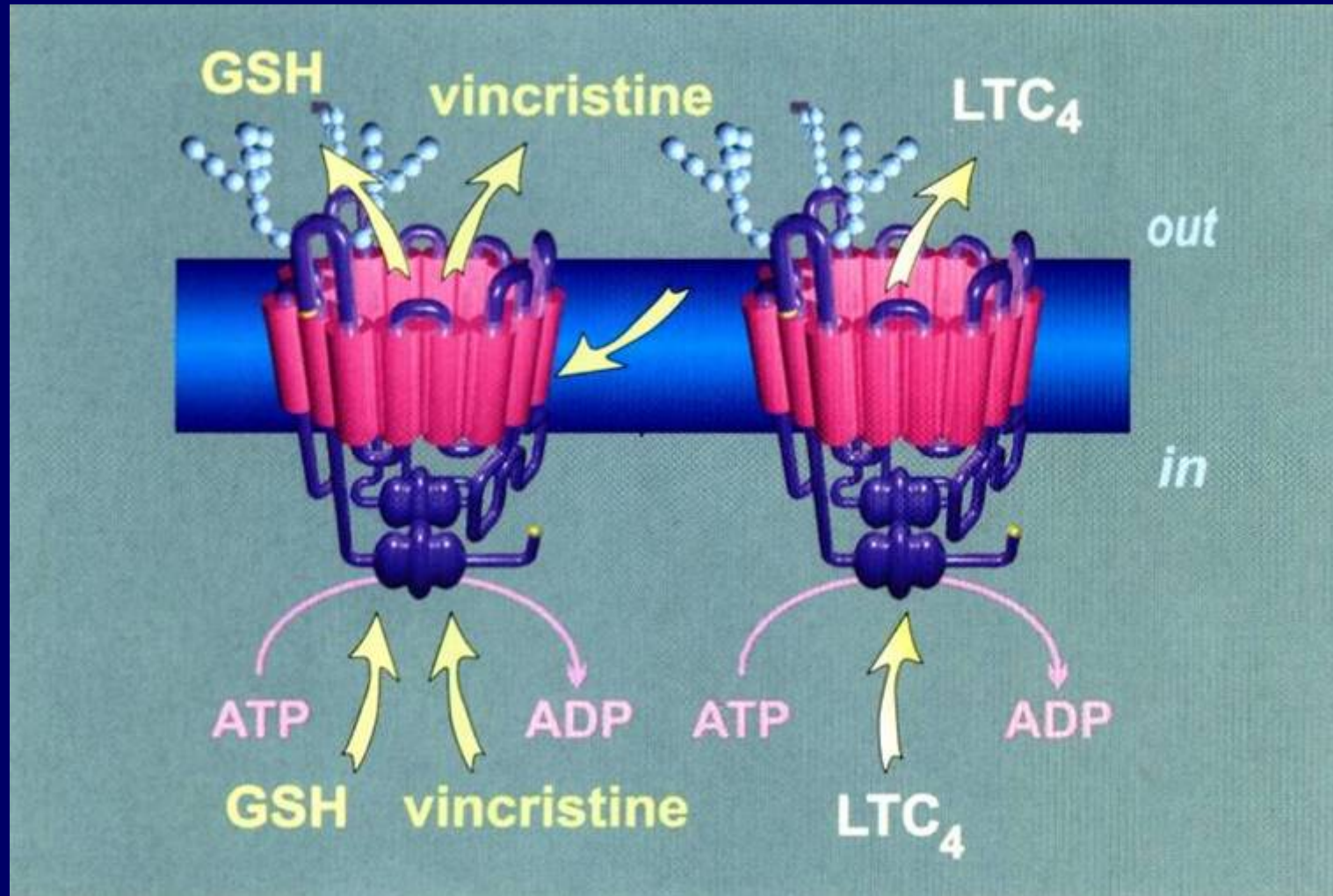


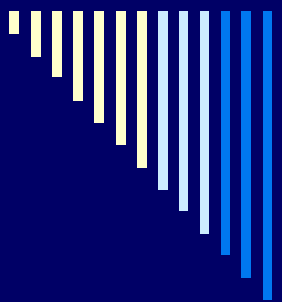
### 3. FÁZE BIOTRANSFORMACE (ABC TRANSPORTÉRY)



