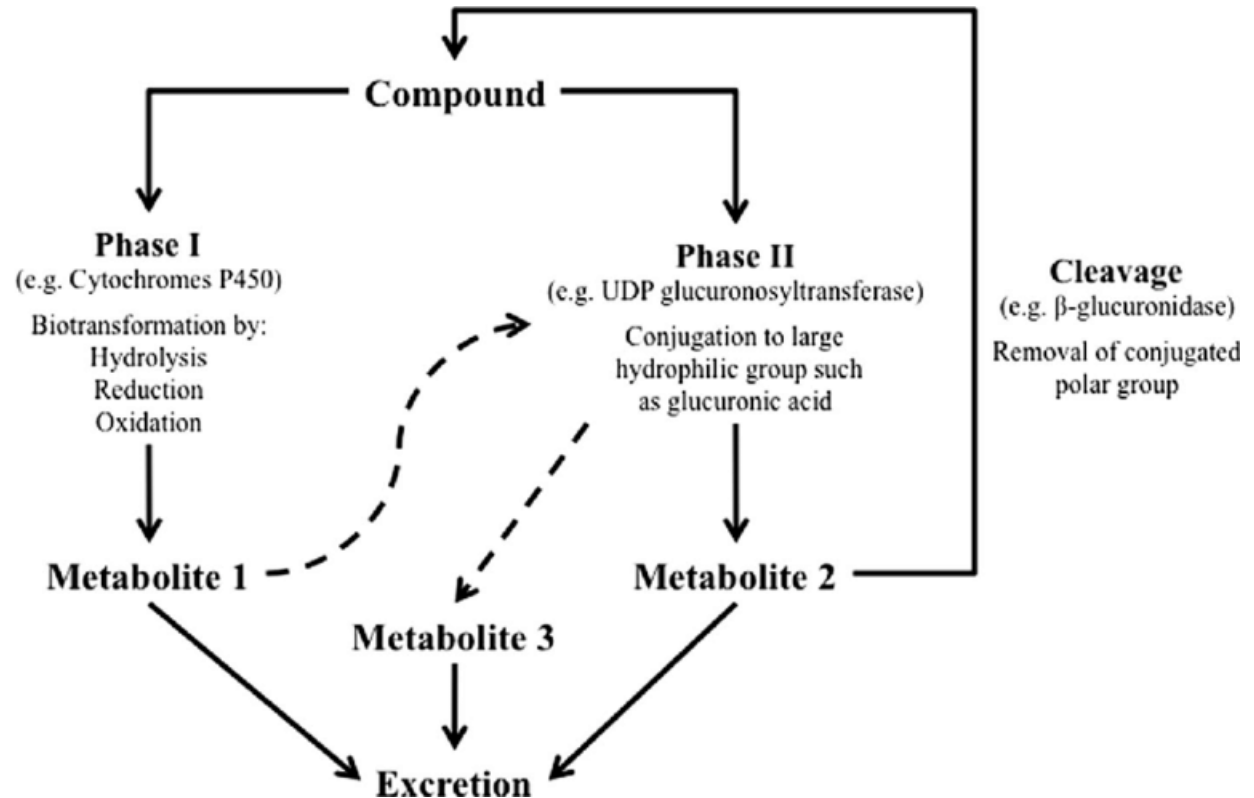


**Biotransformace I: metabolismus
cizorodých látek a regulace hladin
biotransformačních enzymů**

Enzymy metabolismu cizorodých látek

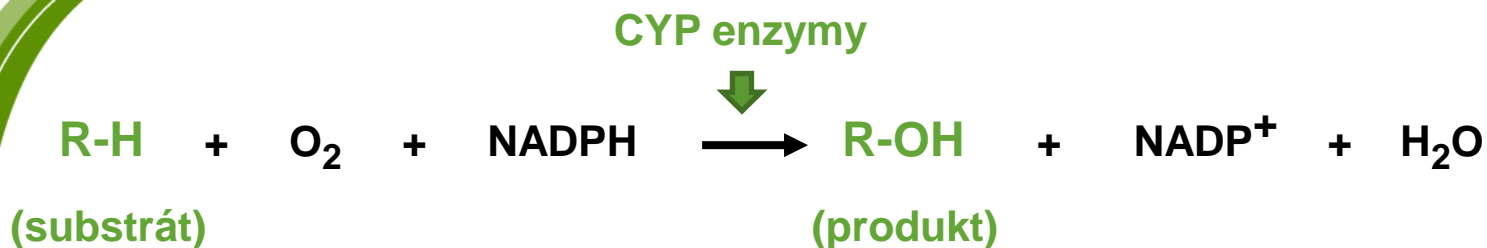
- Enzymy 1. fáze biotransformace xenobiotik, steroidních hormonů a mastných kyselin – monooxygenázy (CYP, AKR, FMO), reduktázy (AKR, NQO), hydrolázy (esterázy, epoxidhydrolázy); další reakce: hydratace, izomerace;
- 2. fáze biotransformace – transferázy (GST, UDPGT, SULF, acetylázy aj.); antioxidantní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

Biotransformace cizorodých látek, steroidů, eikosanoidů a jiných endogenních látek



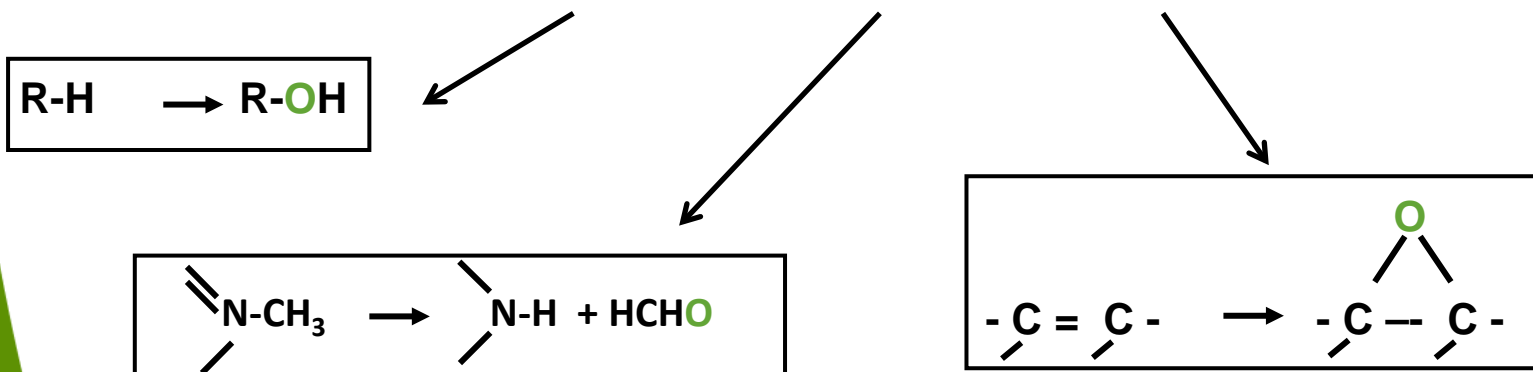
Natural variations in xenobiotic-metabolizing enzymes: Developing tools for coral monitoring; Rougee & Richmond, 2014

1. FÁZE BIOTRANSFORMACE: monooxygenázové reakce

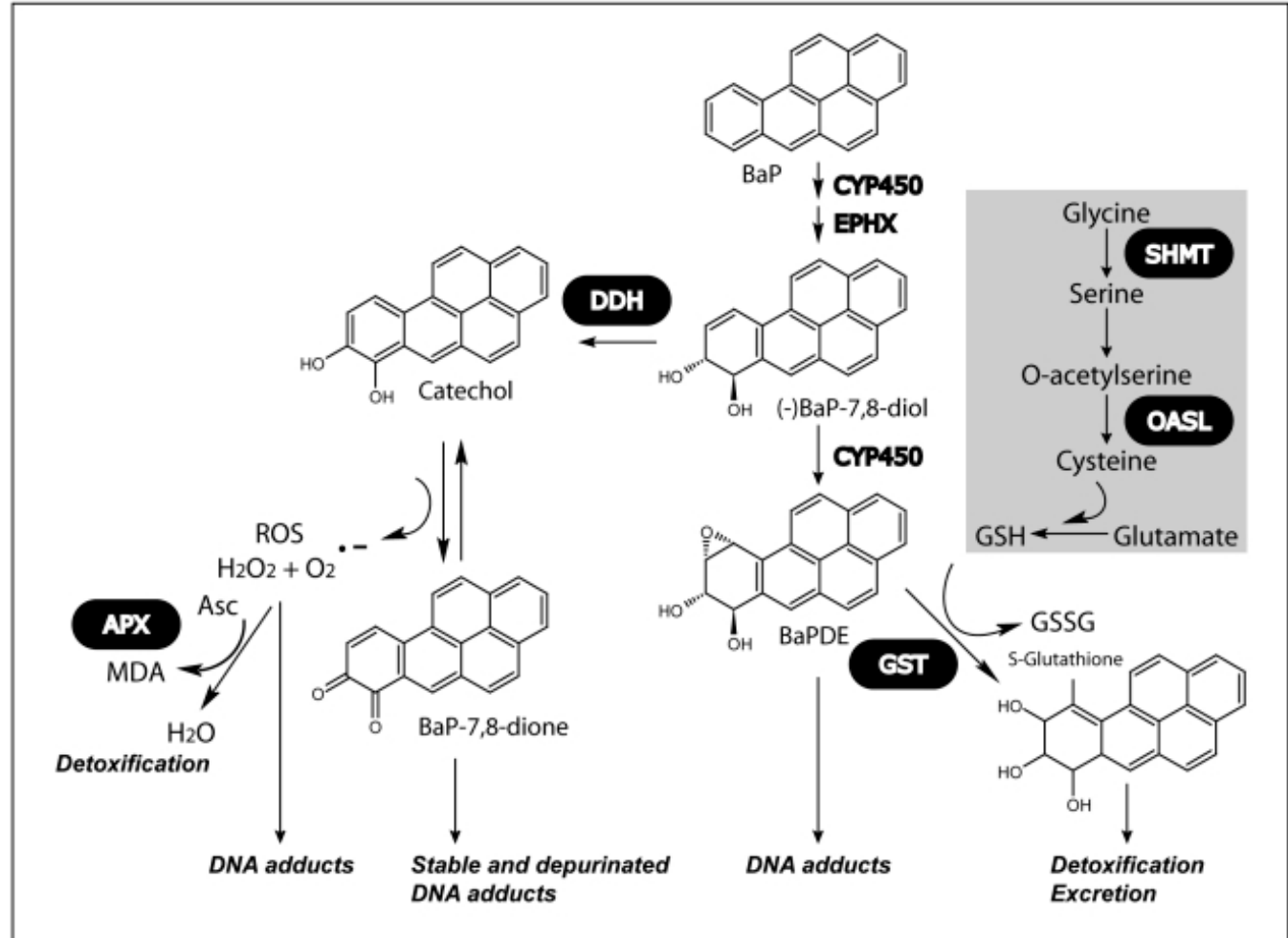


Funkce cytochromů P450 (CYP):

- Nejprve je nutný přenos elektronů z NADPH na CYP enzym (NADPH:P450-oxidoreduktáza)
- Aktivace molekuly kyslíku, „roztržení“ vazby
- Oxidace substrátu (hydroxylace, N-demethylace, epoxidace, dehalogenace...)



