

Enzymy 2. fáze biotransformace a antioxidační enzymy

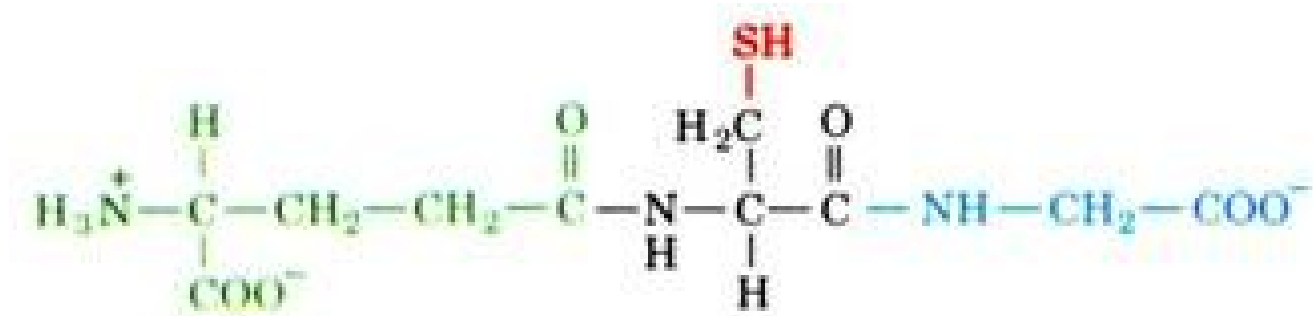
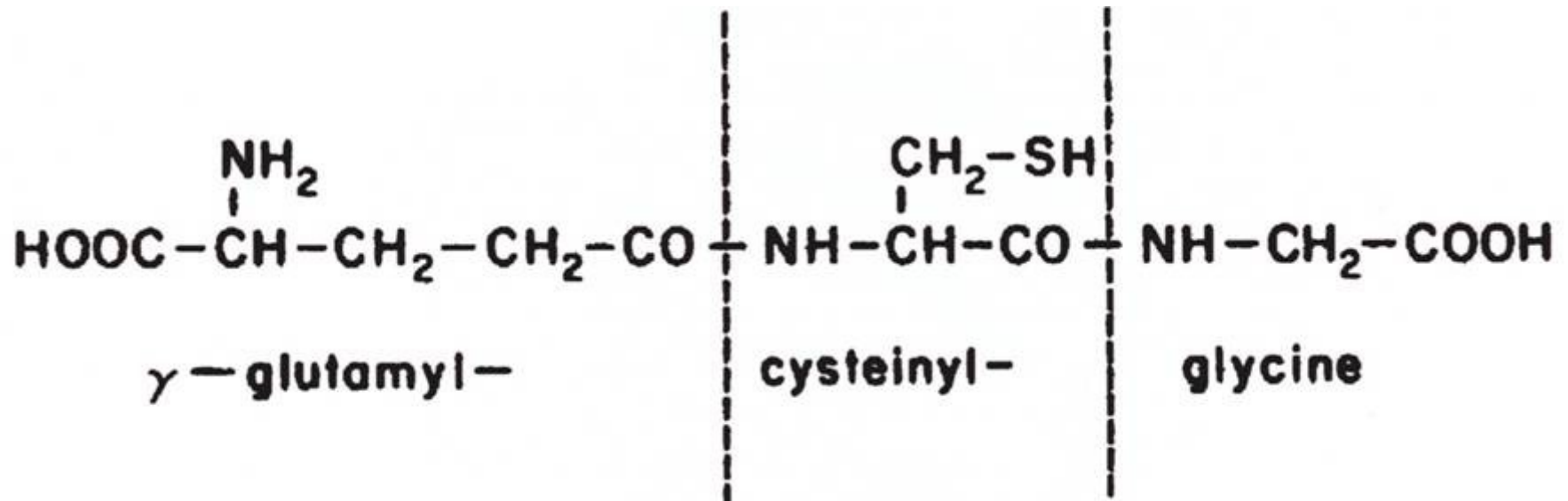
ENZYMY METABOLISMU CIZORODÝCH LÁTEK

- Enzymy 1. fáze biotransformace xenobiotik, steroidních hormonů a mastných kyselin - monooxygenázy (CYP, AKR, FMO), reduktázy (AKR, NQO), hydrolázy (esterázy, epoxidhydrolázy); další reakce: hydratace, isomerace.
- 2. fáze biotransformace - transferázy (GST, UDPGT, SULF, acetylázy aj.); antioxidantní enzymy (SOD, CAT, GPx, GR).
- 3. fáze biotransformace (ABC transportéry)

ENZYMY 2. FÁZE BIOTRANSFORMACE:

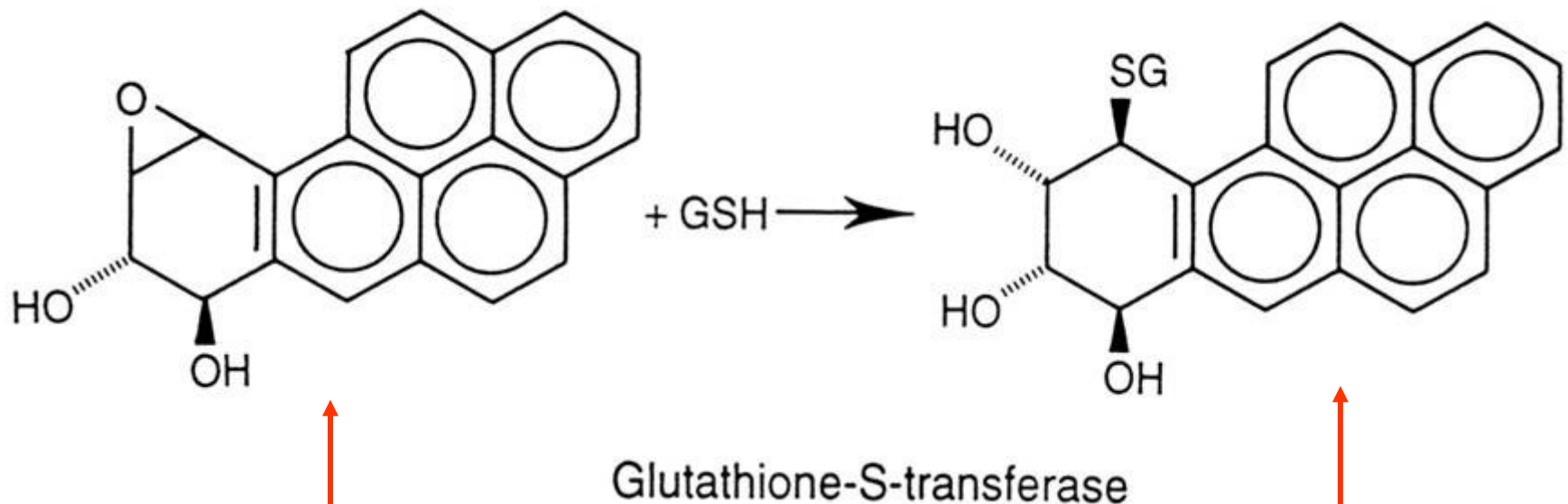
- Glutathion-S-transferázy (GST)
- Uridindifosfoglukuronyltransferázy (UDPGT)
- Sulfotransferázy (SULF)
- N-, O-acetyltransferázy (NAT, OAT)
- Methyltransferázy
- Enzymy syntézy kyseliny merkapturové (GSH konjugáty jsou buď z těla vyloučeny žlučí, nebo jsou dále přeměněny na deriváty kys. merkapturové)
- **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

GLUTATHION-S-TRANSFERÁZY - TYPICKÉ SCHÉMA KONJUGAČNÍ REAKCE



Reaktivní intermediát BaPDE
(příklad elektrofilního substrátu)

Konjugát

KLASICKÁ KLASIFIKACE GST ENZYMŮ

Funkční GST enzymy
jsou dimery;

cytosolické nadrodiny:

alfa = GSTA (GSTA1-GSTA5),

mí = GSTM (GSTM1-GSTM5),

pí = GSTP (1 zástupce GSTP1),

theta = GSTT (GSTT1),

a dále kappa (v mit. a peroxisom.),

omega, zéta.

Indukce přes XRE, ARE

Gen. polymorfismus (nižší
enzymová aktivita):

GSTA1, GSTM1,

GSTM3, GSTP1 = vyšší

susceptibilita k rakovině plic,

prsu, kolonu!