# ABC TRANSPORTÉRY: MULTIDRUG RESISTANCE (MDR) SYSTEM

Transport  
lipidů,  
xenobiotik  
aj. látek  
vně buněčné  
membrány





### 3. FÁZE BIOTRANSFORMACE (ABC TRANSPORTÉRY)

Nejvýznamnější zástupci ABC (ATP Binding Cassette) transportérů:

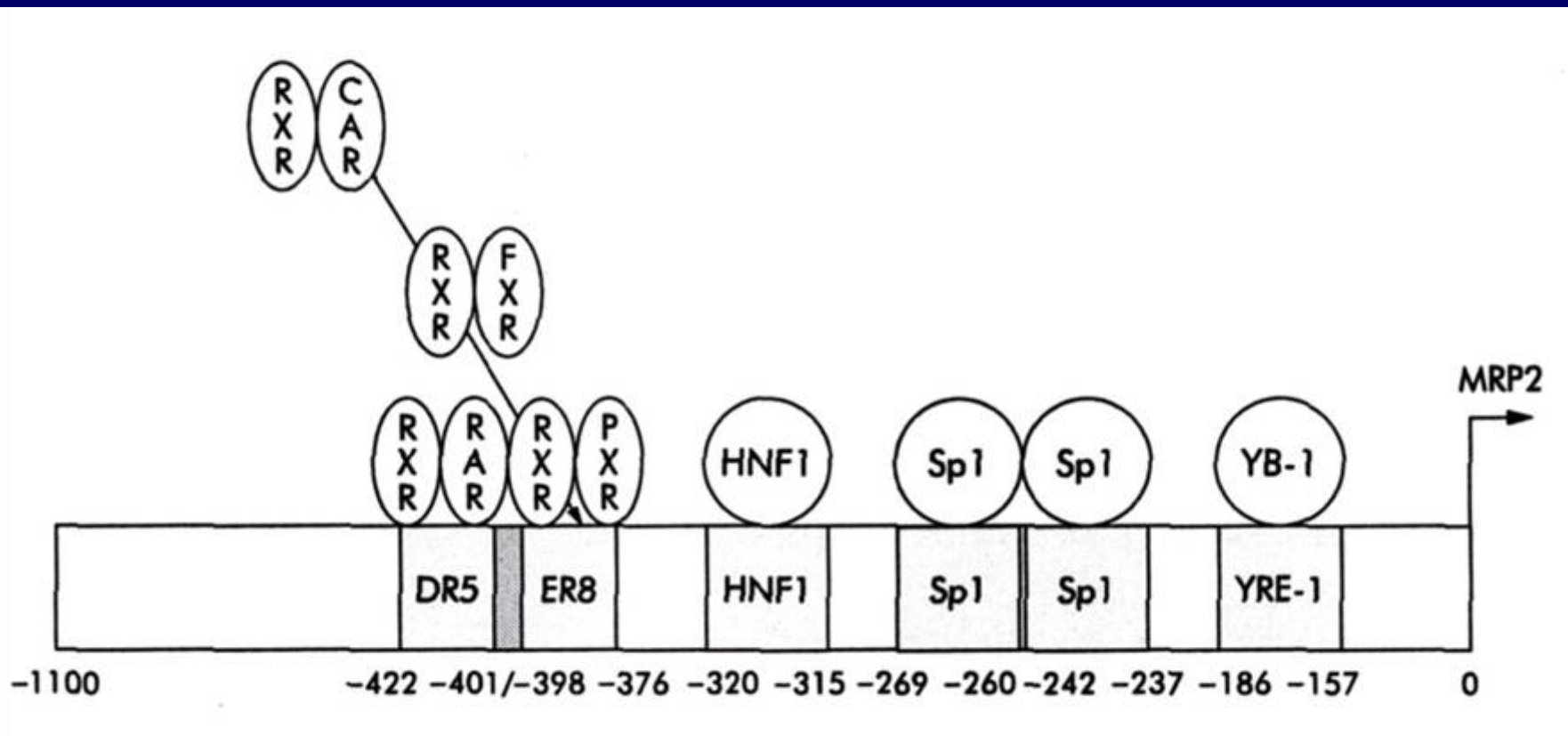
1. ABCC – transport aniontů včetně S-glutathionyl- a sulfátových konjugátů  
**MRP1** (ABCC1, *mrp1* gen) transportuje přes membránu LTC<sub>4</sub>, D<sub>4</sub>, E<sub>4</sub>; komplexuje oxidovaný glutathion (GSSG)