Role CYP1A1/CYP1A2/CYP1B1 a epoxid hydroláz v metabolické aktivaci polycyklických aromatických uhlovodíků



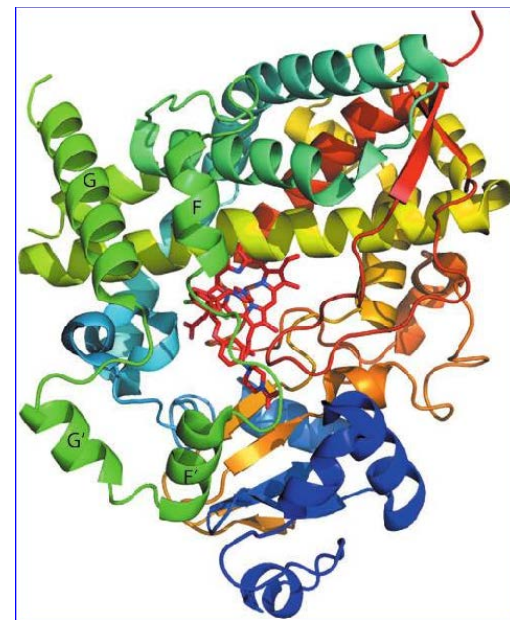
Transcriptomics Responses in Marine Diatom Thalassiosira pseudonana Exposed to the Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Benzo[a]pyrene; Carvalho 2011

Seznam nejvýznamnějších cytochromů P450, které jsou zodpovědné za biotransformaci cizorodých látek:

- CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1 (metabolizují polycyklické aromatické uhlovodíky);
- CYP2C9 (metabolizuje nesteroidní antiflogistika a další léčiva), CYP2D6 (beta-blokátory, kodein); CYP2E1 (org. rozpouštědla jako ethanol, benzen, toluen)
- CYP3A4 (metabolizuje asi 30% všech xenobiotik, především léčiv včetně antibiotik);
- CYP4A11 a další CYPs metabolizující mastné kyseliny (CYP4A = PUFA hydroxylázy; CYP2C a CYP2J = PUFA epoxygenázy) a některá xenobiotika.
- Další desítky CYP enzymů jsou zapojeny do biosyntézy a metabolismu endogenních látek, např. CYP7A (hydroxylace cholesterolu), CYP17 (hydroxylace steroidů), CYP19 (aromatáza – přeměna androgenů na estrogeny).

Vlastnosti cytochromů P450

- ▶ **Cytochromy P450** = hemoproteiny; v UV-VIS spektru maximum při 450 nm (v redukovaném stavu a navázaný oxid uhelnatý); výjimka mezi enzymy: široká substrátová specifita, různé katalytické aktivity, výskyt nejvíce v játrech, GIT, plicích, ledvinách, ale i v dalších tkáních).
- ▶ **Klasifikace podle podobnosti sekvencí**: genové rodiny CYP1, CYP2, CYP3, CYP4 atd., podrodiny CYP1A, CYP1B atd. (cca 60% shoda sekvence), jednotlivé isoformy CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1; polymorfismus.



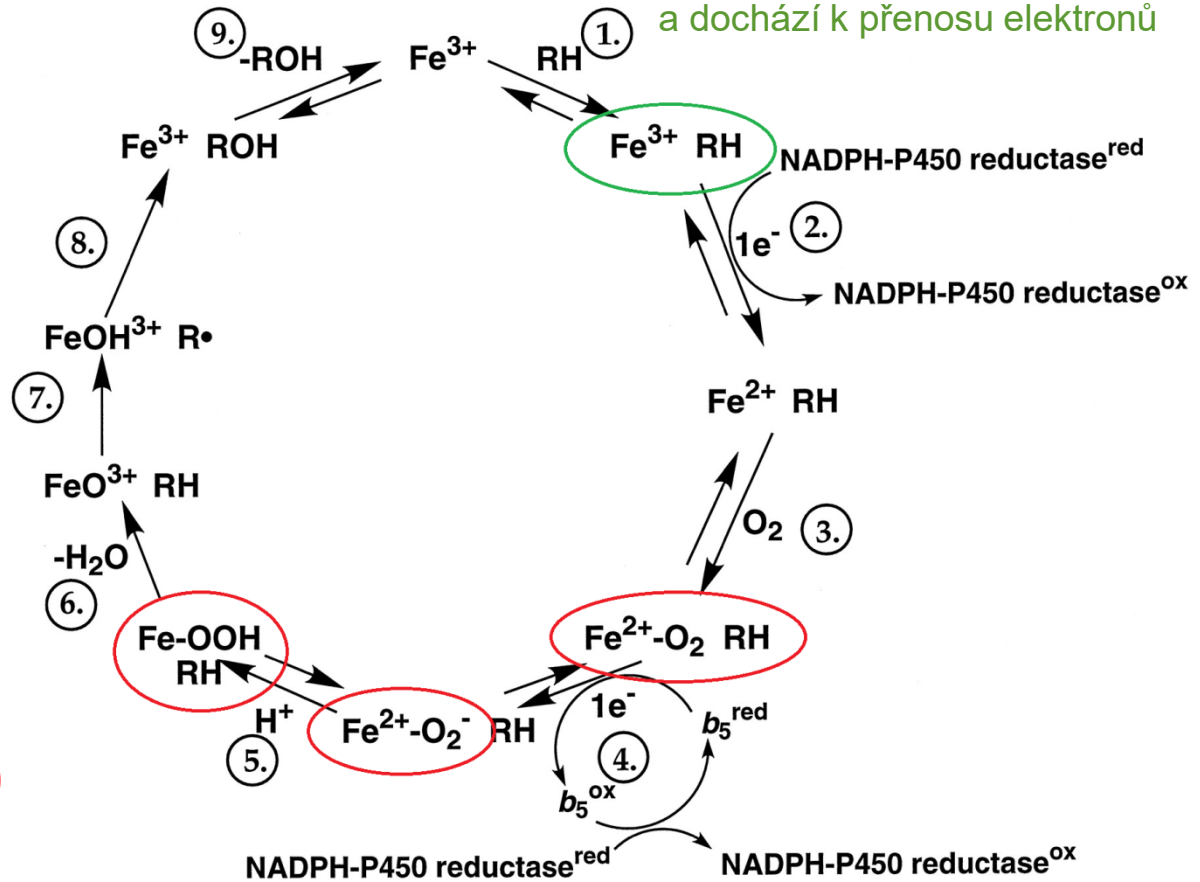
Cyklus cytochromu p450: aktivace kyslíku a monooxygenace

interakcí se substrátem vzniká vysokospinová forma Fe³⁺-hemu a dochází k přenosu elektronů

Přenos elektronů:
NADPH
↓
NADPH:P450 oxido-
reduktáza
↓
cytochrom P450

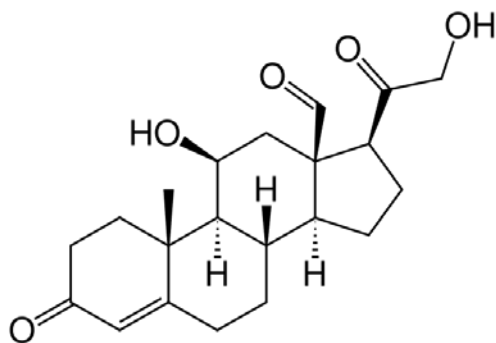
(substrát RH,
produkt ROH,
produkce ROS)

Aktivace kyslíku:
ROS = vedlejší
produkty



STEROIDY: substrátová specifita CYP enzymů

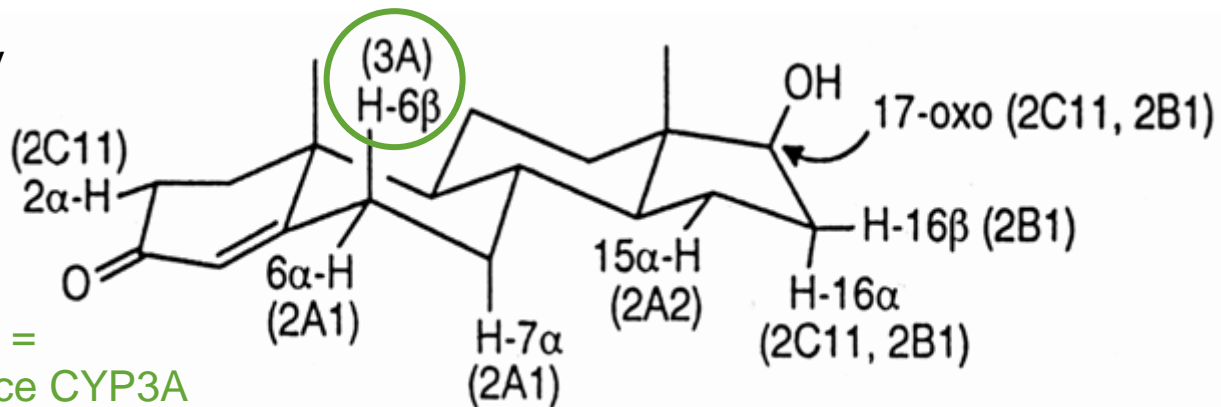
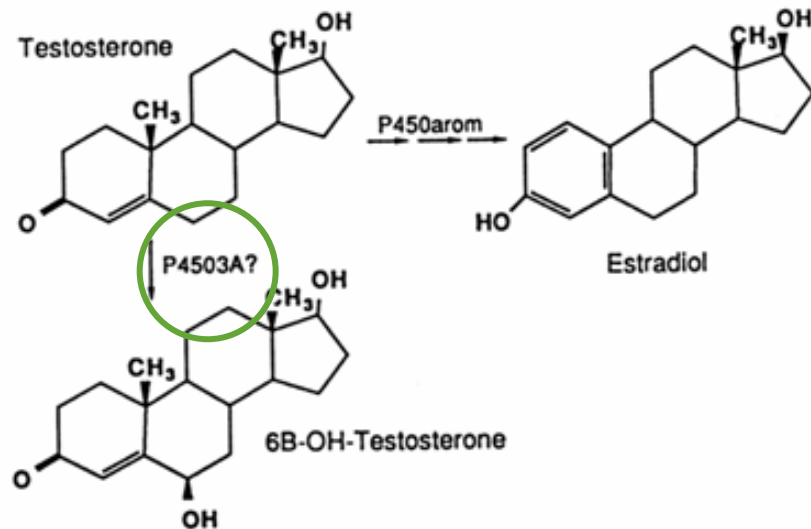
► monooxygenázové reakce inaktivují steroidní hormony



STEROIDY

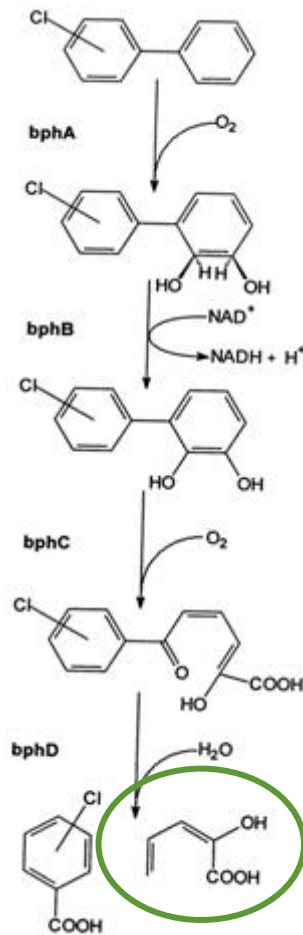
Hydroxylace steroidů
v různých pozicích
(v závorkách isoformy
CYP enzymů)

6β-hydroxylace =
specifická reakce CYP3A

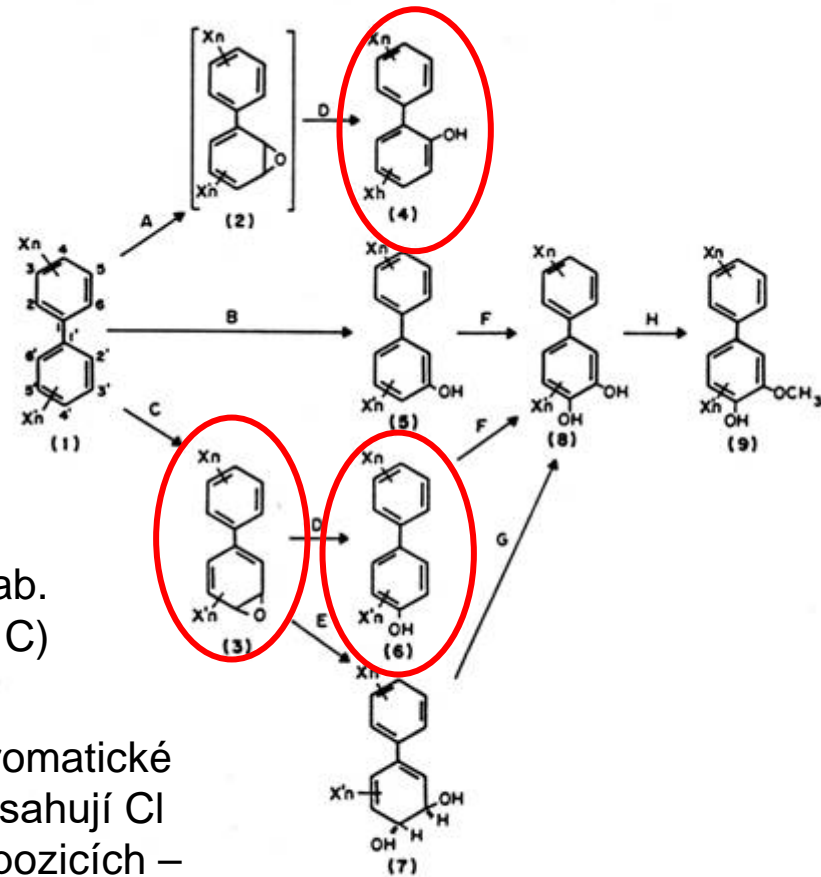


METABOLISMUS POLYCHLOROVANÝCH BIFENYLŮ (PCB) – příklad 1. fáze metabolismu persistentních organických sloučenin