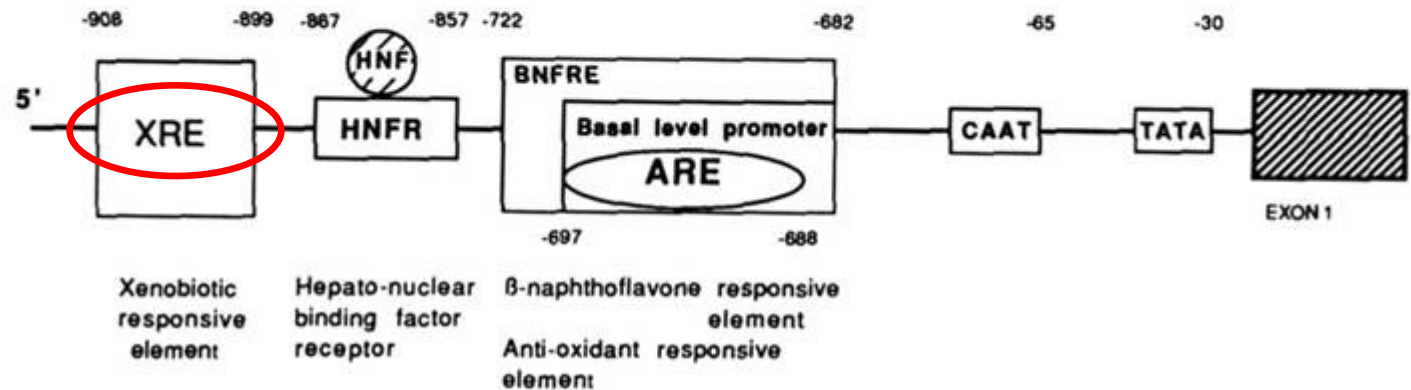
Isoenzyme	Class	Apparent subunit M _r (kdalton) ^a	Subunit M _r ^b
1-1	Alpha	25	25 434
1-2	Alpha	25 + 28	—
2-2	Alpha	28	25 209
3-3	Mu	26.5	25 806
3-4	Mu	26.5	—
3-6	Mu	26.5 + 26	—
4-4	Mu	26.5	25 592
4-6	Mu	26.5 + 26	—
5-5	— ^c	26.5	—
6-6 ^d	Mu	26	—
7-7	Pi	24	23 307
8-8	Alpha	24.5	—
Microsomal	—	17	17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



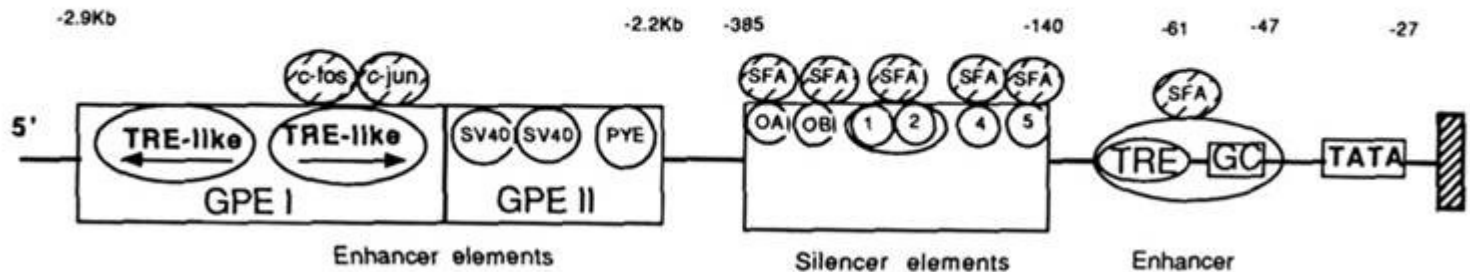
membránově vázaná GST (gen. nadrodina MGST)

REGULACE GENOVÉ EXPRESE ISOENZYMŮ GST

GST-1 gene regulatory elements



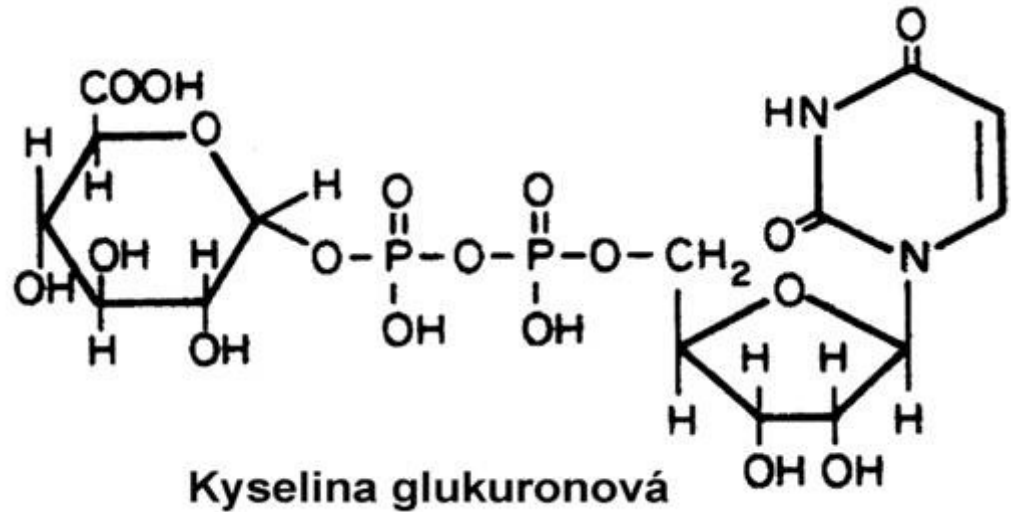
GST-7 gene regulatory elements



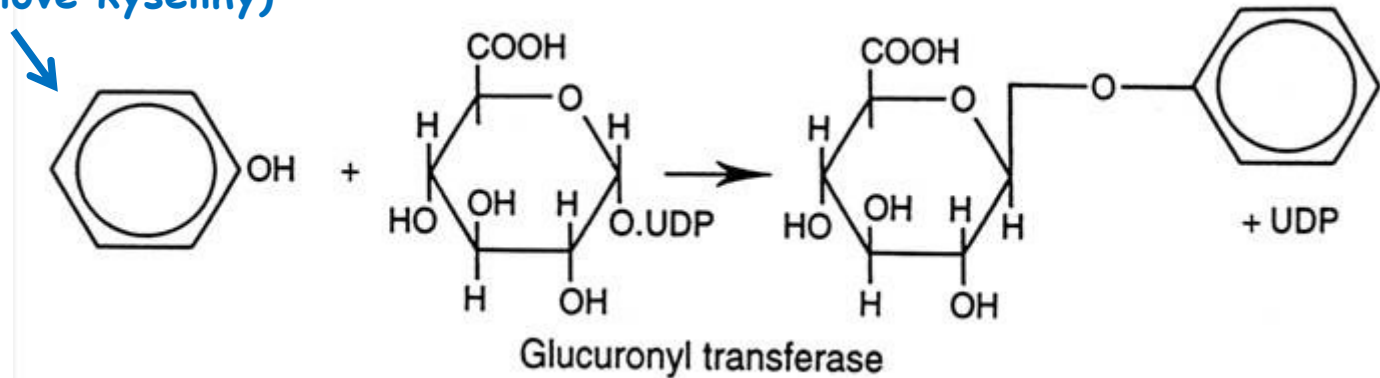
XRE = xenobiotic-response element; ARE = antioxidant-response element;
GPE = GST-P enhancer; u některých isoenzymů „Barbie box element“ (PB-induc.),
glucocorticoid-responsive element (GRE)

UDP-GLUKURONYLTRANSFERÁZY

Konj. agens elektrofil
(kys. UDP-glukuronová)



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

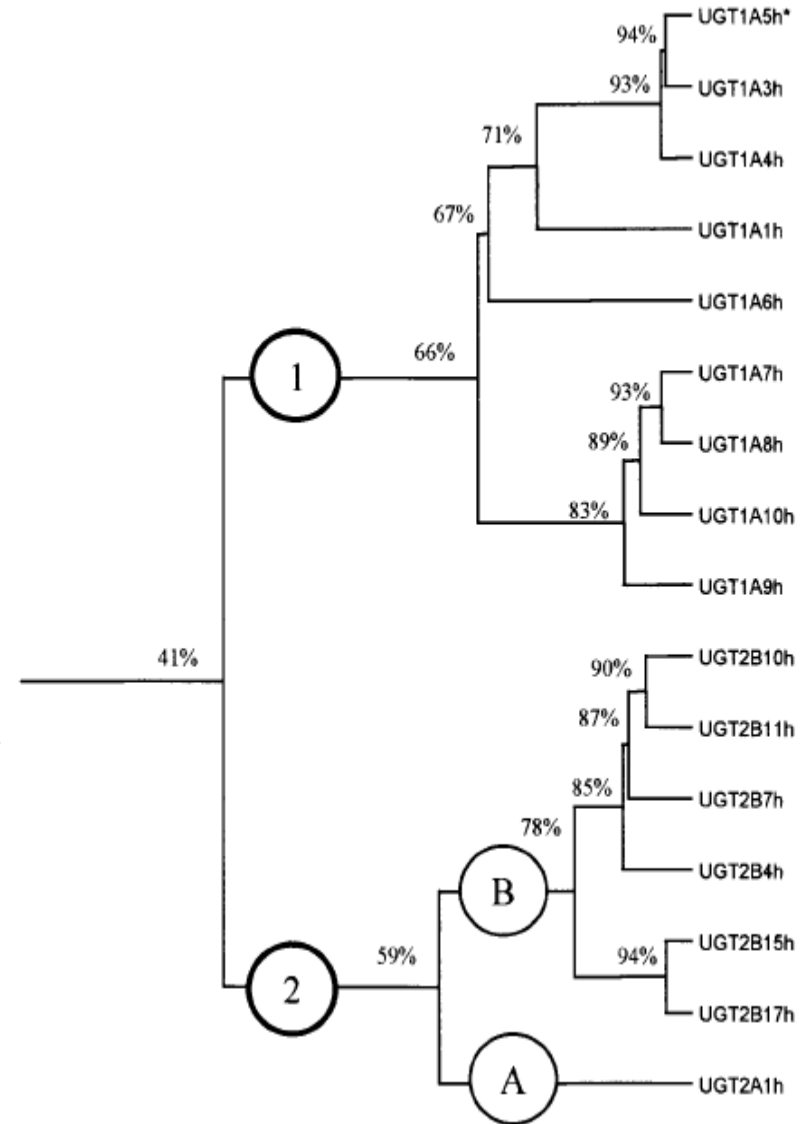


Sekvenční příbuznost UGT, hlavní proteiny UGT

Lidské gen. rodiny: UGT1, UGT2;
v játrech podrodiny UGT1A (např. enzym
UGT1A1) a UGT2B.