2. ABCB – transport peptidů, transmembránový transport xenobiotik v játrech, placentální bariéře aj.  
**P-glykoprotein** (P-gp = ABCB1, *mdr1* gen) odstraňuje Vinca alkaloidy (vincristine, vinblastine), anthracykliny (doxorubicin, daunorubicin), taxoly (paclitaxel)

Chemosensitizers: calcium channel blockers (verapamil), antagonisté calmodulinu (chlorpromazine), steroidy (prog., kortisol, tamoxifen), xanthiny (pentoxifyline)

3. ABCG2 (BCRP, breast cancer resistance protein) – velmi častá „overexprese“ v karcinomu prsu

### 3. FÁZE BIOTRANSFORMACE: KOMPLEXNÍ REGULACE GENOVÉ EXPRESE





# BIOTRANSFORMACE LIPIDŮ – nově identifikovaný „cíl“ xenobiotik

Xenobiotika  
modulují řadu enzymů  
metabolismu lipidů



lipidové mediátory



efekty na intracelulární  
signální transdukci



endokrinní /  
parakrinní signály

☛ Fosfolipázy A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>)

☛ Fosfolipázy C (PI- PLC, PC-PLC)

☛ DAG lipázy

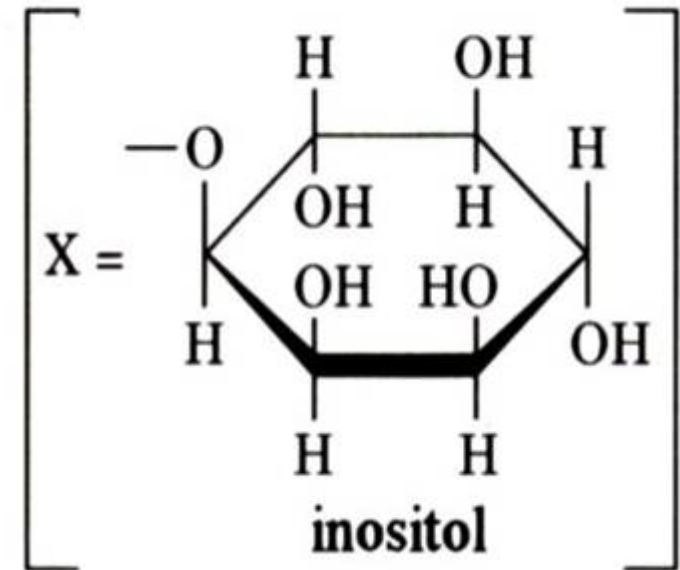
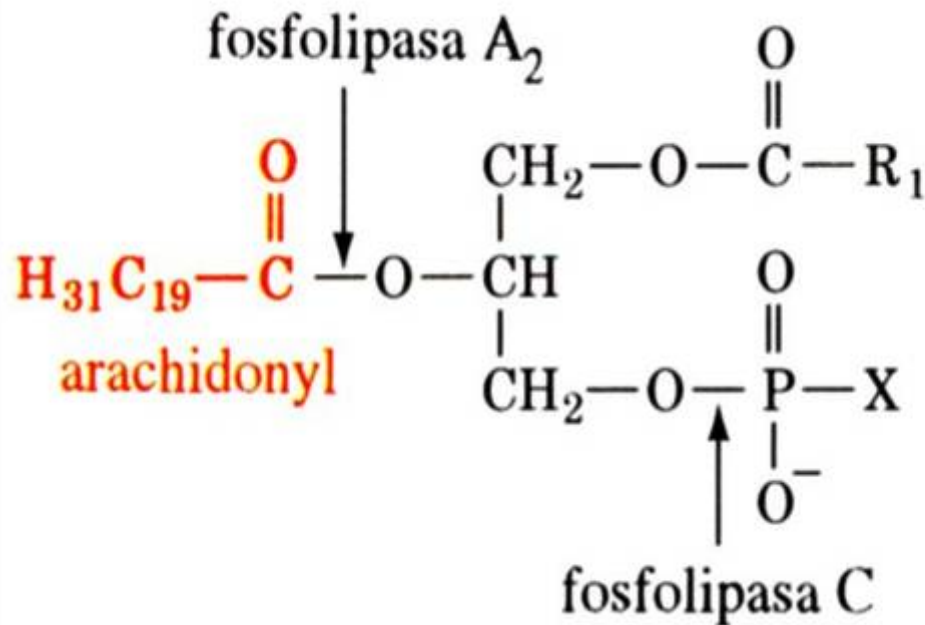
☛ Cytochromy P450 (CYP4A, CYP2E1, CYP1A, ...)