Mikrobiální degradace zahrnuje roztržení aromatického jádra



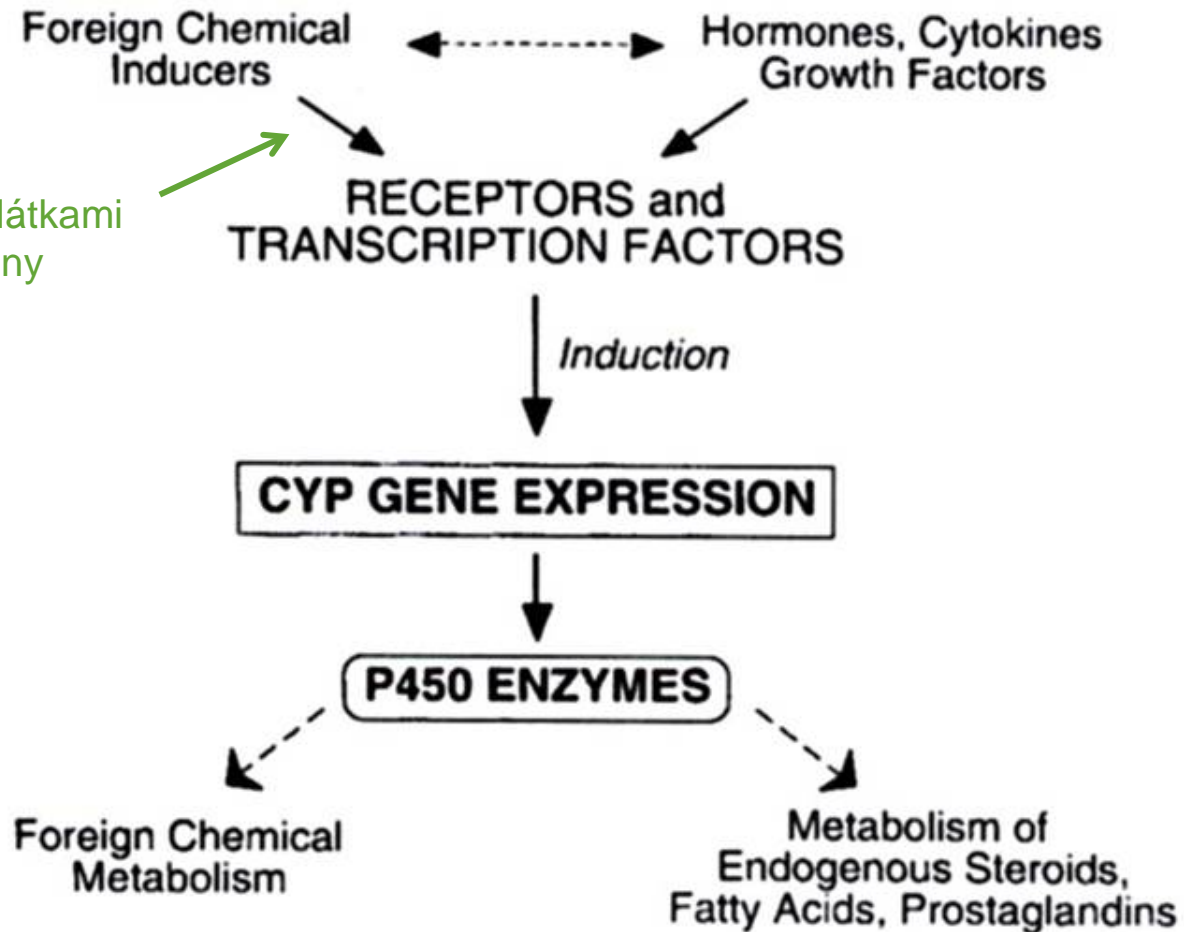
Metabolismus u vyšších živočichů: oxidativní metab. (hl. cesty A-D, C)



Persistentní aromatické sloučeniny: obsahují Cl v sousedních pozicích – bariéra vzniku epoxidu monooxygenázovou reakcí

REGULACE EXPRESE: jaderné a cytosolové receptory kontrolují expresi CYP proteinů

expozice ciz. látkami indukuje hladiny CYP enzymů

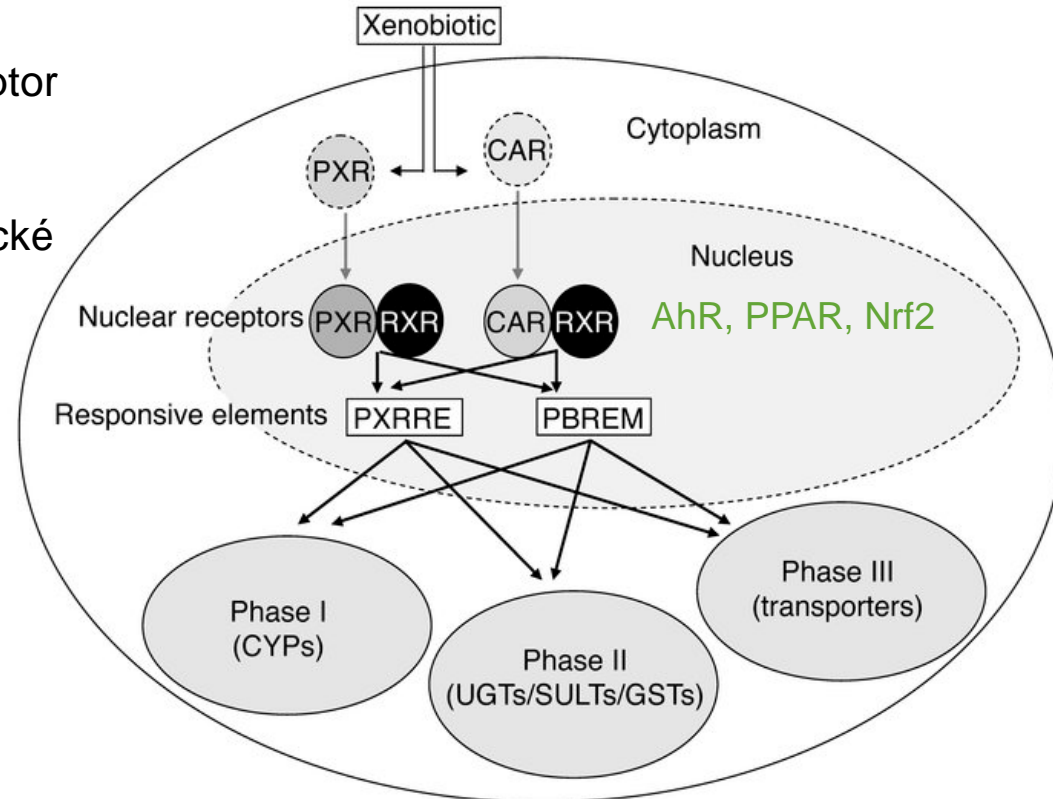


expozice a indukce CYP enzymů ovlivňuje metabolismus endogenních látek!
(společné enzymy CYP pro biotransformaci cizorodých i endogenních látek)

NUKLEÁRNÍ A CYTOSOLOVÉ RECEPTORY

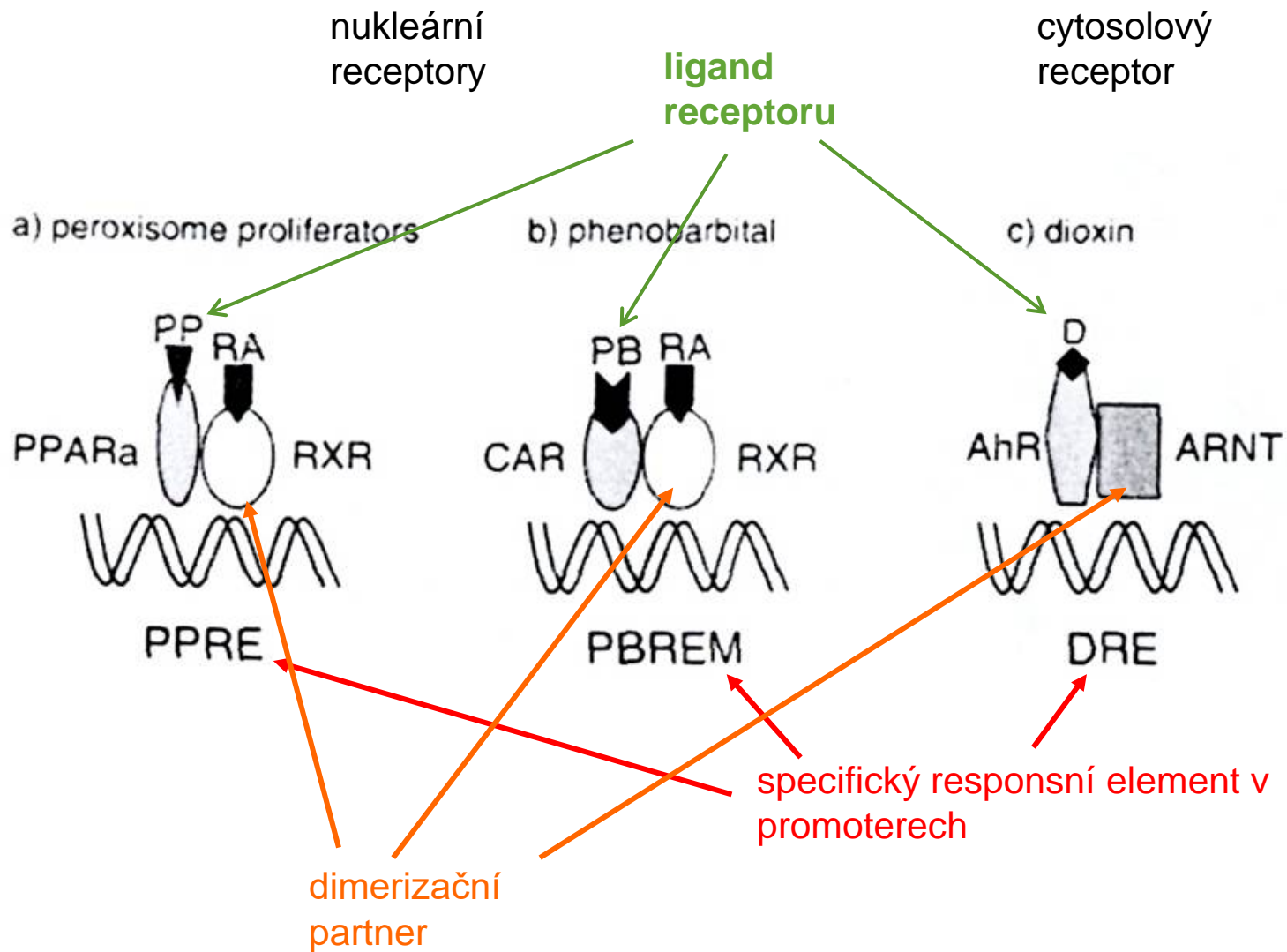
- Xenobiotika, steroidy a jiné látky indukují vlastní metabolismus aktivací receptorů/ transkripčních faktorů, které kontrolují expresi biotransformačních enzymů a abc transportérů

1. vazba xenobiotika na receptor (aktivace receptoru)
2. dimerizace receptoru
3. vazba receptoru na specifické responzivní elementy v promotorových oblastech cílových genů



A novel panel of mouse models to evaluate the role of human pregnane X receptor and constitutive androstane receptor in drug response, Scheer 2008

NUKLEÁRNÍ A CYTOSOLOVÉ RECEPTORY



Seznam CYP enzymů zodpovědných za biosyntézu / metabolismus steroidů a metabolismus xenobiotik