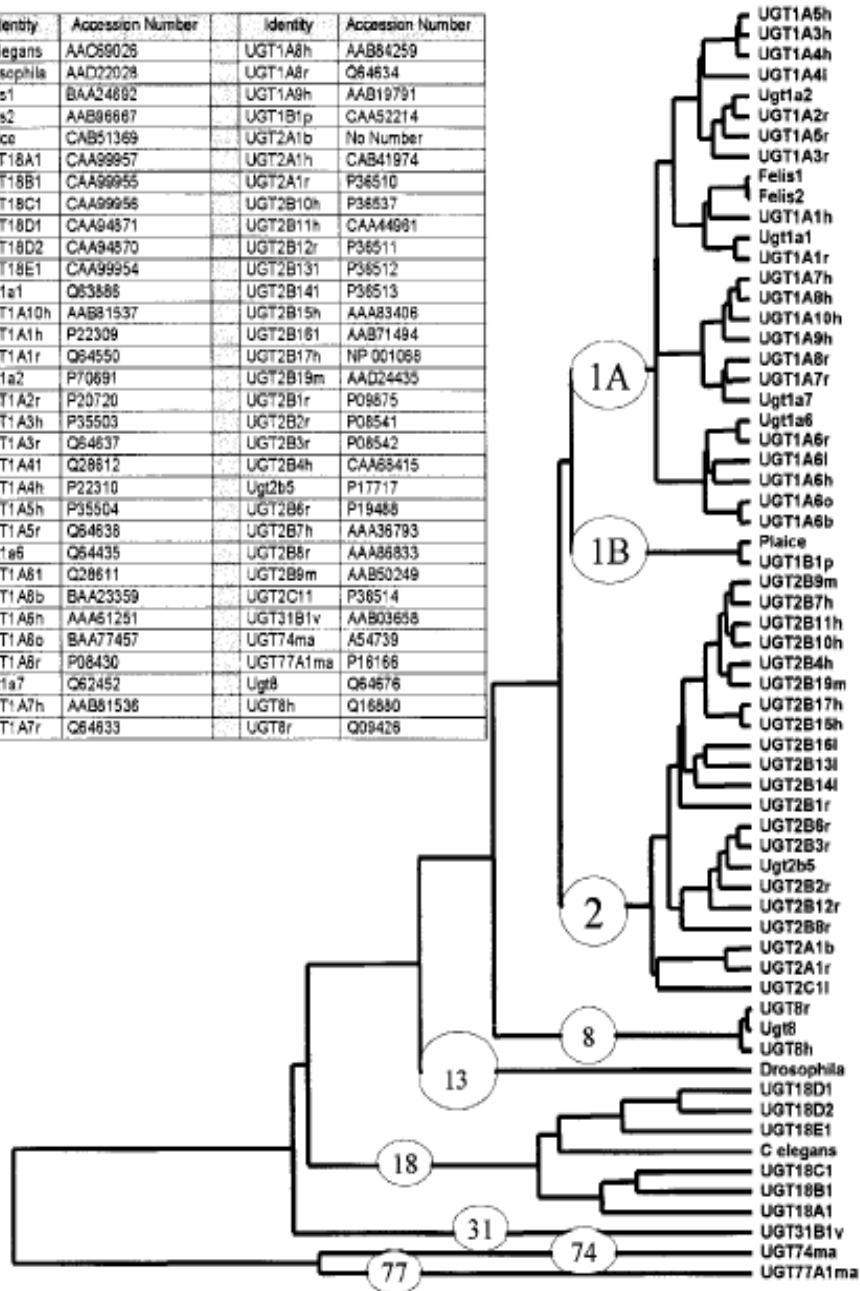
Induktory jsou ligandy CAR, PXR, AhR;

UGT = nejvýznamnější konjugační enzymy



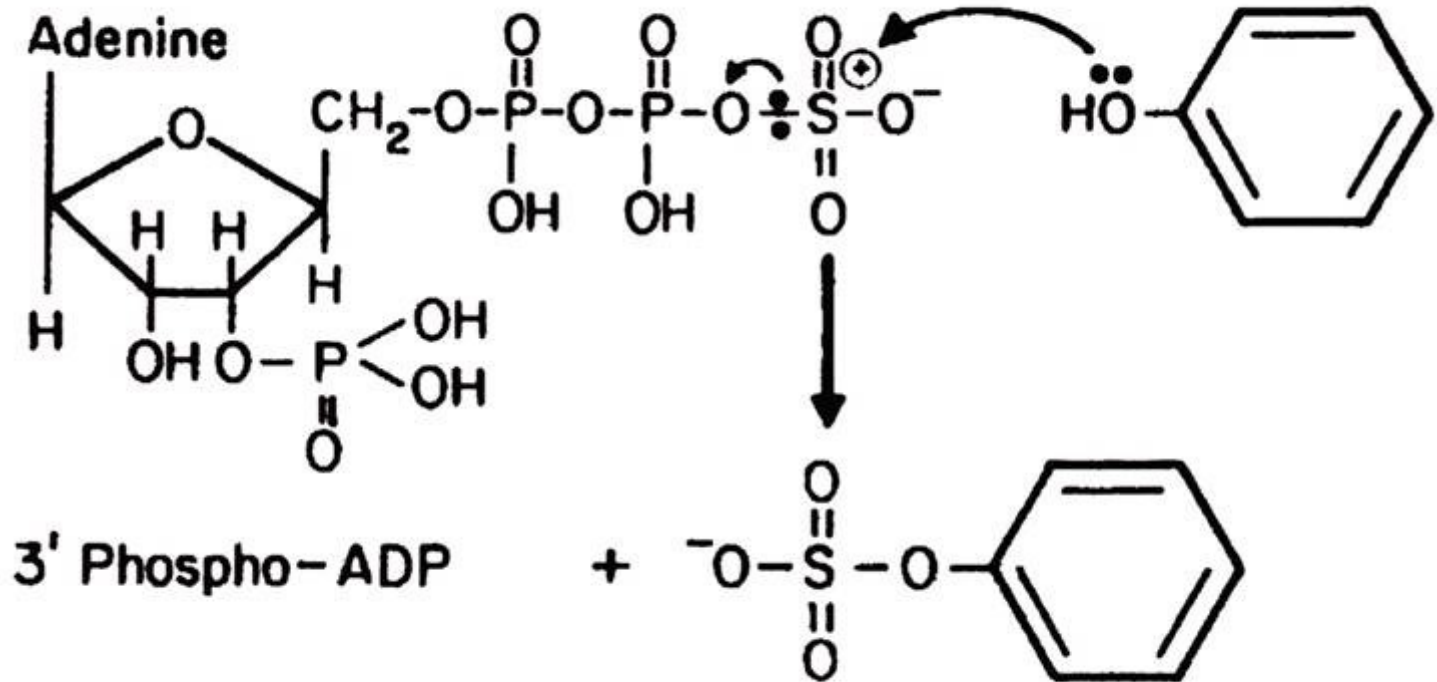
KLASIFIKACE UGT

Identity	Accession Number	Identity	Accession Number
<i>C. elegans</i>	AA089026	UGT1A8h	AAB84259
<i>Drosophila</i>	AAD22028	UGT1A8r	Q64634
Felis1	BAA24882	UGT1A9h	AAB19791
Felis2	AAB86667	UGT1B1p	CAA52214
Plaice	CAB51369	UGT2A1b	No Number
UGT18A1	CAA99957	UGT2A1h	CAB41974
UGT18B1	CAA99955	UGT2A1r	P36510
UGT18C1	CAA99956	UGT2B10h	P36537
UGT18D1	CAA94871	UGT2B11h	CAA44981
UGT18D2	CAA94870	UGT2B12r	P36511
UGT18E1	CAA99954	UGT2B13l	P36512
Ugt1a1	Q63886	UGT2B14l	P36513
UGT1A10h	AAB81537	UGT2B15h	AA83408
UGT1A1h	P22309	UGT2B16l	AAB71484
UGT1A1r	Q64550	UGT2B17h	NP_001068
Ugt1a2	P70691	UGT2B19m	AAD24435
UGT1A2r	P20720	UGT2B1r	P08675
UGT1A3h	P35503	UGT2B2r	P08541
UGT1A3r	Q64637	UGT2B3r	P08542
UGT1A4l	Q28612	UGT2B4h	CAA68415
UGT1A4h	P22310	Ugt2b5	P17717
UGT1A5h	P35504	UGT2B6r	P19486
UGT1A5r	Q64638	UGT2B7h	AAA36793
Ugt1a6	Q64435	UGT2B6r	AAA66833
UGT1A8l	Q28611	UGT2B9m	AAB50249
UGT1A8b	BAA23359	UGT2C1l	P36514
UGT1A8h	AAA61251	UGT31B1v	AAB03658
UGT1A8o	BAA77457	UGT74ma	A54739
UGT1A8r	P08430	UGT77A1ma	P18166
Ugt1a7	Q62452	Ugt8	Q64676
UGT1A7h	AAB81536	UGT8h	Q16880
UGT1A7r	Q64633	UGT8r	Q09426