☛ Lipoxygenázy (LOX-5, LOX-12, ...)

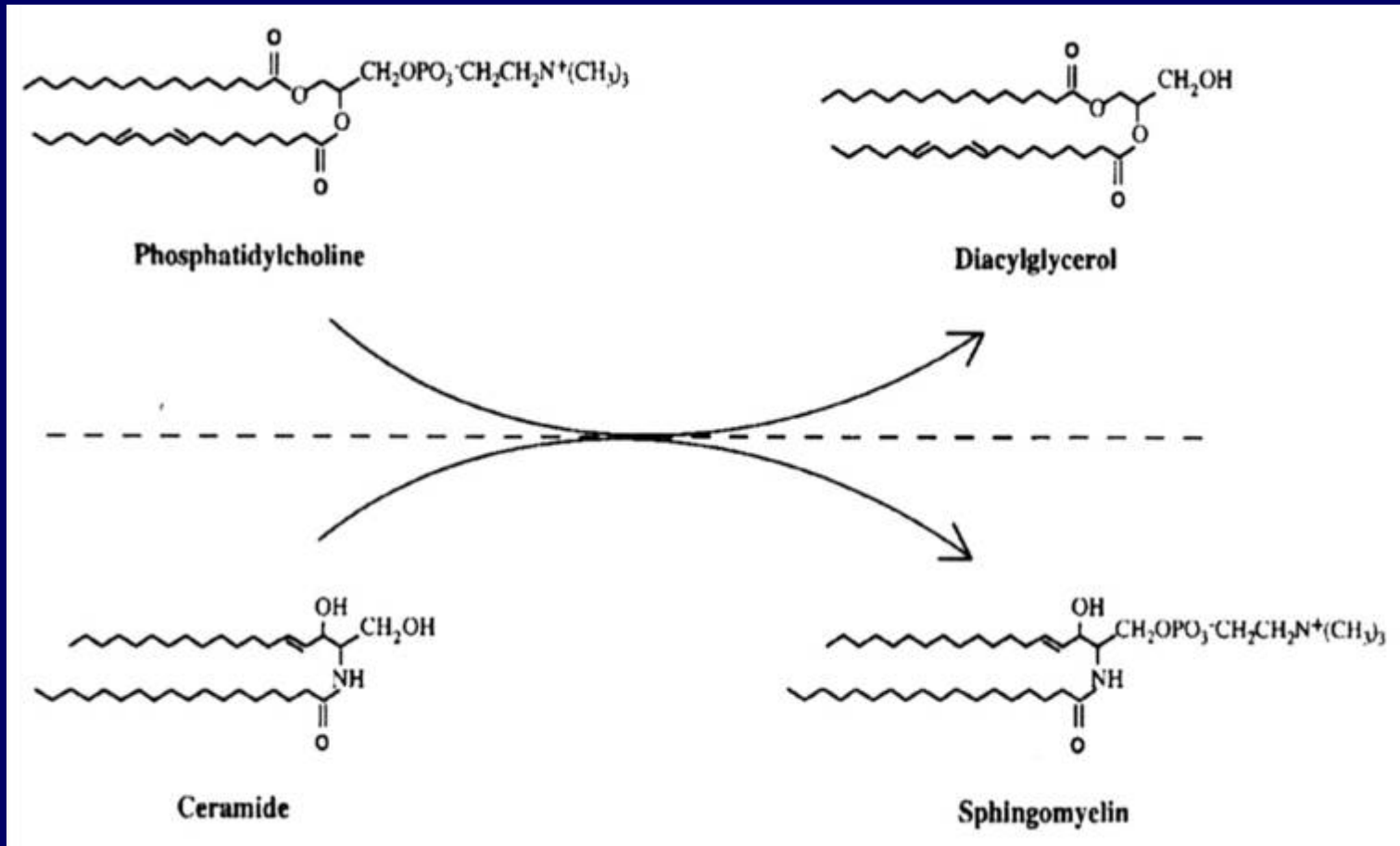
☛ Cyklooxygenázy (COX-2)