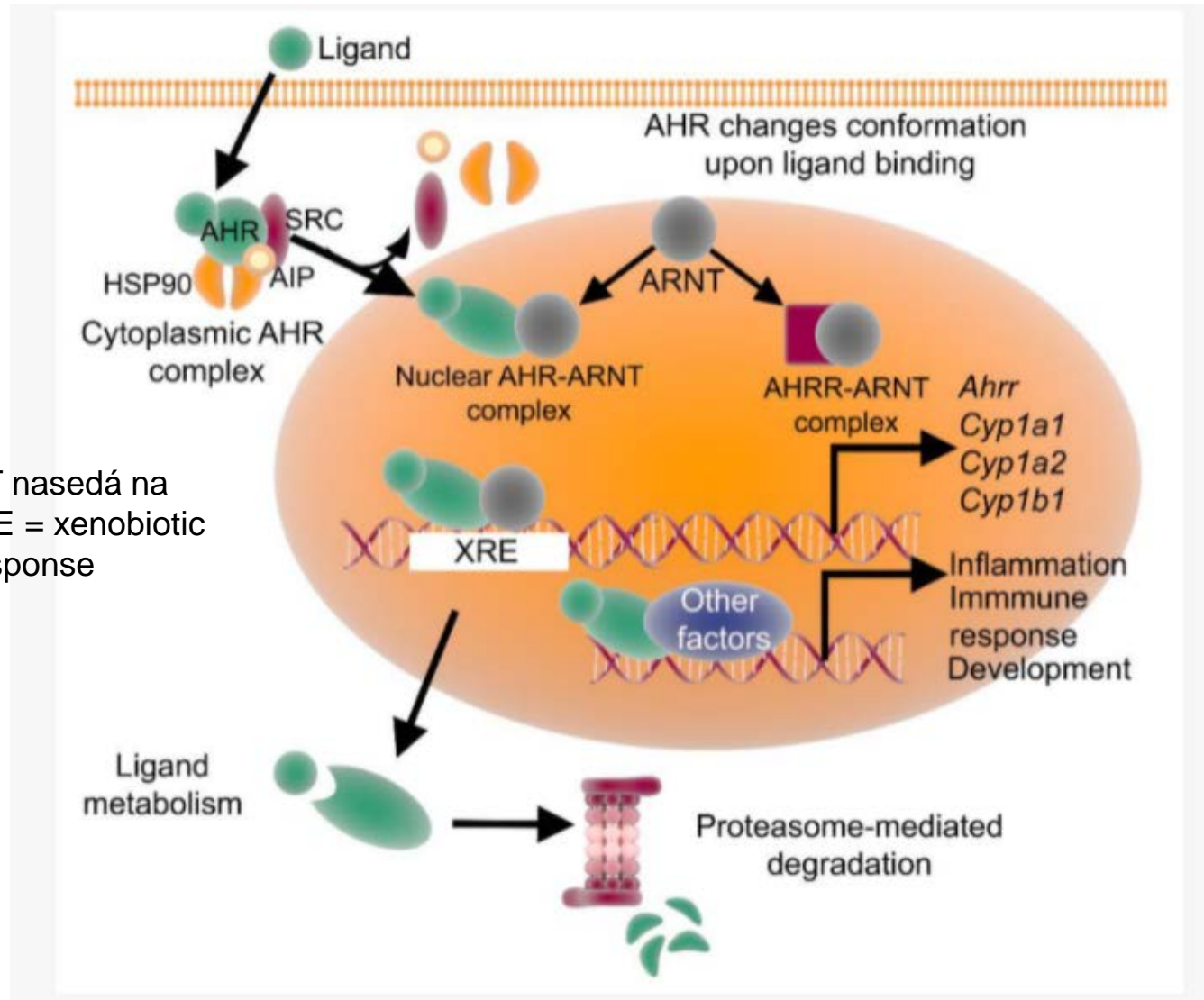
- ▶ CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1: genová exprese regulována **AhR** (indukce dioxiny, PAH; endogenní ligandy?); monooxygenace PAH, estradiolu;
- ▶ CYP2B: exprese regulována **GR/CAR**, indukce steroidy, fenobarbitalem, monooxygenace velké řady xenobiotik, testosteronu aj.
- ▶ CYP2A, CYP2C, CYP2D
- ▶ CYP2E: indukce především stabilizací proteinu (indukují etanol, pyrazol aj.), monooxygenace etanolu, (w-1)-hydroxylace mastných kyselin
- ▶ CYP3A: exprese regulována **GR/PXR**; indukce dexametazonem aj. steroidy, monooxygenace velké řady xenobiotik (nejdůležitější enzym biotransformace), 6b-hydroxylace testosteronu
- ▶ CYP4A: exprese regulována **PPAR α** , indukce peroxisomálními proliferátory (clofibrate, dialkylestery kyseliny ftalové), w-hydroxylace mastných kyselin
- ▶ CYP7A, CYP11A, CYP17, CYP19 (aromatáza): enzymy steroidogeneze
- ▶ další důležité CYP metabolismu vitamínu D3 a kyseliny retinové

**REGULACE EXPRESE
BIOTRANSFORMAČNÍCH ENZYMŮ:
CYTOSOLOVÝ Ah (aryl hydrocarbon)
RECEPTOR**

AKTIVACE Ah RECEPTORU A INDUKCE CYP1A1 SUBSTRÁTEM CYP1A

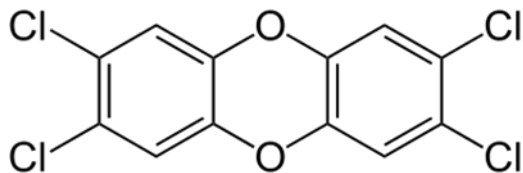
Fyziologie působení farmak
a toxických látek

AhR/ARNT nasedá na XRE = DRE = xenobiotic (dioxin) response element

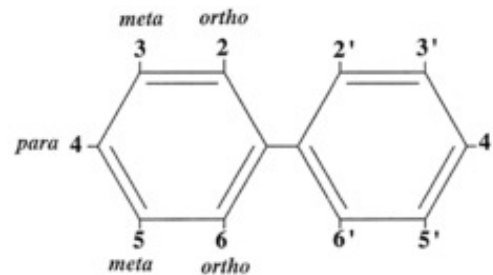


The Aryl Hydrocarbon Receptor: A Mediator and Potential Therapeutic Target for Ocular and Non-Ocular Neurodegenerative Diseases, Choudhary & Malek 2020

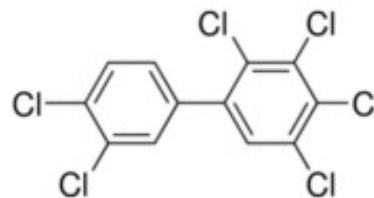
LIGANDY / INDUKTORY AhR



**TCDD = nejsilnější agonista AhR
= modelový dioxinový toxikant**

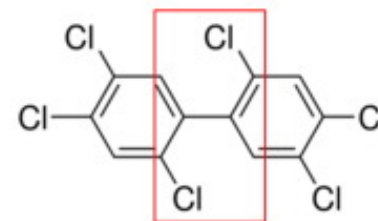


DL-PCBs
Coplanar



PCB 126

NDL-PCBs
Non coplanar



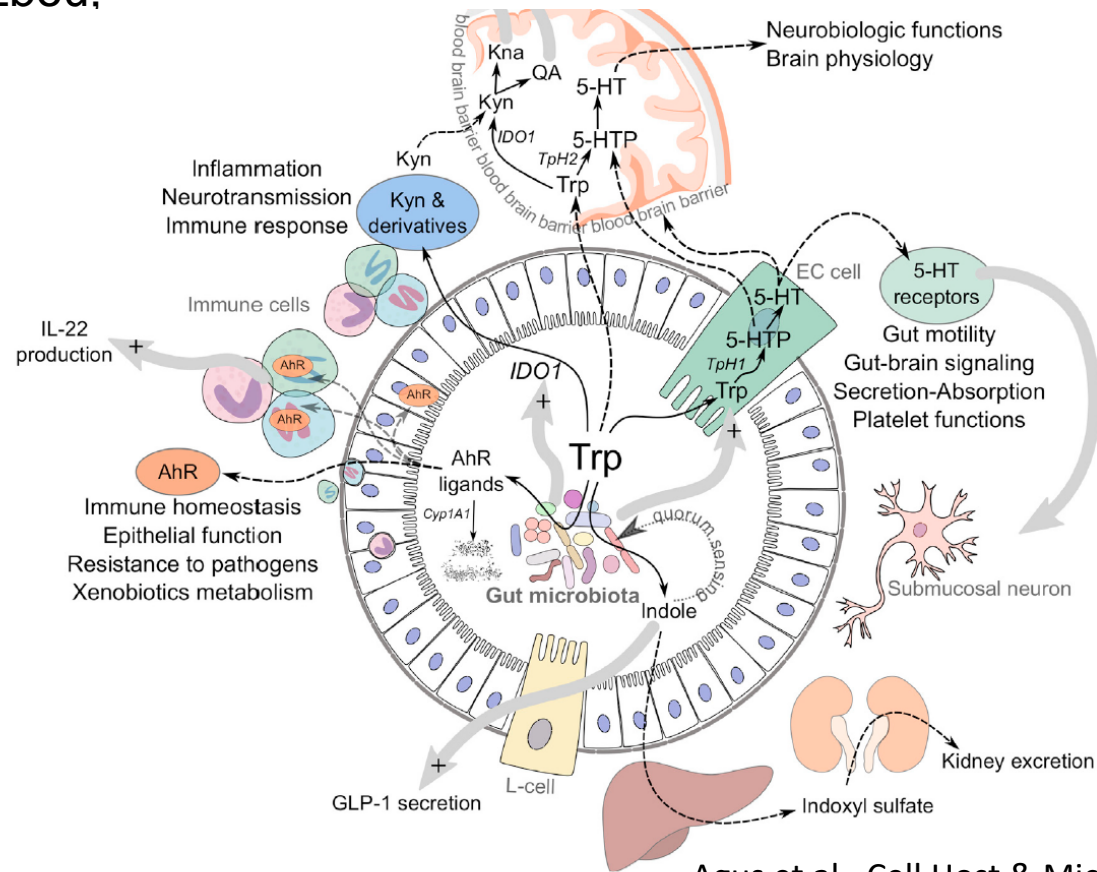
PCB 153

Koplanární
PCB
(podobný
dioxinům,
agonista AhR)

Nekoplanární látky
(např. PCB se dvěma
chlóry v pozici ortho)
nevykazují planární
pozici aromatických jader
a nejsou agonisty AhR