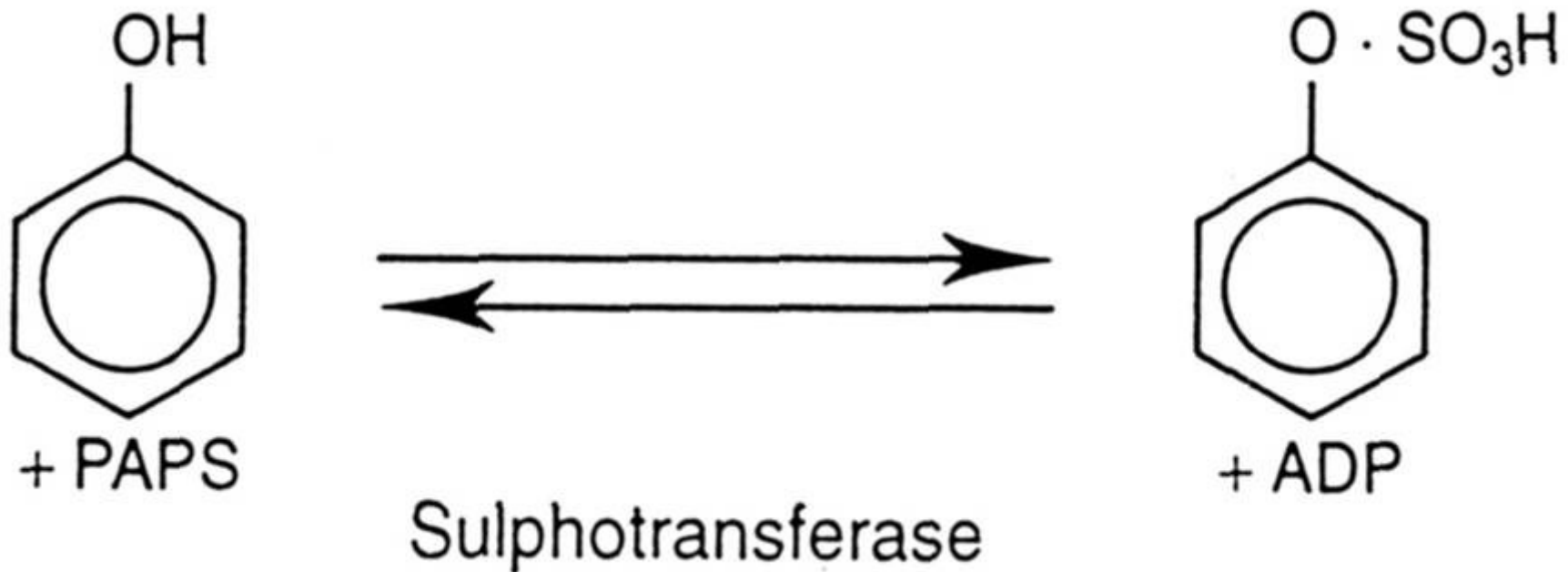
SULFOTRANSFERÁZY

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

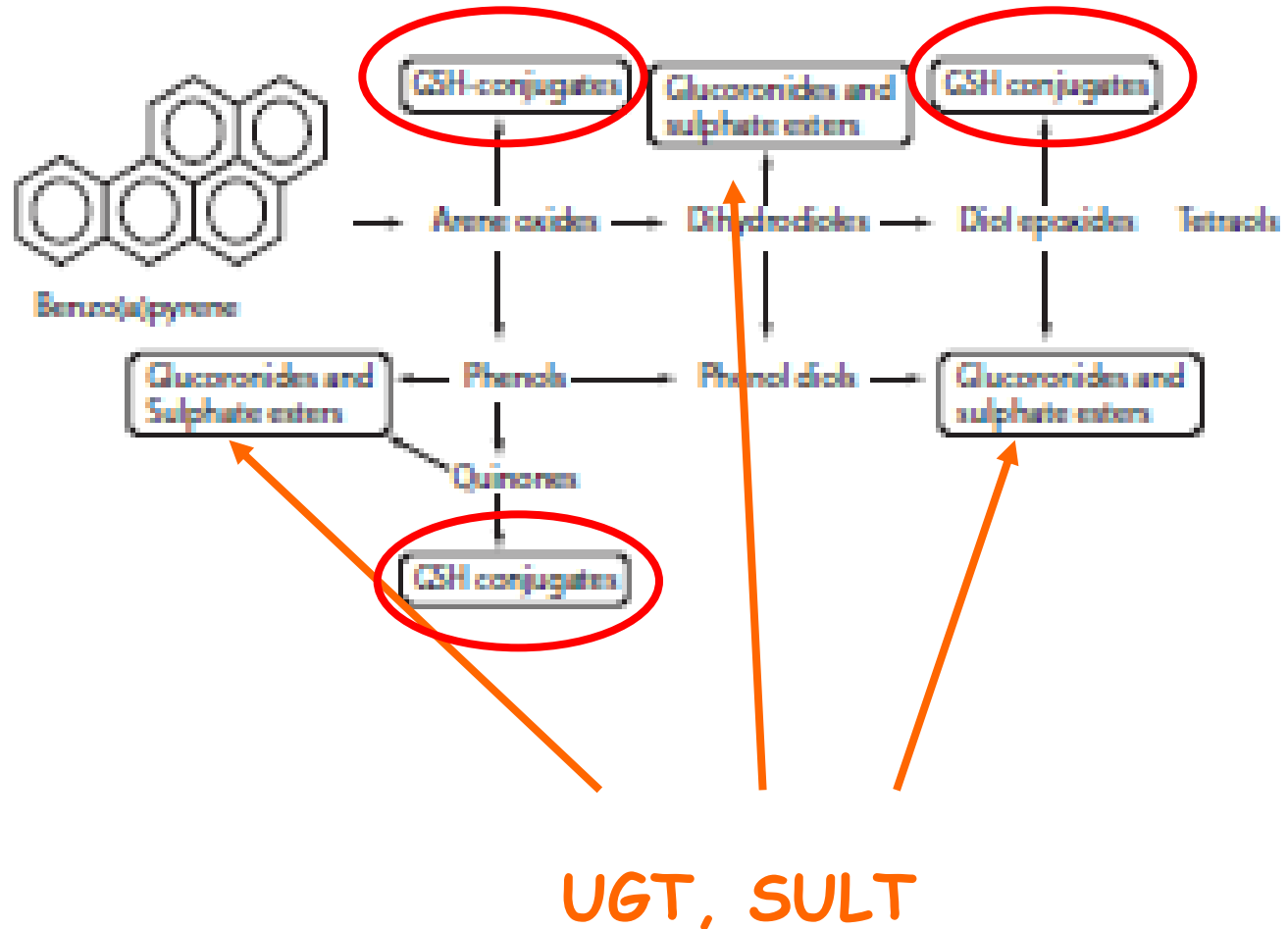


SULFOTRANSFERÁZY

sumární rovnice



ÚČAST GST, SULT A UGT V METABOLISMU BENZO/a/PYRENU

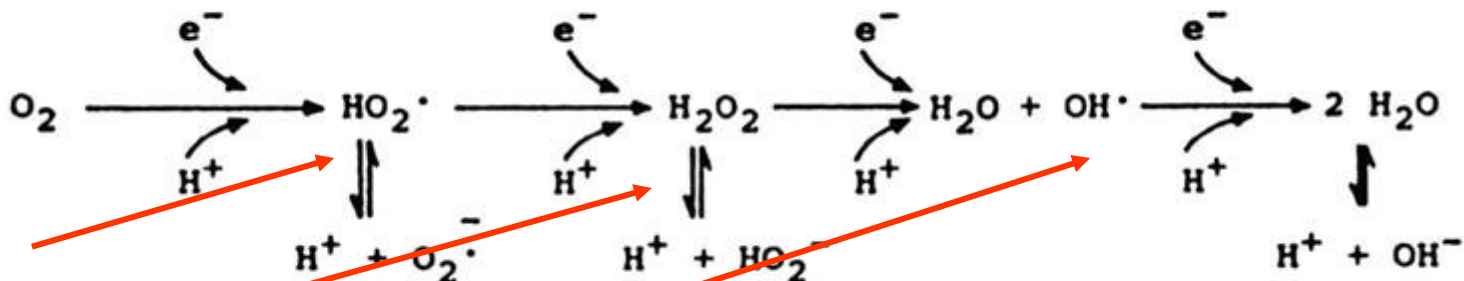


ANTIOXIDAČNÍ OBRANNÉ SYSTÉMY

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

REAKTIVNÍ FORMY KYSLÍKU (ROS)

- 1) reaktivní formy kyslíku (ROS), NO aj. reaktivní formy dusíku;
- 2) reaktivní metabolity xenobiotik, membránových fosfolipidů aj.