# BIOTRANSFORMACE LIPIDŮ: fosfolipidy - substráty pro PLA2 a PLC

produkty: AA      diacylglycerol (DAG)



# BIOTRANSFORMACE LIPIDŮ: PL-PLC (SMsyntáza)

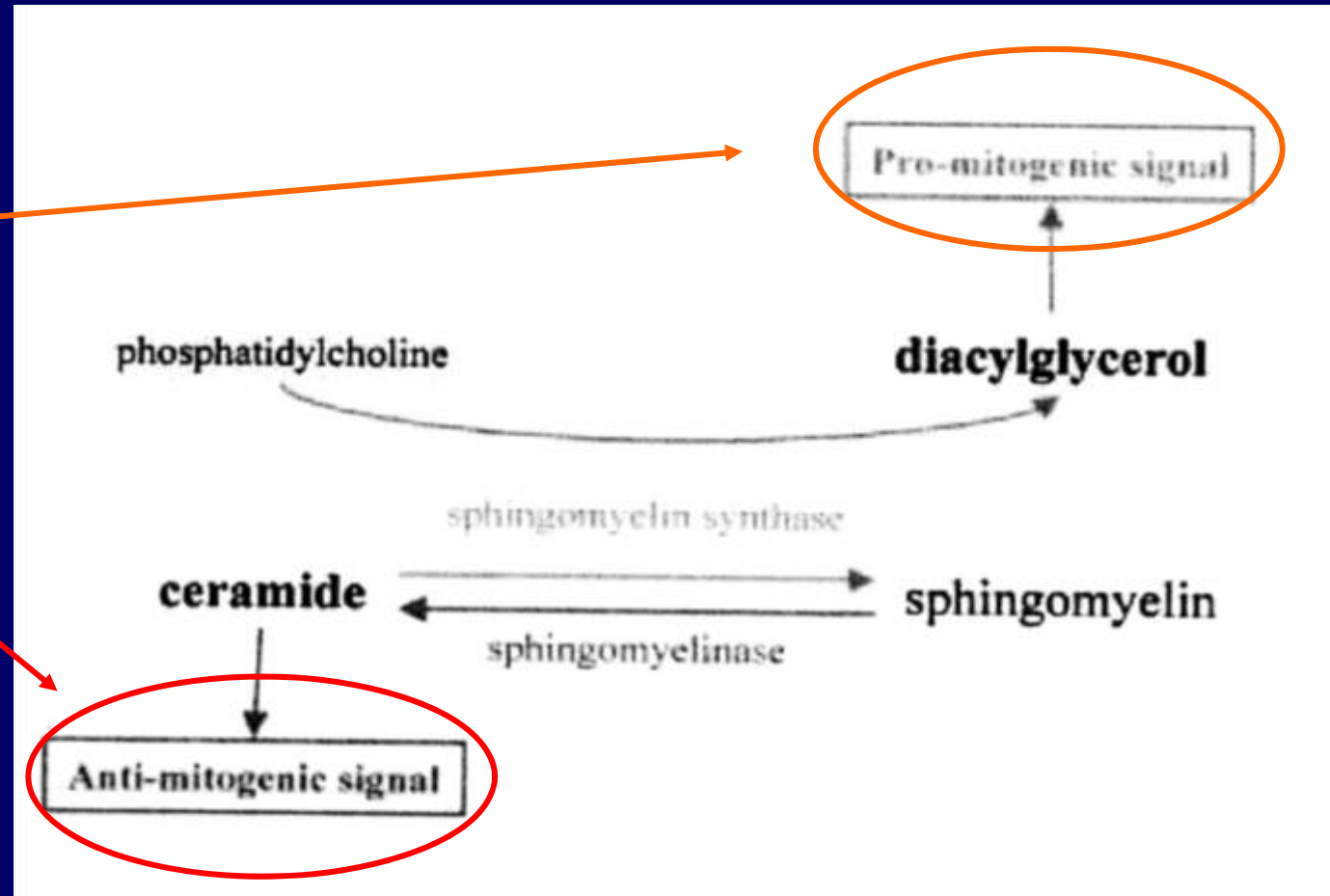