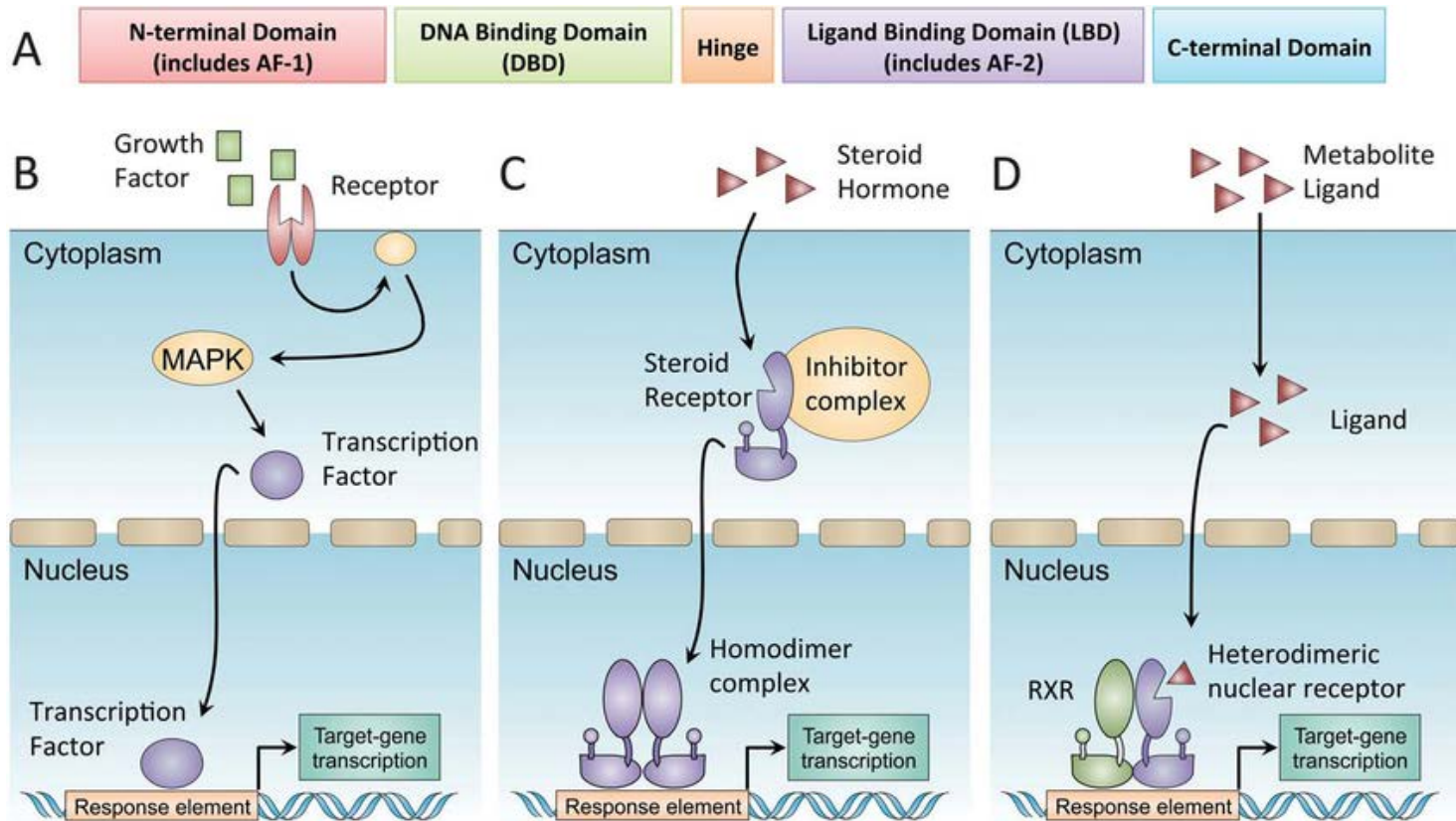
Endogenní agonisté AhR

- fyziologické funkce AhR – regulovány endogenními agonisty; převážně metabolity tryptofanu;
- substráty pro CYP1A1 enzymy – regulace aktivity AhR zpětnou vazbou;



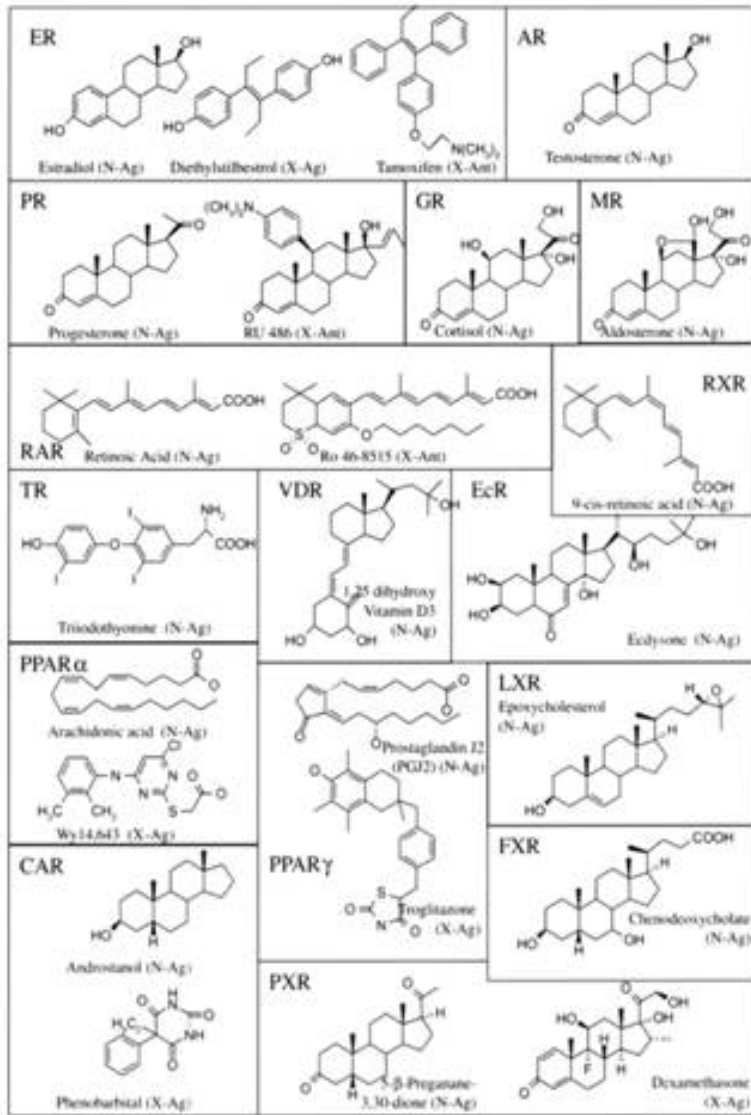
**REGULACE EXPRESE
BIOTRANSFORMAČNÍCH ENZYMŮ:
NUKLEÁRNÍ RECEPTORY**

Nukleární receptory (NR)



Flavonoids as dietary regulators of nuclear receptor activity, Avior 2013

Nuclear Hormone Receptors



Ligands:

Endocrine Receptors

High-affinity, hormonal lipids

- ER α, β
- PR
- AR
- GR
- MR

- RAR α, β, γ
- TR α, β
- VDR
- EcR

Adopted Orphan Receptors

Low-affinity, dietary lipids

- RXR α, β, γ
- PPAR α, β, γ
- LXR α, β
- FXR
- PXR/SXR
- CAR

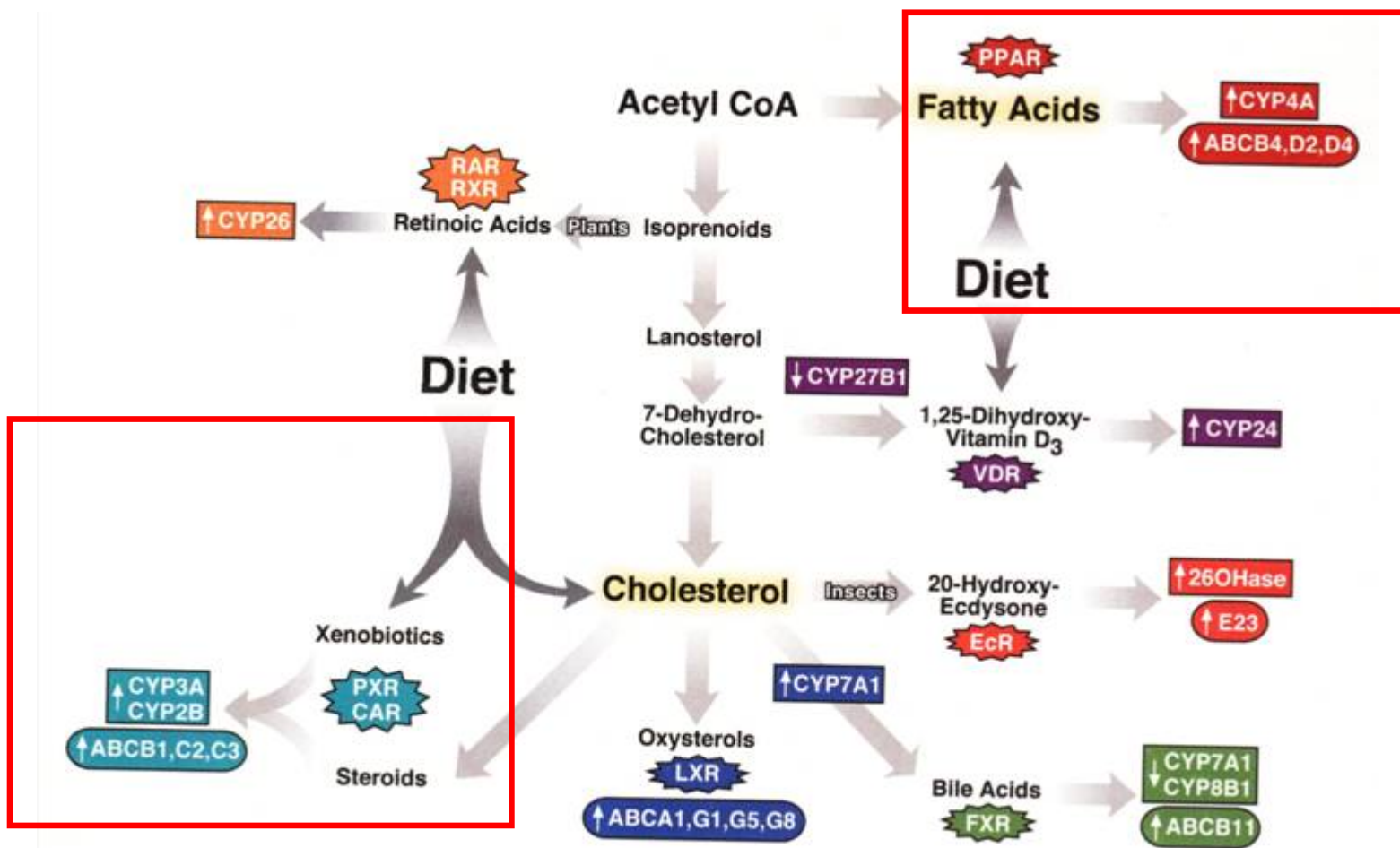
Orphan Receptors

Unknown

- SF-1
- LRH-1
- DAX-1
- SHP
- TLX
- PNR
- NGFI-B α, β, γ
- ROR α, β, γ
- ERR α, β, γ
- RVR α, β, γ
- GCNF
- TR 2,4
- HNF-4
- COUP-TF α, β, γ

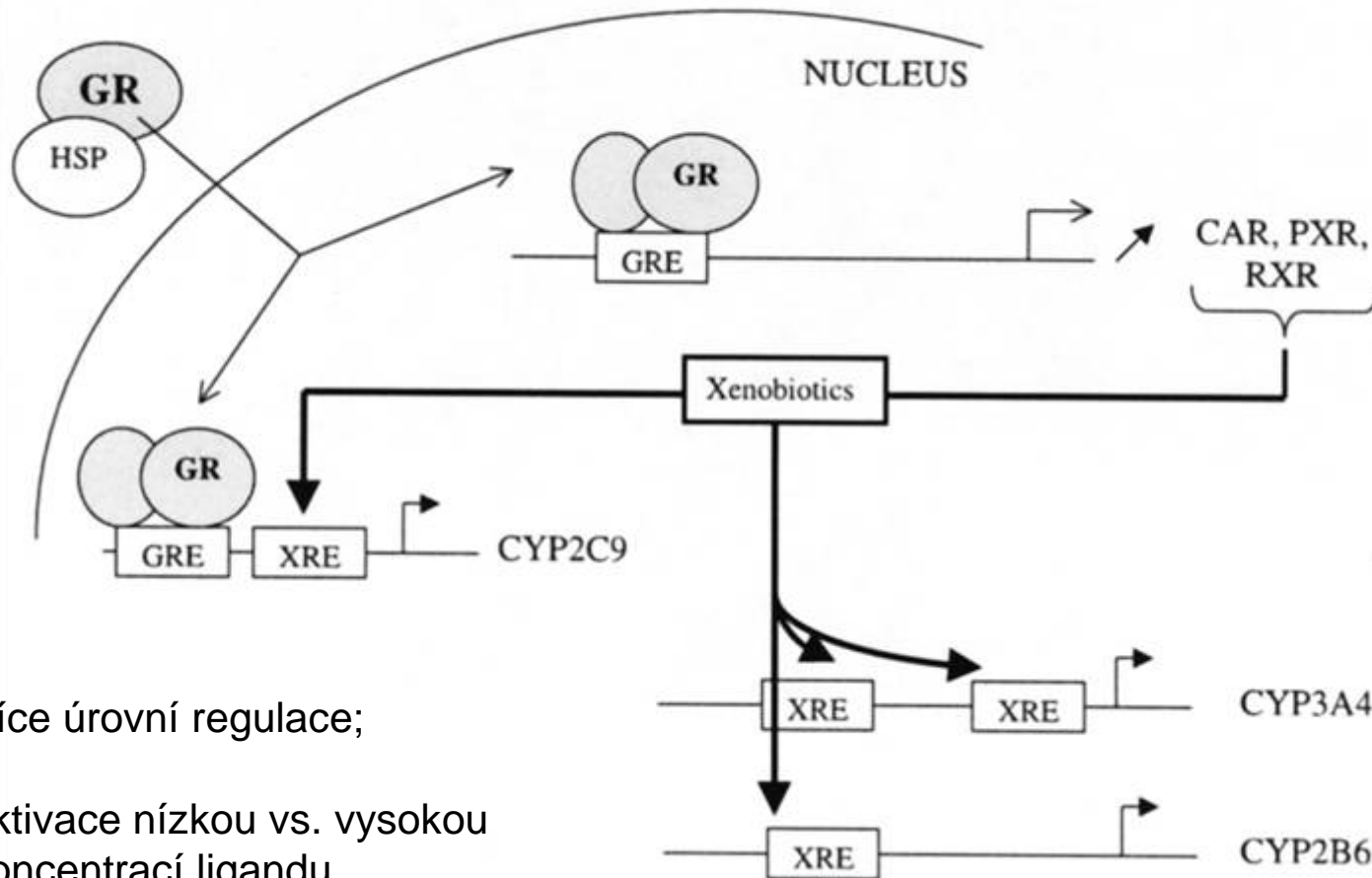
NUKLEÁRNÍ RECEPTORY

= „xenosensory“ a „lipidní sensory“
(aktivace transkripce po expozici xenobiotiky resp. lipidy)