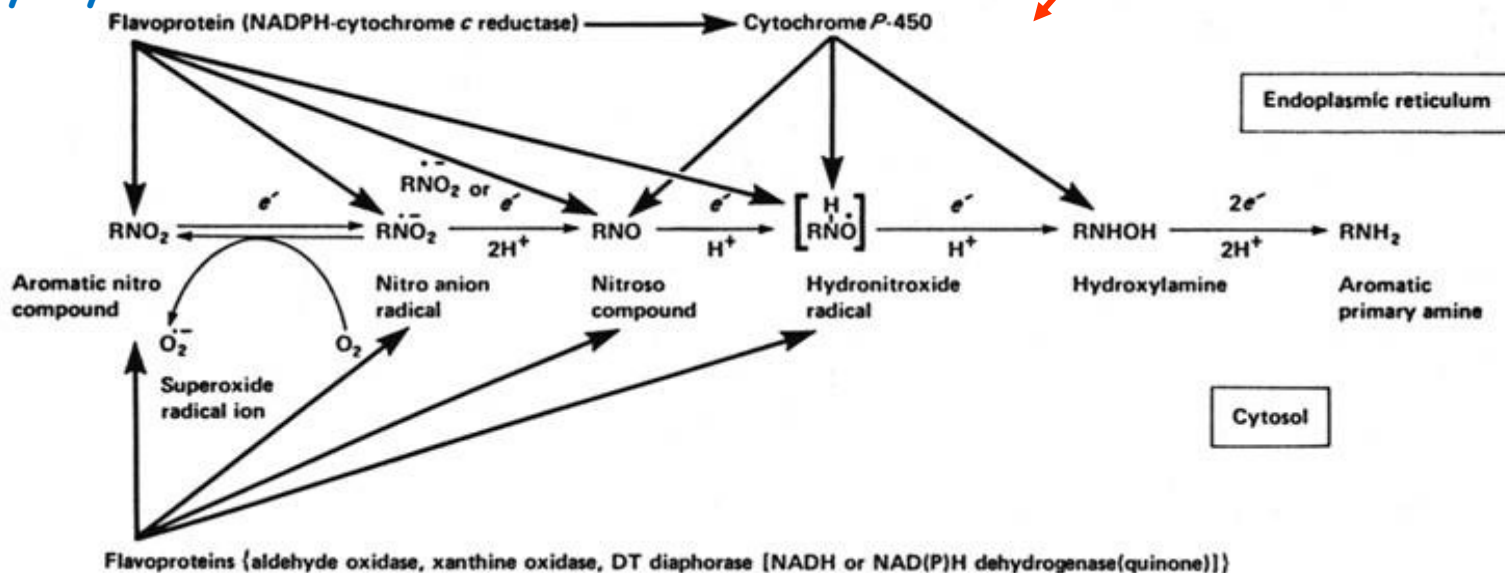


Superoxid

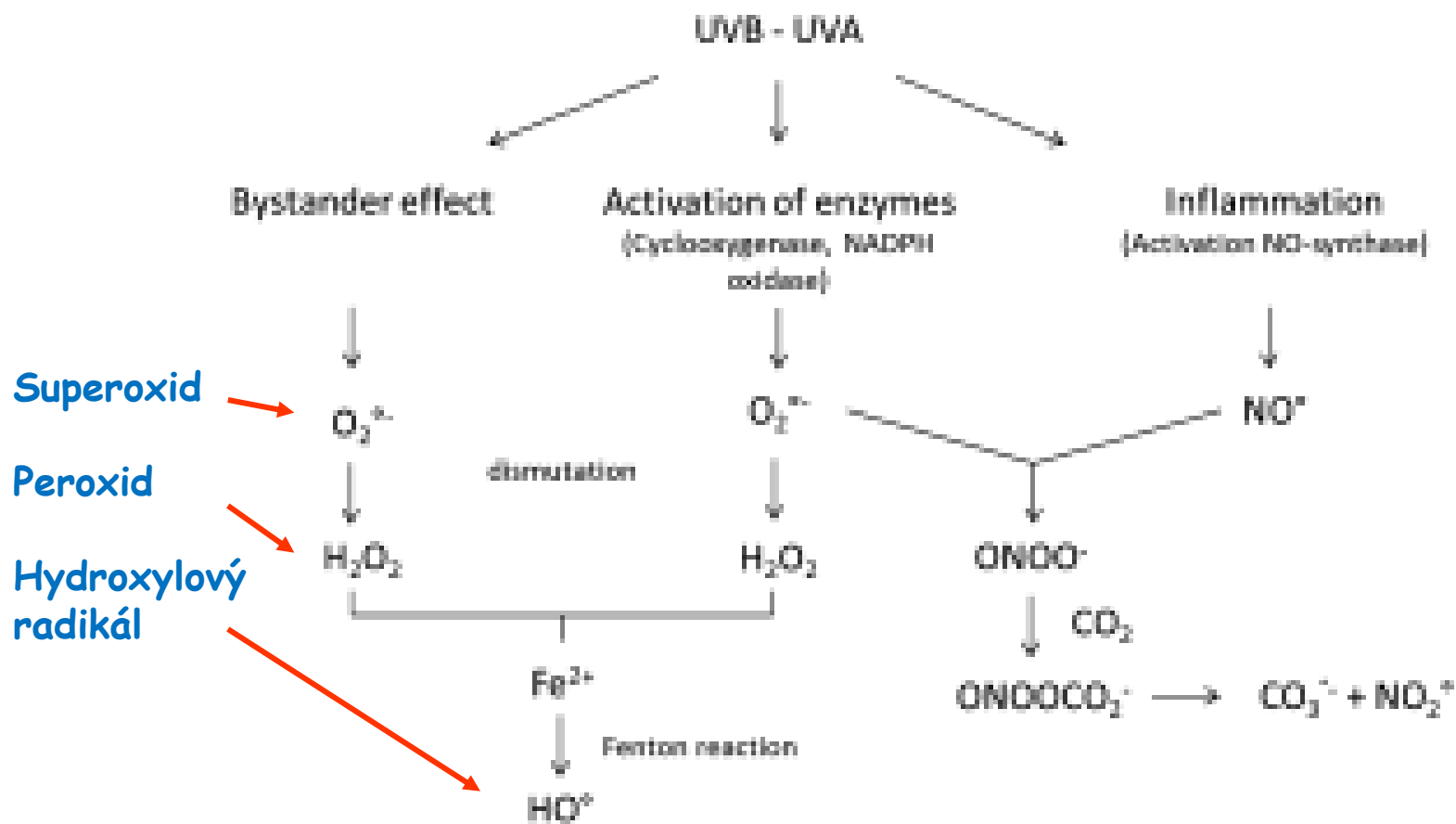
Peroxid

Hydroxylový radikál

Redukce nitrosloučenin



REAKTIVNÍ FORMY KYSLÍKU (ROS) A DUSÍKU (NOS) - příklad jejich generování po ozáření