# BIOTRANSFORMACE LIPIDŮ: role syntézy ceramidu a DAG v signální transdukci

PC-PLC a  
SMsyntáza

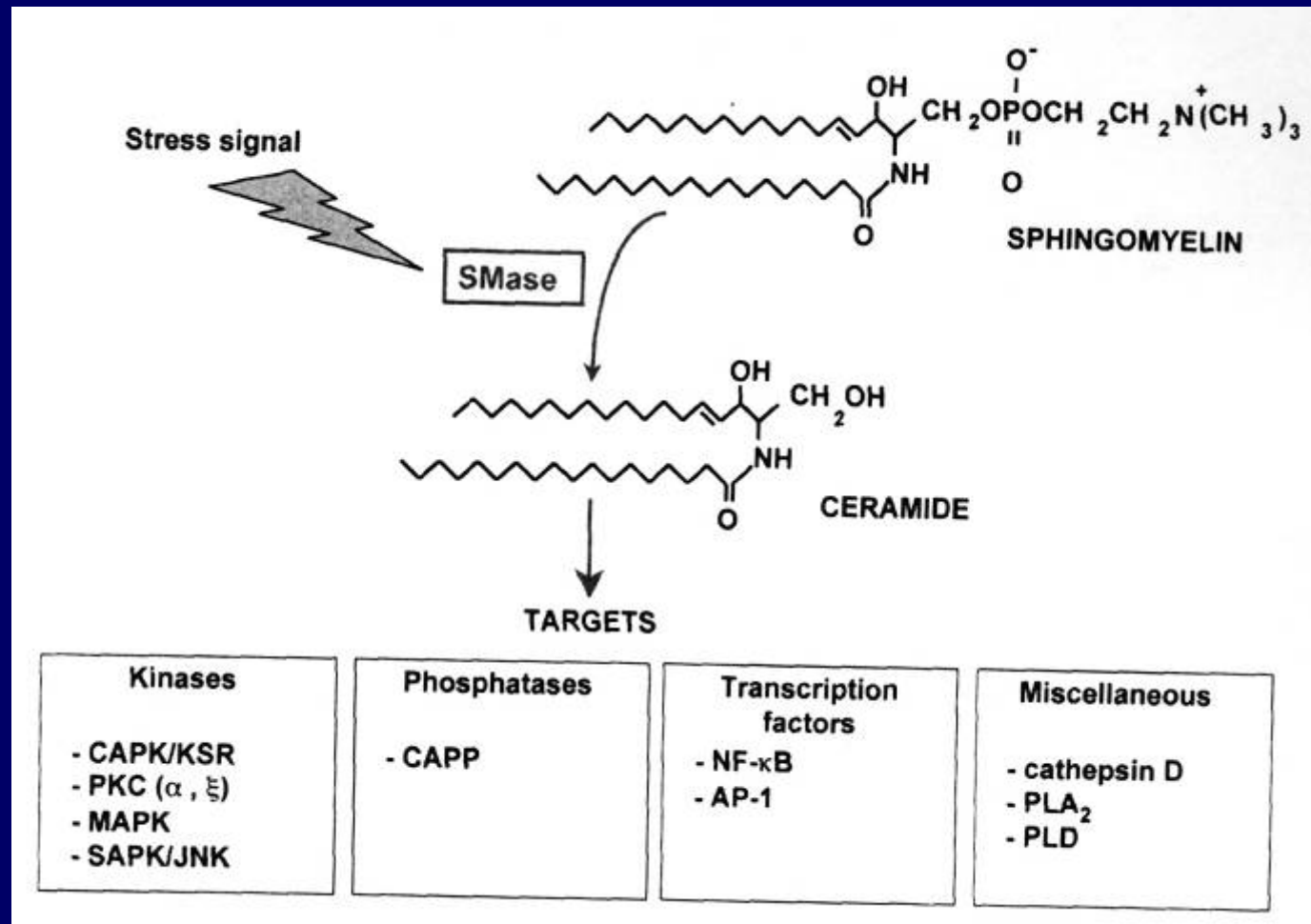
versus

SMáza