REGULACE GR / PXR / CAR

J.M. Pascussi et al. / Biochimica et Biophysica Acta 1619 (2003) 243–253



Více úrovní regulace;

aktivace nízkou vs. vysokou koncentrací ligandu

FENOBARBITAL (PB) – agonista CAR

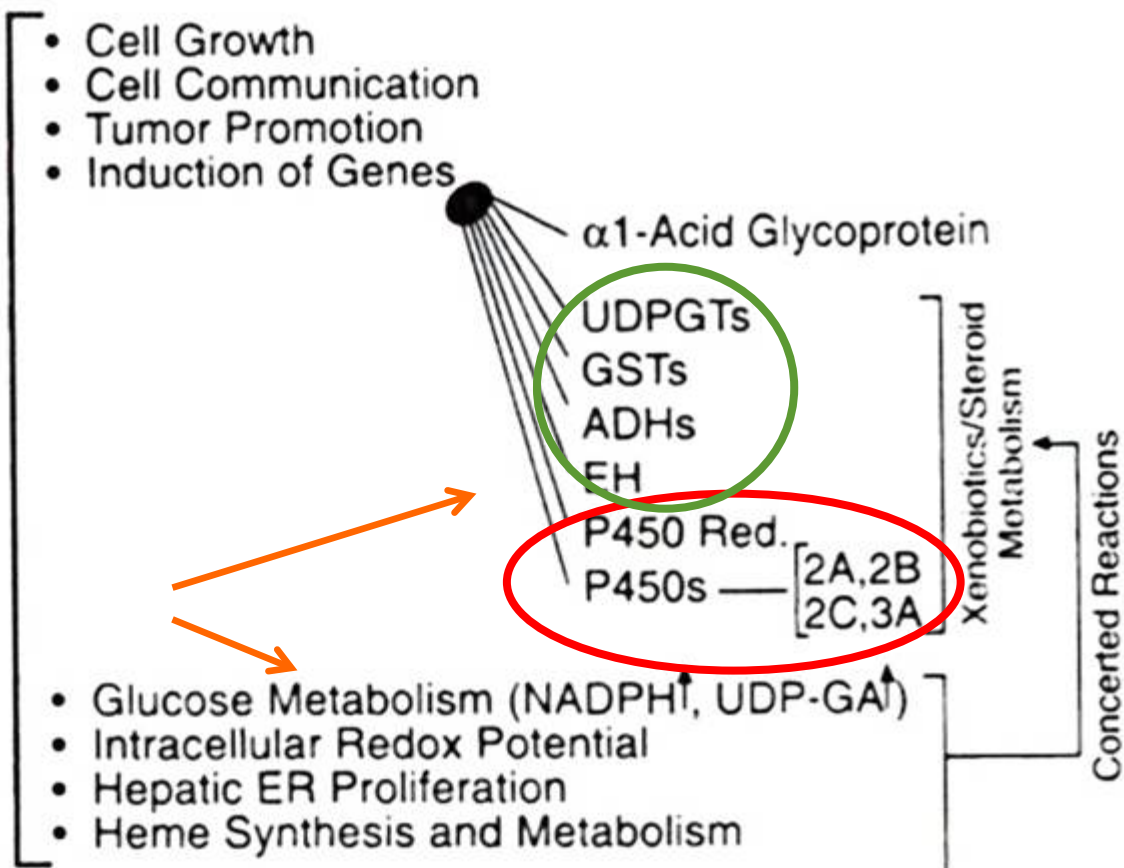
Biotransformace:

enzymy 1. fáze

enzymy 2. fáze

PB →

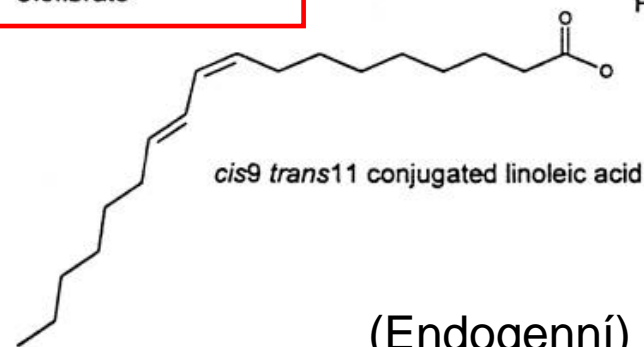
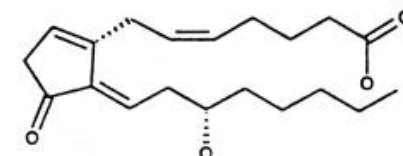
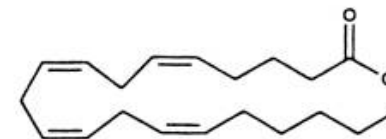
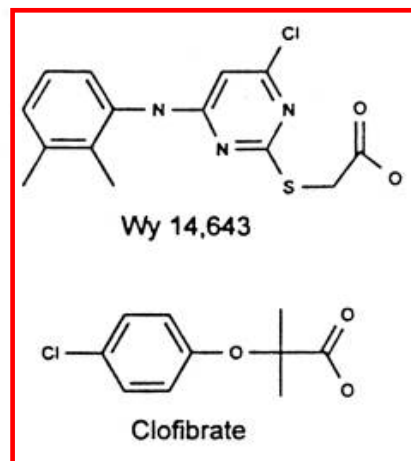
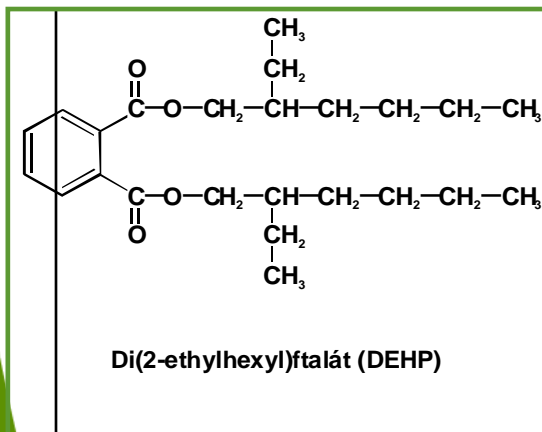
Modulace endogenního metabolismu



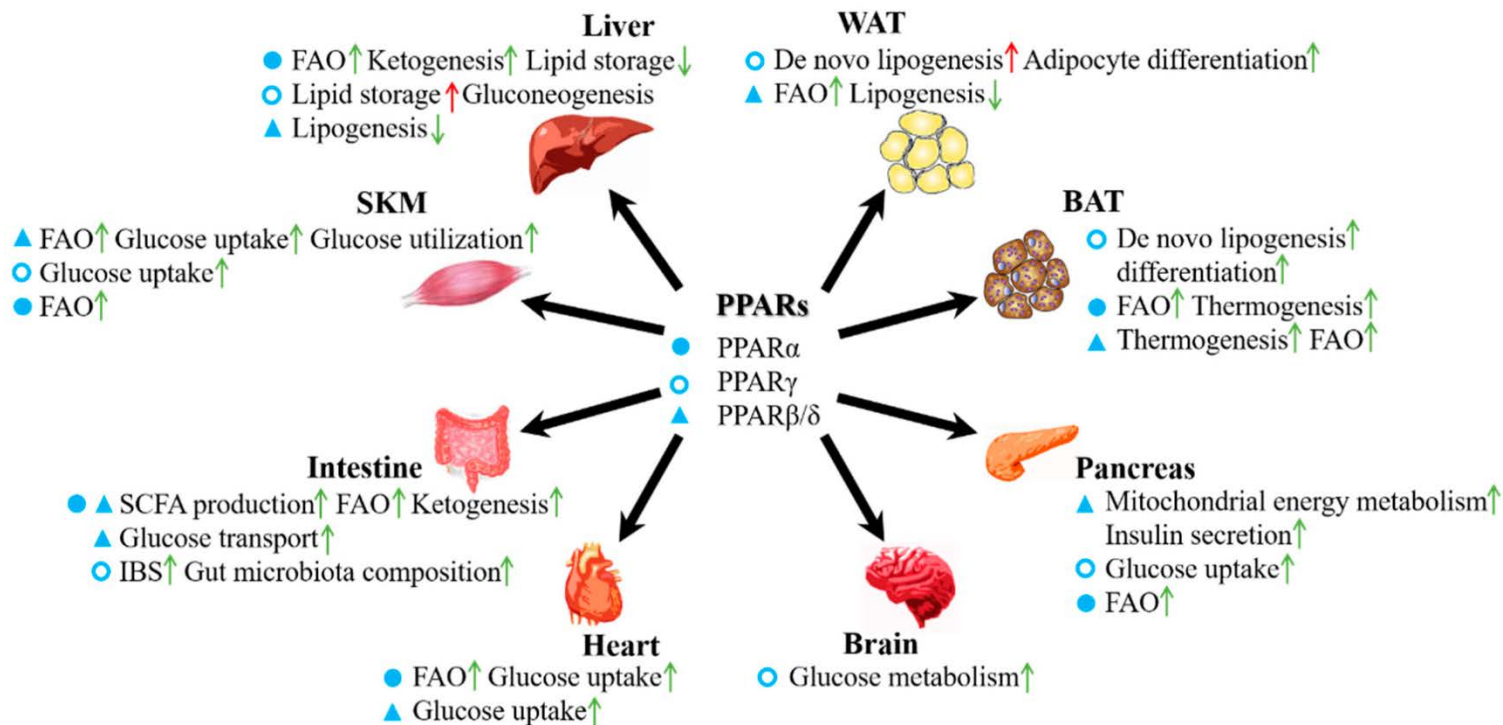
LIGANDY PPAR α

Farmaka
(hypolimidemika)