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

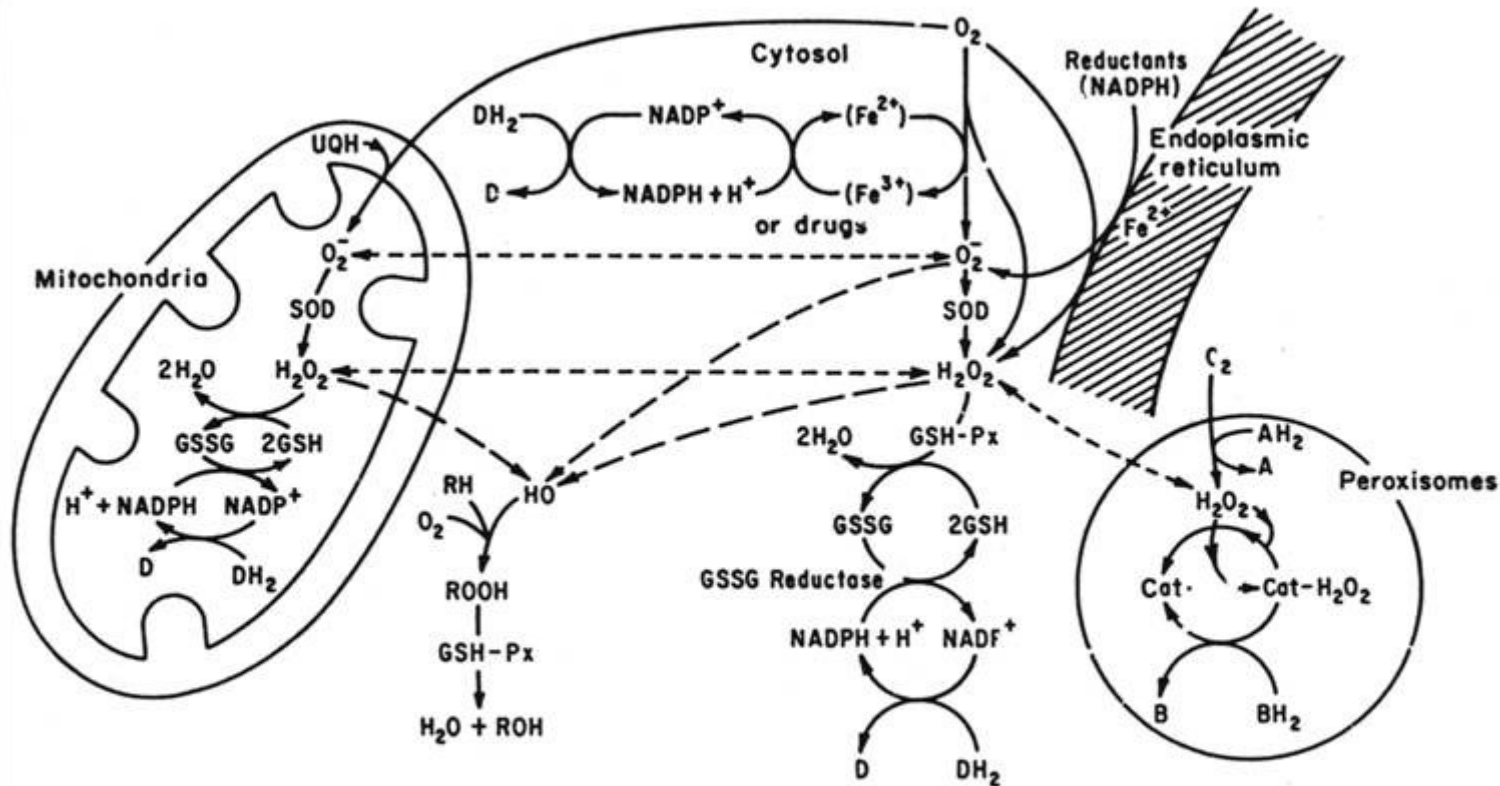
ANTIOXIDAČNÍ OBRANNÉ SYSTÉMY (NÍZKOMOLEKULÁRNÍ LÁTKY):

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
- **β -karoten** zháší $O_2^{\cdot-}$, reakce s peroxyly; metabolický prekursor vitamínu A, výskyt v membránách
- **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.

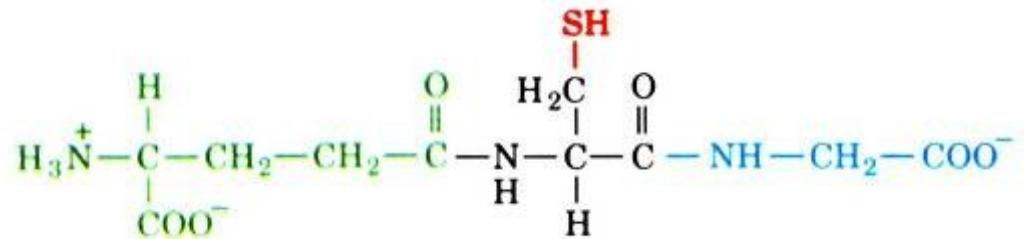
sloučeniny
rozpustné
ve vodě

ANTIOXIDAČNÍ ENZYMY V OBRANĚ PROTI ROS



uplatňuje se v cytosolu, mitochondriích, endoplasmatickém retikulu, peroxisomech (SOD - CAT - GPx - GR)

GLUTATHION JAKO ANTIOXIDANT



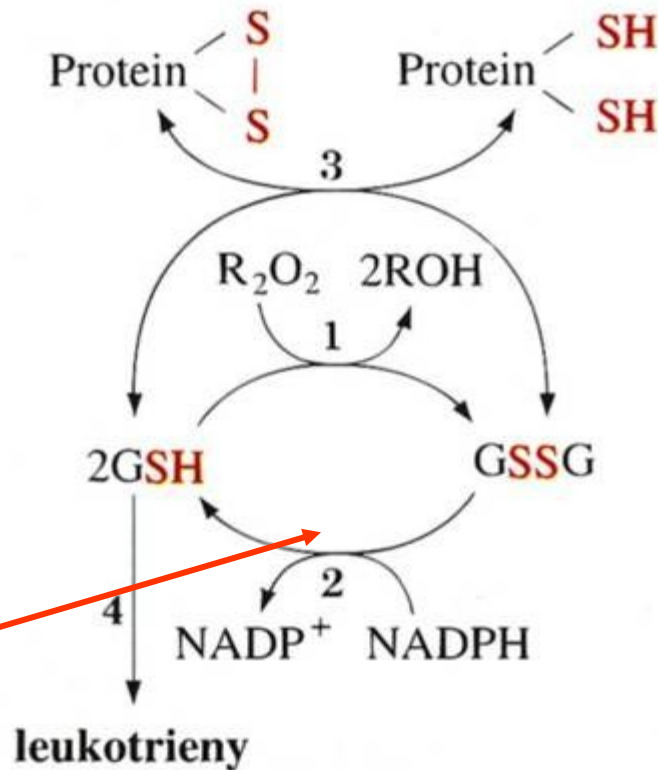
Funkce GSH:

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

Další funkce:

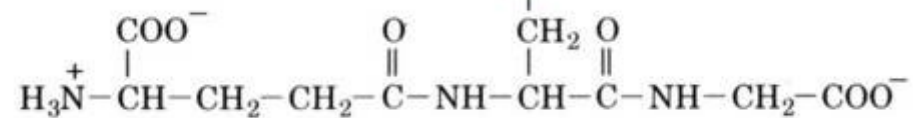
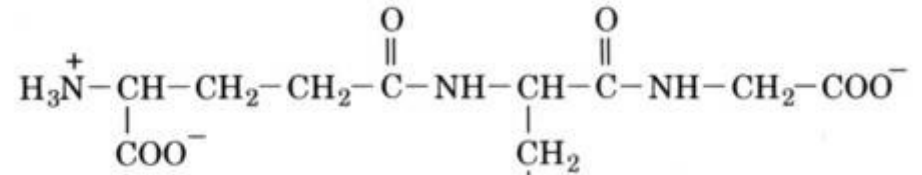
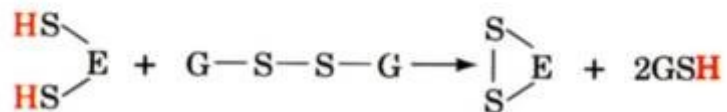
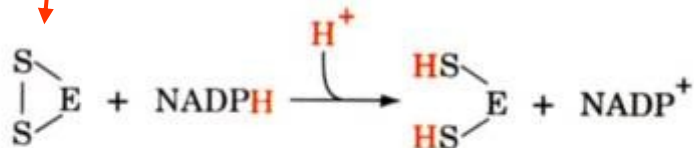
- kofaktor konjugačních reakcí katalyzovaných GST, např. s fenoly
- účast v biosyntéze leukotrienů

Redukce GSSG na GSH pomocí GR

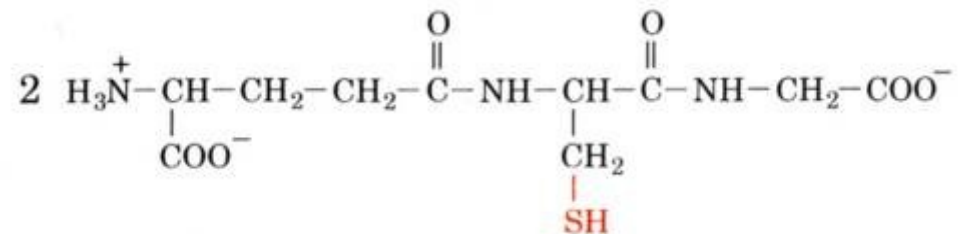
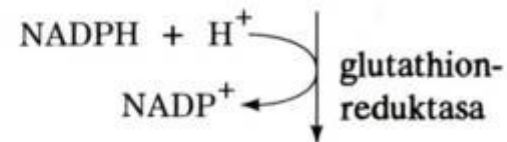


GLUTATHIONREDUKTÁZA

GR



glutathiondiszulfid (GSSG)