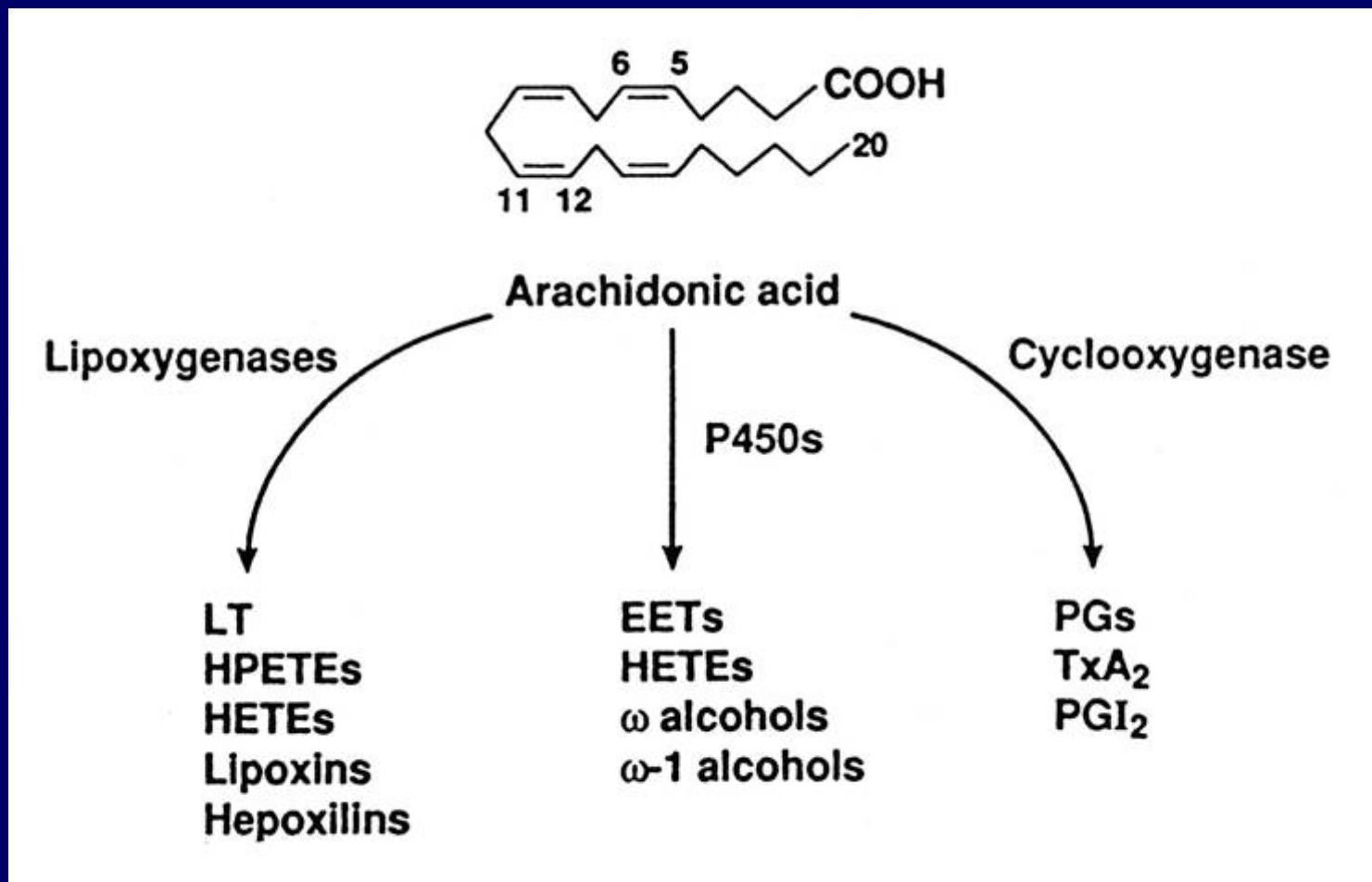




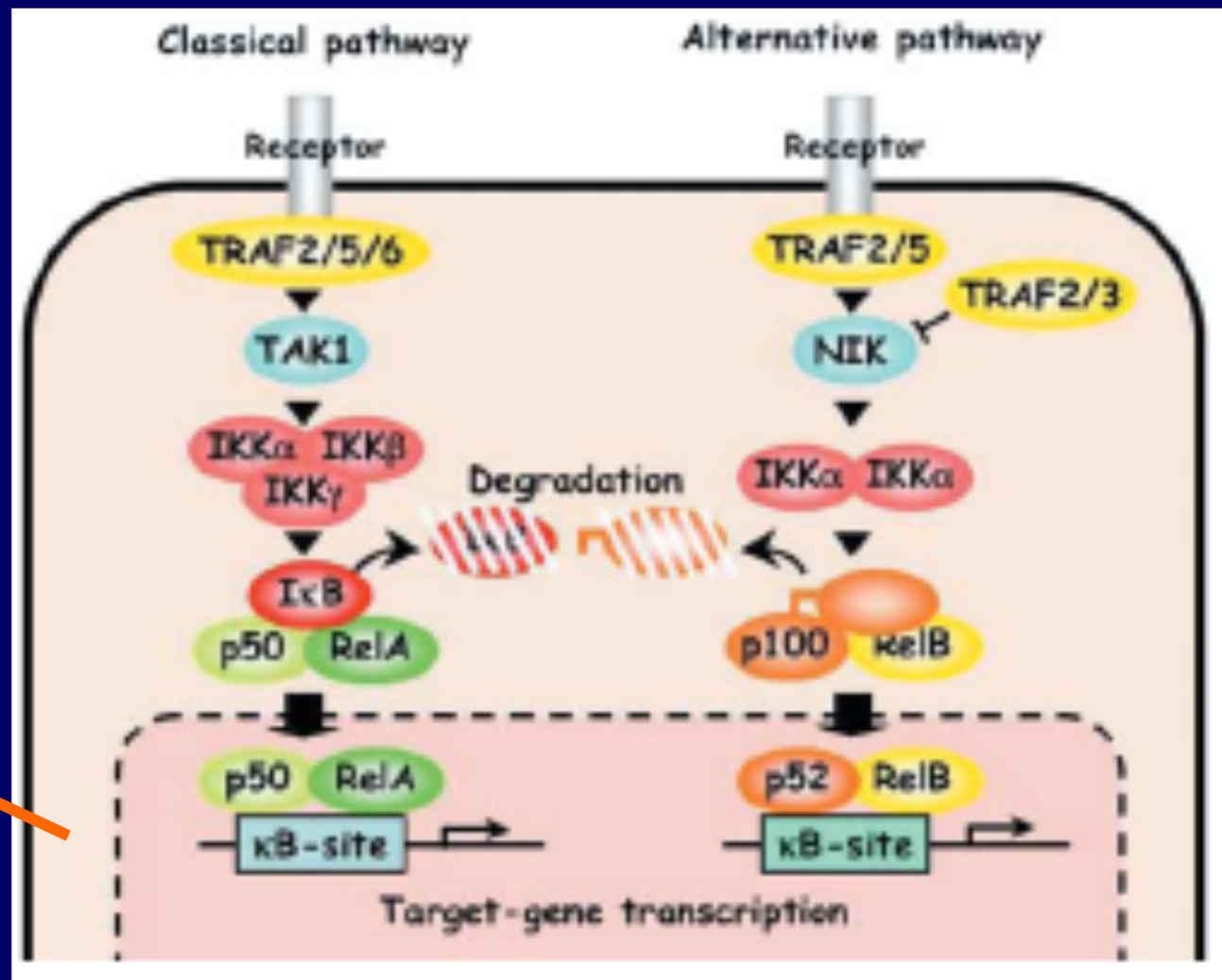
# BIOTRANSFORMACE LIPIDŮ: ceramid aktivuje enzymy signální transdukce



# BIOTRANSFORMACE LIPIDŮ: kys. arachidonová - substrát CYP, LOX a COX



# REGULACE EXPRESE TRANSKRIPČNÍMI FAKTORY NF- $\kappa$ B



GENOVÁ EXPRESE  
COX-2, PLA2, iNOS,  
cytokinů (TNFa aj.),  
chemokinů

PROZÁNĚTLIVÉ  
PROCESY