Environmentální
kontaminanty



DŮSLEDKY AKTIVACE PPAR α



DALŠÍ ENZYMY 1.FÁZE BIOTRASFORMACE A JEJICH REGULACE

Další enzymy 1.fáze biotransformace a jejich regulace

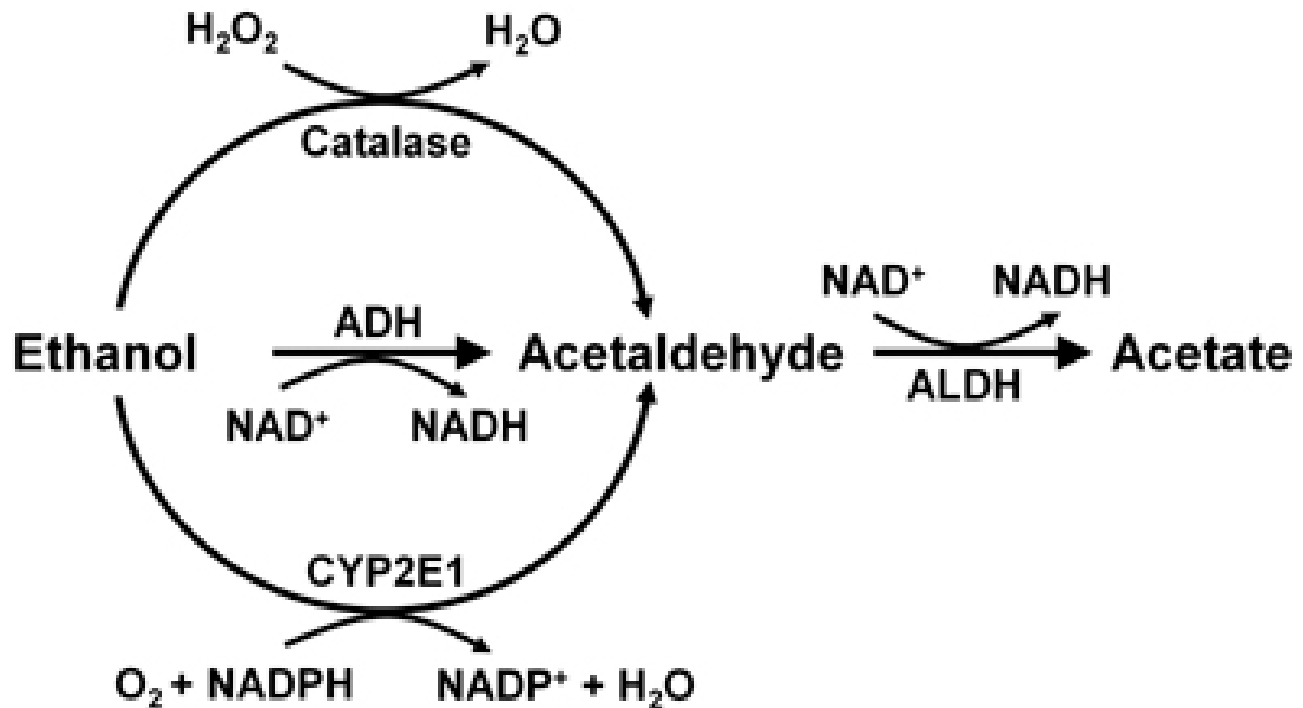
- ▶ **flavinmonooxygenázy** (FAD enzymy, NADPH přímo reaguje s enzymem);
- ▶ **peroxidázy** (hemoproteiny oxidující 2-aminofluoren, PAH, fenoly; radikálové jednoelektronové reakce);
- ▶ **alkoholdehydrogenázy** (koenzym NADH, oxidace prim. a sek. alkoholů);
- ▶ **aldehyddehydrogenázy** (oxidace= detoxikace aldehydů a ketonů);
- ▶ **aldoketoreduktázy** (AKR, oxidační reakce alkoholů – NAD⁺; redukce aldehydů a ketonů na alkoholy za účasti NADPH);

- ▶ **reduktázy xenobiotik** (aldoketoreduktázy AKR, dehydrogenázy s krátkým řetězcem SDR, dehydrogenázy se středně dlouhým řetězcem, NADPH/chinonoxidoreduktáza - dvouelektronová redukce chinonů);

- ▶ **hydrolázy** (štěpení substrátu za účasti vody; acetylcholinesterázy, karboxyesterázy, epoxidhydrolázy)

Alkoholdehydrogenázy

- ▶ Metabolismus etanolu třemi enzymovými systémy (alkoholdehydrogenázy + aldehyddehydrogenázy, CYP2E1 a katalázou)



Aldoketoreduktázy

- většinou monomerní NAD(P)(H)-dependentní oxidoreduktázy; konvertují karbonyl;
- dosud 115 enzymů ve 14 „genových rodinách“;
- substrátová specifita: cukerné aldehydy; steroidní hormony; prostaglandiny a lipidové aldehydy; metabolizují také některé chemické karcinogeny (NNK, PAH-trans-dihydrodioly, aflatoxindialdehyd)

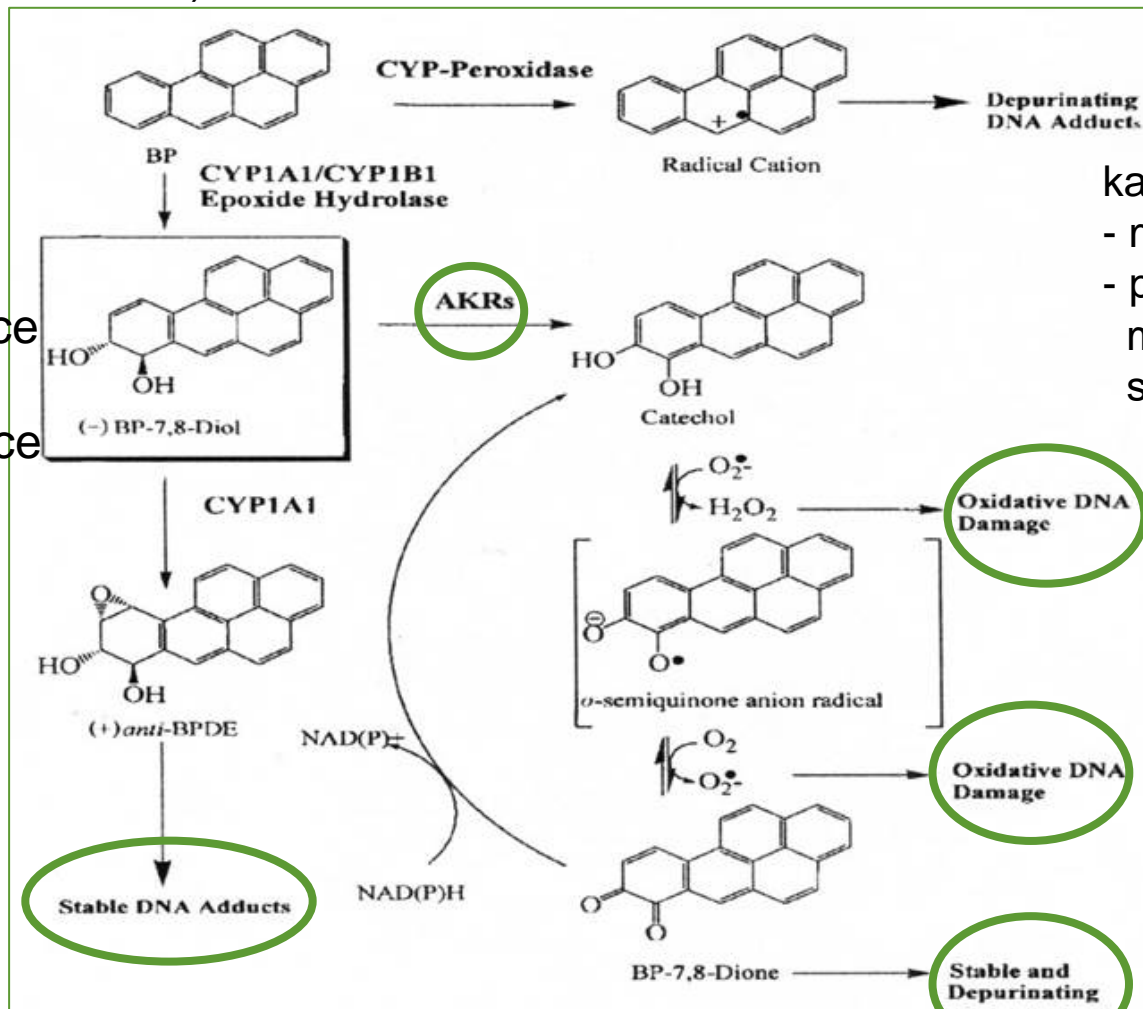
Příklady lidských AKR:

- AKR1A1 (aldehydoreduktáza)
- AKR1B1 (aldosareduktáza)
- AKR1C1-1C4 (20a-, 3a-, 3a/17a-, 3a-HSD)
- AKR1D1 (5b-reduktáza)

1. fáze biotransformace PAH:

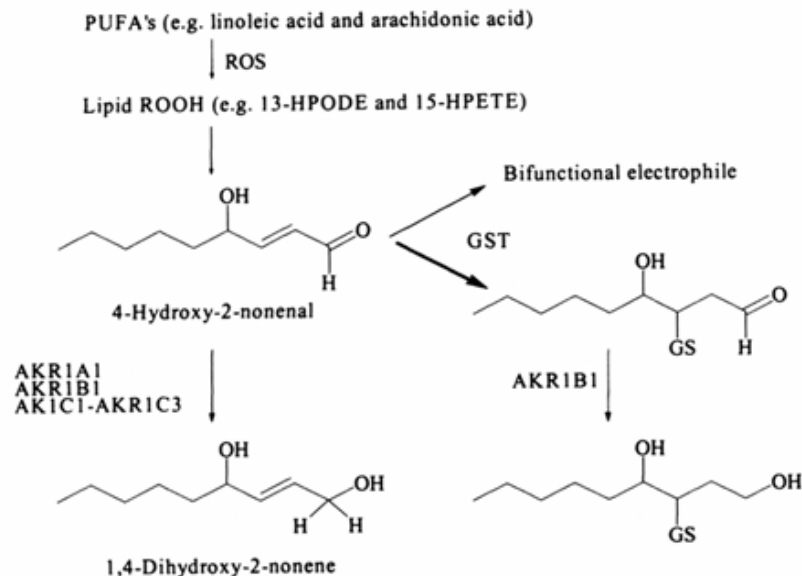
- účast CYP1A1/1A2/1B1 (monooxygenace), EH (hydroláza) a AKR (reduktáza)

Detoxikace
versus
bioaktivace



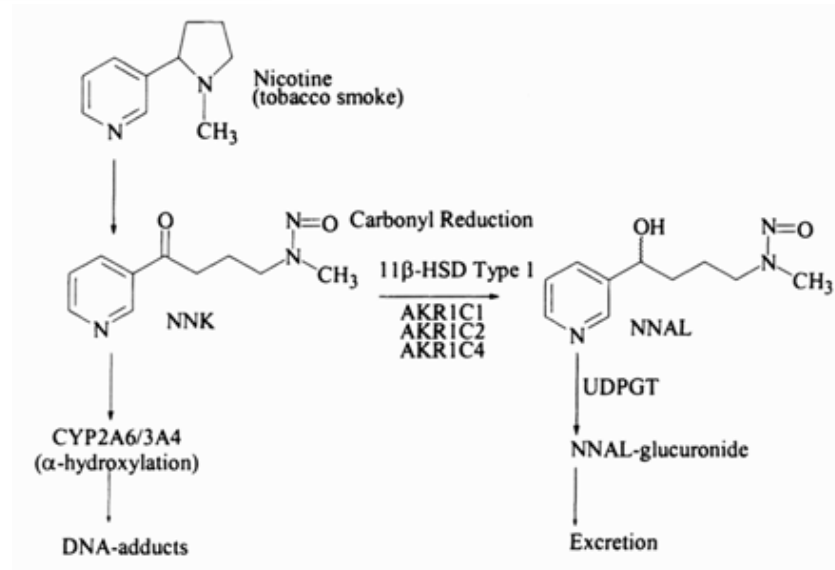
katecholy =
- metabolismy PAHs,
- podobně
metabolity
steroidů (E2)