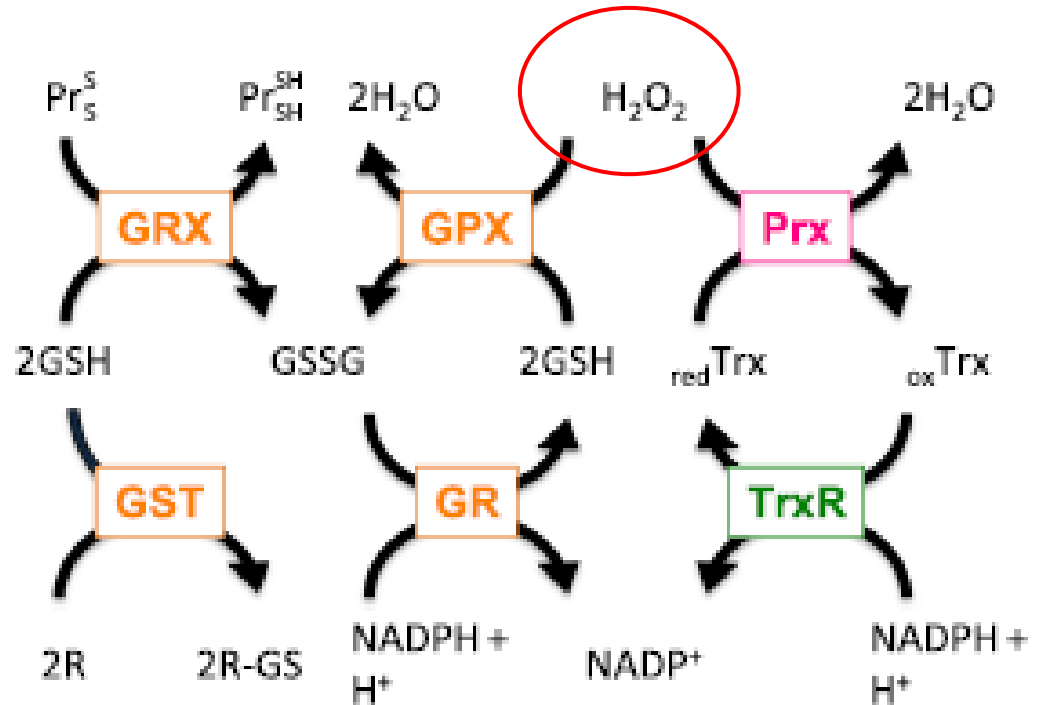
glutathion (GSH)

(γ -L-glutamyl-L-cysteinylglycine)

PŘEHLED ANTIOXIDAČNÍCH SYSTÉMŮ

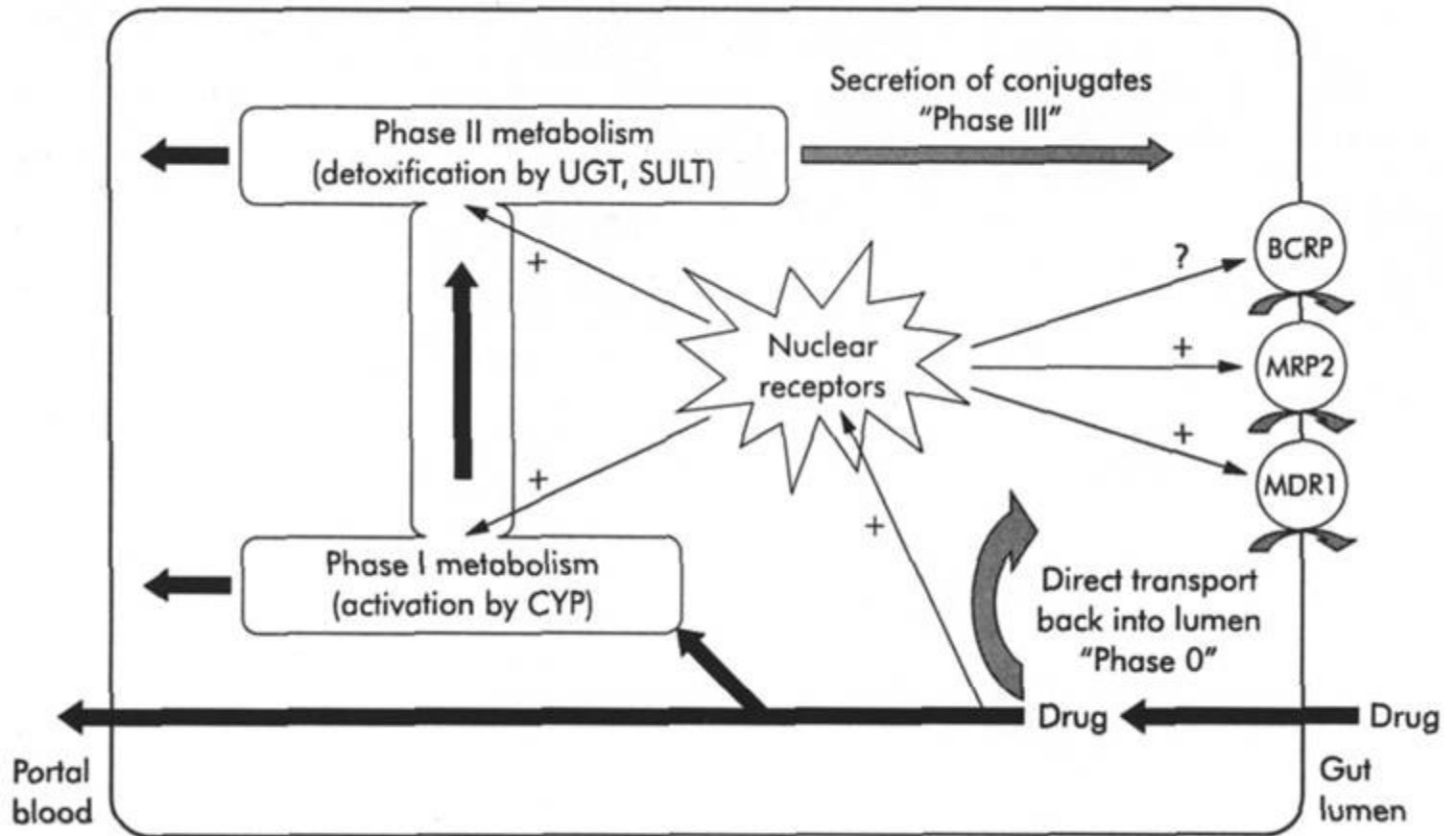
Centrální role glutathionu
glutaredoxin (GRX)
glutathionreduktáza (GR)

Další antioxidant -
peroxiredoxin (Prx) je
recyklován pomocí
thioredoxinu (Trx),
oxidovaný stav Trx je
redukován
thioreduxinreduktázou
(TrxR)