Aldoketoreduktázy

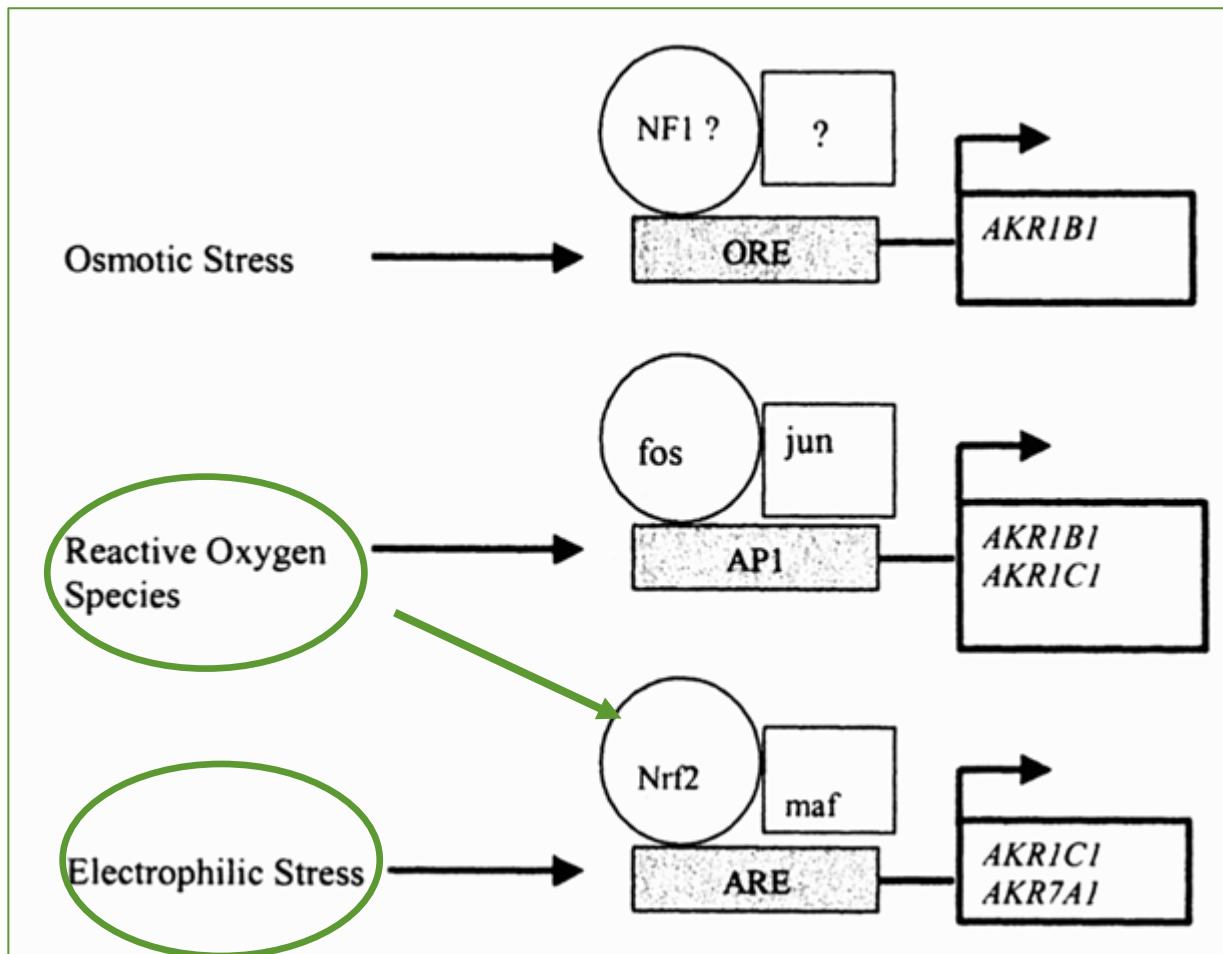


Biotransformace aldehydů vznikajících v průběhu lipidní peroxidace

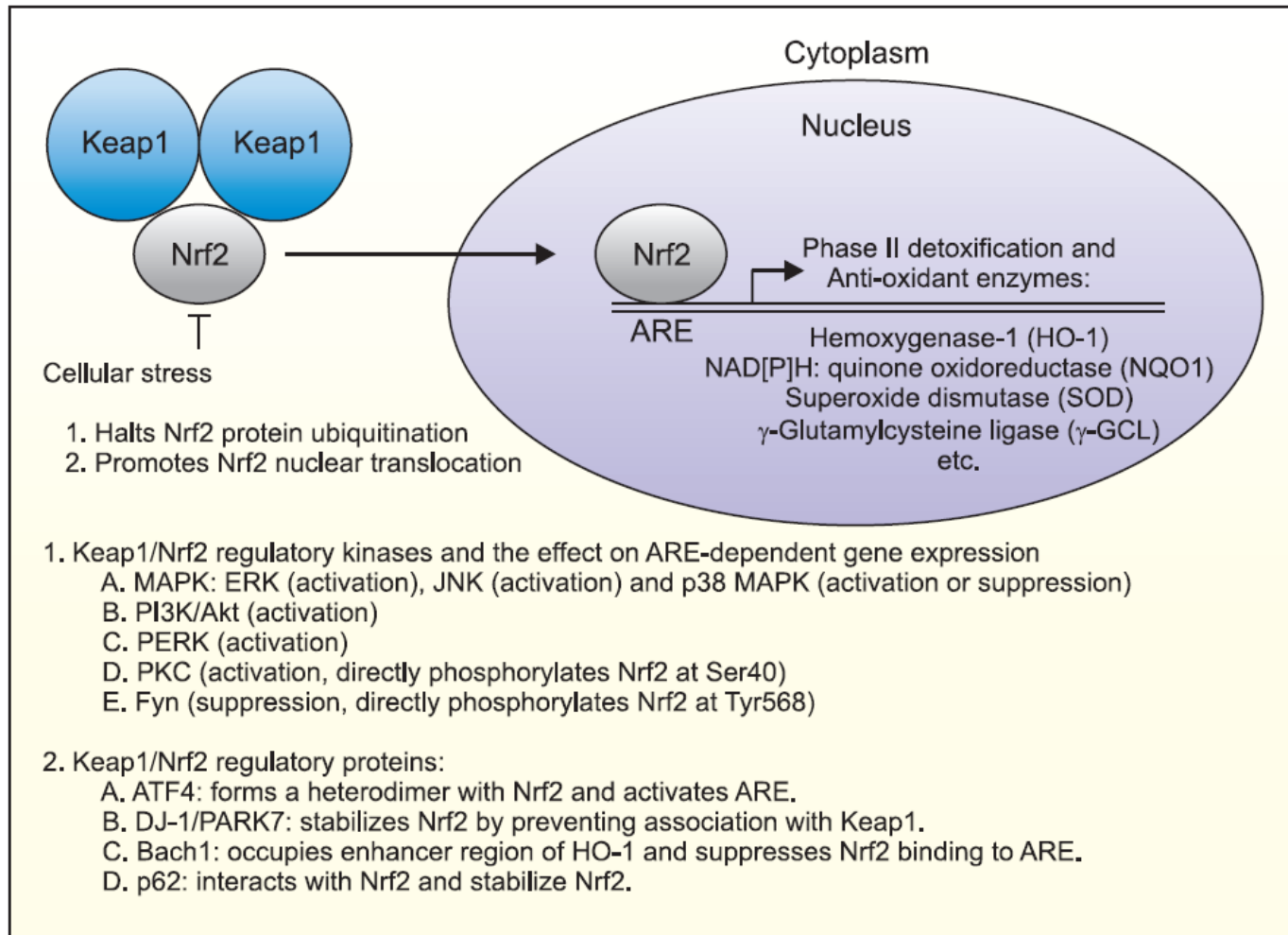
Detoxikace NNK
(4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanon)



Regulace aldoketoreduktáz



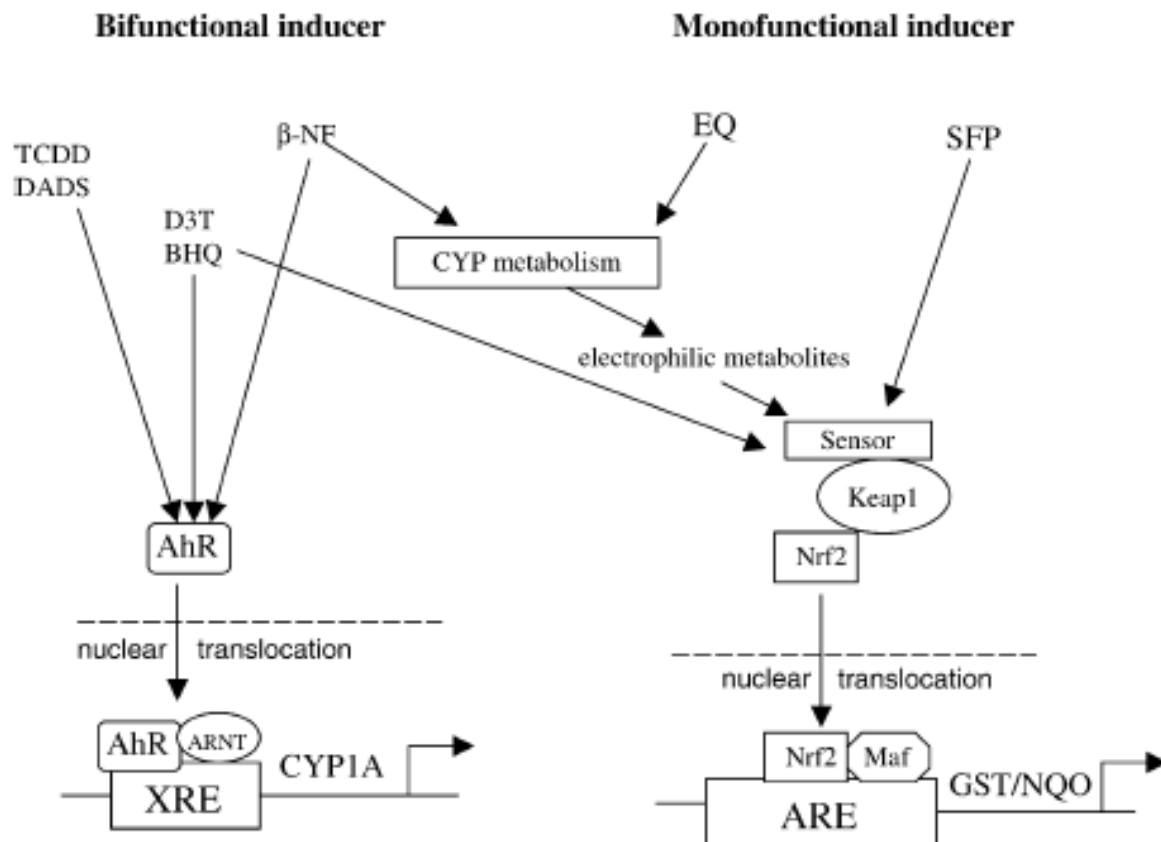
Transkripční faktor Nrf2 je regulován oxidativním stresem / elektrofilními metabolity a také aktivací AhR



Bifunkční a monofunkční induktory

Bifunkční induktory
= xenobiotika
aktivující
AhR a Nrf2

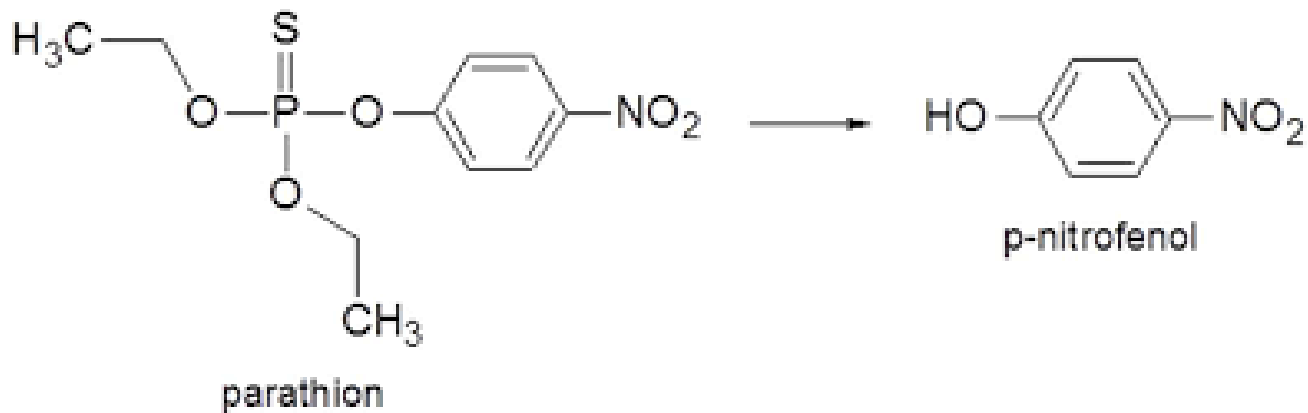
NQO; GST a další
enzymy 2. fáze
biotransformace



XRE = xenobiotic (dioxin) response element;
ARE = antioxidant response element

Esterázy

- ▶ **Esterázy** = hydrolázy, enzymy katalyzující hydrolýzu esterů; mezi nejvýznamnější patří např. acetylcholinesterázy, fosfatázy aj.
- ▶ **Acetylcholinesteráza** - degradace neurotransmiteru acetylcholinu za vzniku cholinu a acetátu; hydrolyzuje také řadu insekticidů, herbicidů a bojových chemických látek, zároveň je jimi inhibována).



Epoxidhydrolázy

Funkce:

- - metabolismus lipidů (epoxidů) v živočišných a rostlinných buňkách
- metabolismus intermediátů xenobiotik s epoxidovou skupinou

Celkem 7 forem EH:

- savčí solubilní (cytosolová) EH – inaktivace epoxy-mastných kyselin
- mikrosomální EH – inaktivace BaP-dihydrodiolepoxidu
- leukotrien A4 hydroláza etc.

- regulace např. aktivací Nrf-2