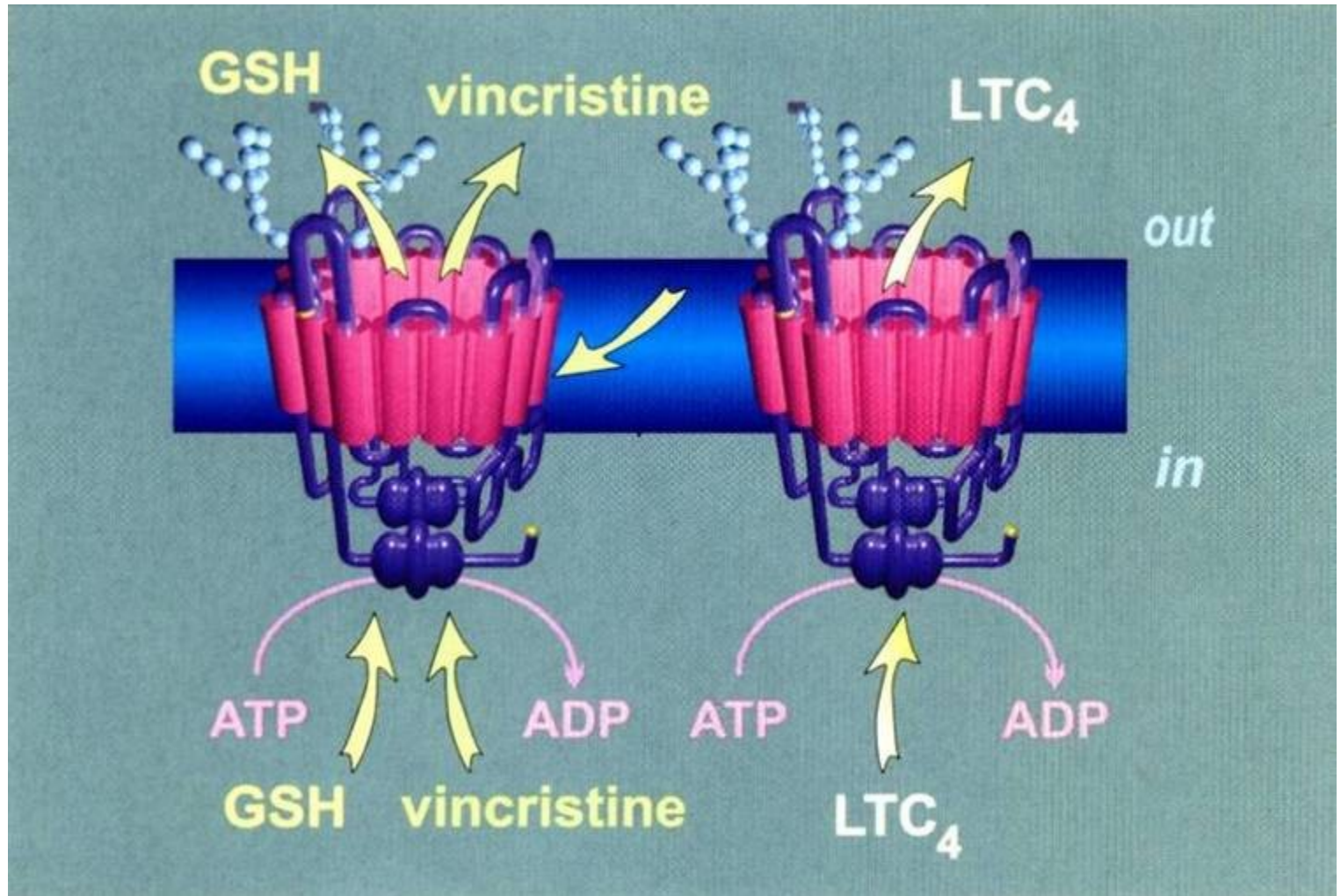
3. FÁZE BIOTRANSFORMACE

3. FÁZE BIOTRANSFORMACE (ABC TRANSPORTÉRY)



ABC TRANSPORTÉRY: MULTIDRUG RESISTANCE (MDR) SYSTEM

Transport lipidů, xenobiotik aj. látek vně přes buněčnou membránu



3. FÁZE BIOTRANSFORMACE (ABC TRANSPORTÉRY)

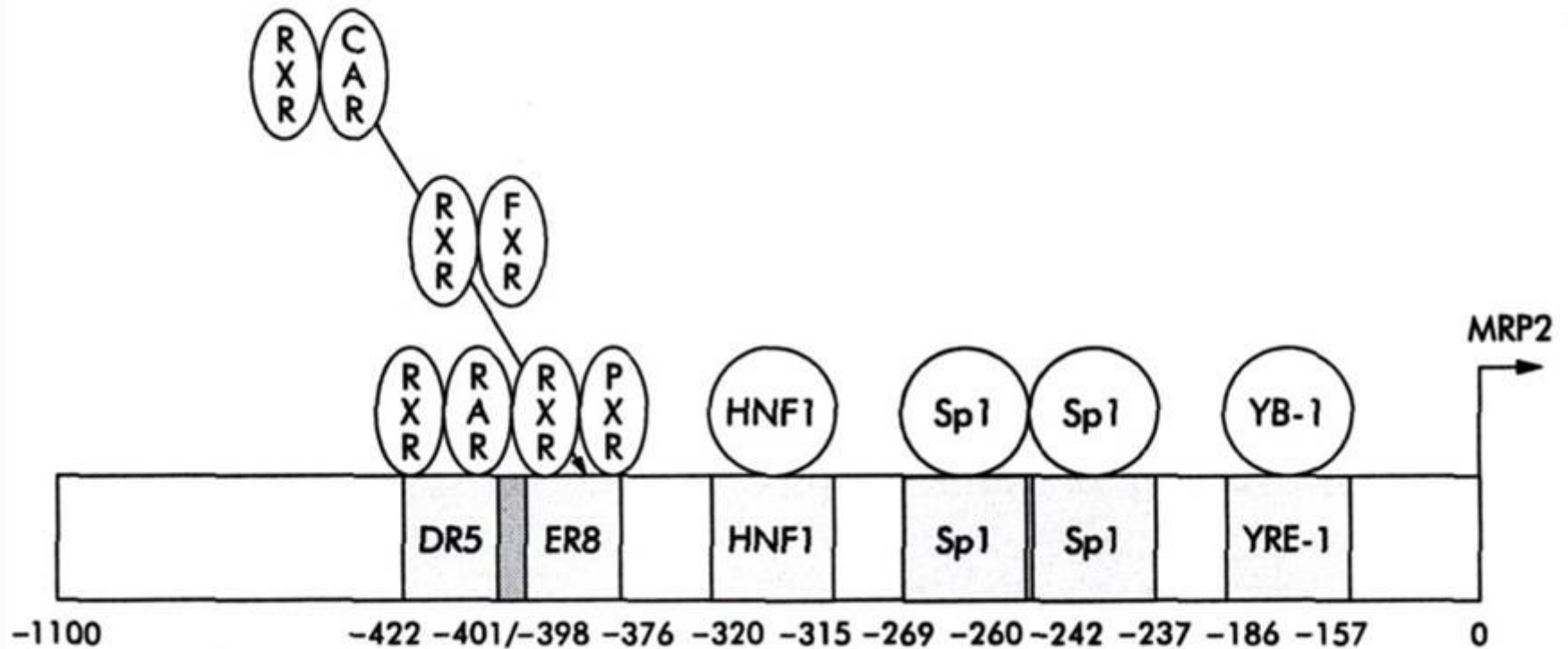
Nejvýznamnější zástupci ABC (ATP Binding Cassette) transportérů:

1. ABCC - transport aniontů včetně S-glutathionyl- a sulfátových konjugátů
MRP1 (ABCC1, *mrp1* gen) transportuje přes membránu LTC4, D4, E4; komplexuje oxidovaný glutathion (GSSG)
2. ABCB - transport peptidů, transmembránový transport xenobiotik v játrech, placentální bariére aj.
P-glykoprotein (P-gp = ABCB1, *mdr1* gen) odstraňuje Vinca alkaloidy (vincristine, vinblastine), anthracykliny (doxorubicin, daunorubicin), taxoly (paclitaxel)

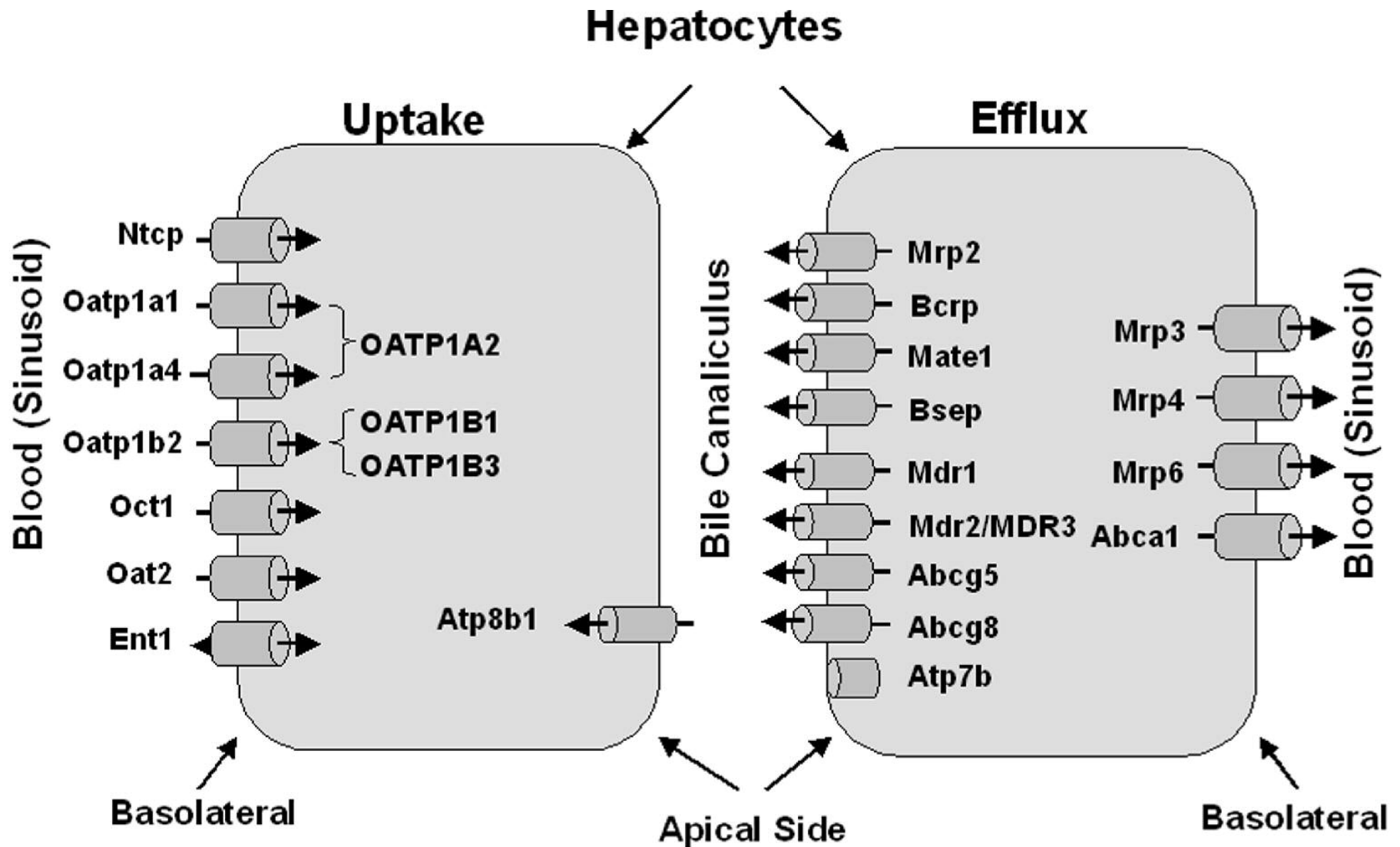
Chemosensitizers: calcium channel blockers (verapamil), antagonisté calmodulinu (chlorpromazine), steroidy (prog., kortisol, tamoxifen), xanthiny (pentoxifyline)

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

3. FÁZE BIOTRANSFORMACE: KOMPLEXNÍ REGULACE GENOVÉ EXPRESE



JATERNÍ TRANSPORTÉRY



RENÁLNÍ TRANSPORTÉRY

Proximal Tubular Cells

Excretion

Reabsorption

