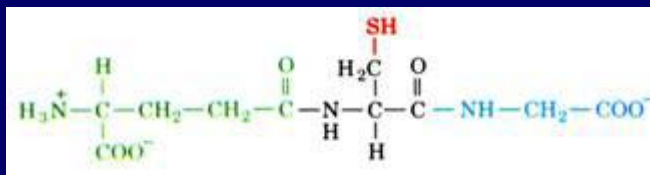


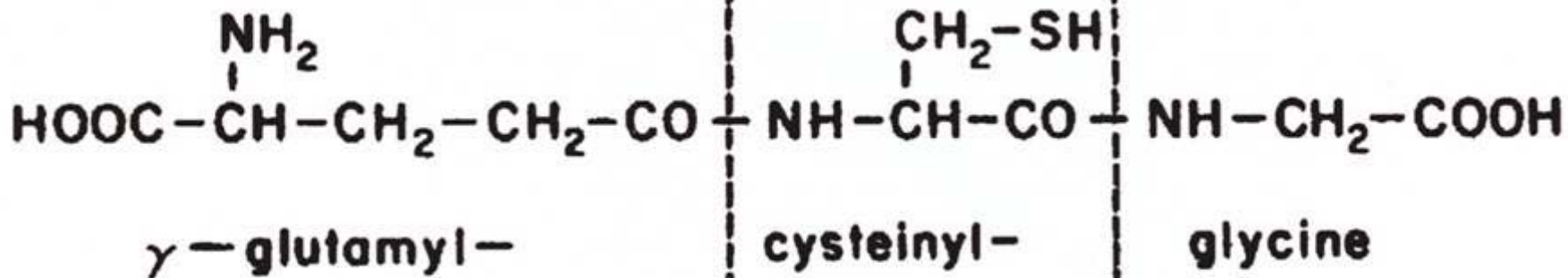
ENZYMY 2. FÁZE BIOTRANSFORMACE:

- 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

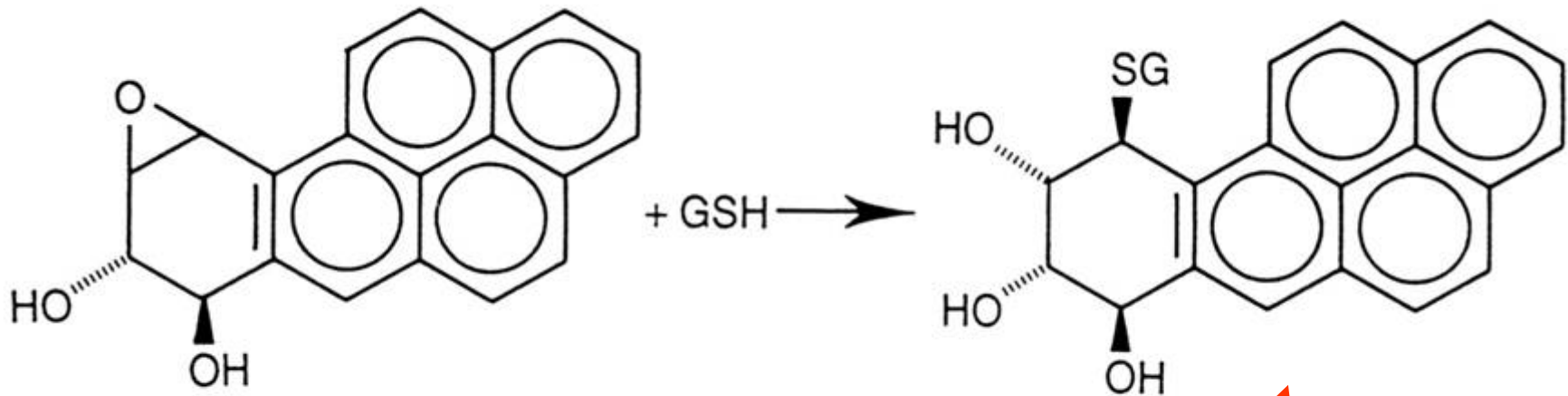
GLUTATHION-S-TRANSFERÁZY



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

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

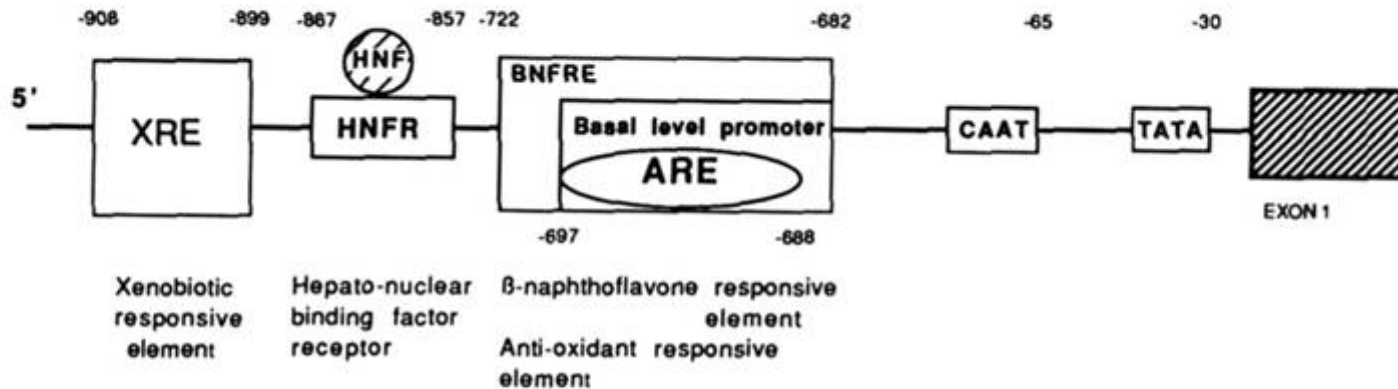
Funkční GST enzymy jsou dimery

membránově vázaný GST

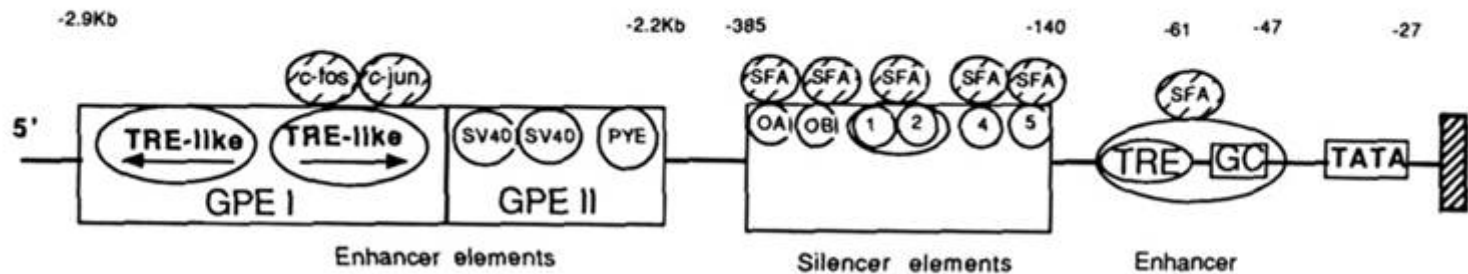


REGULACE GENOVÉ EXPRESE ISOENZYMŮ GST

GST-1 gene regulatory elements



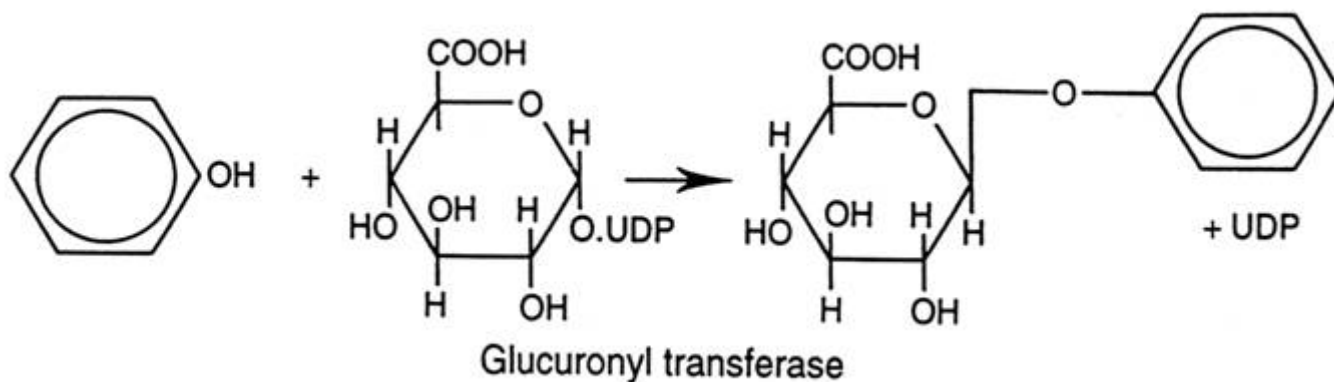
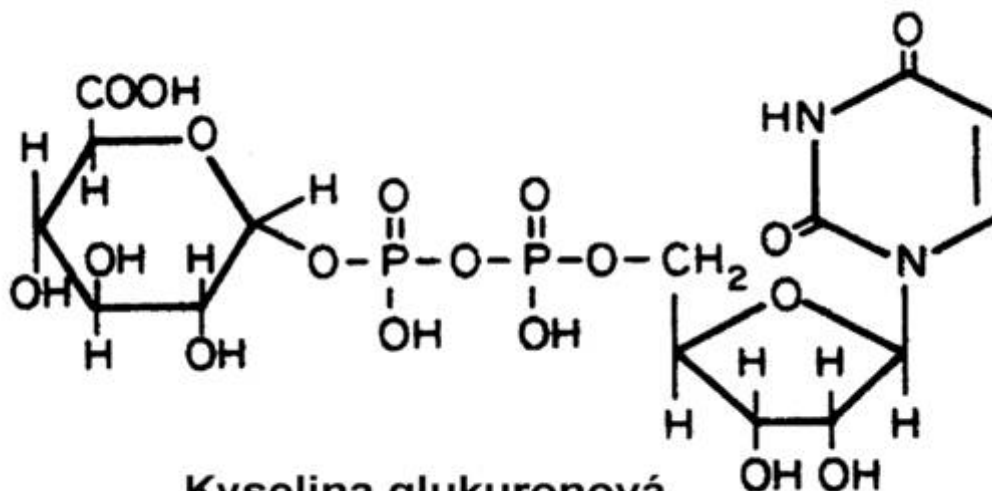
GST-7 gene regulatory elements



UDP-GLUKURONYLTRANSFERÁZY

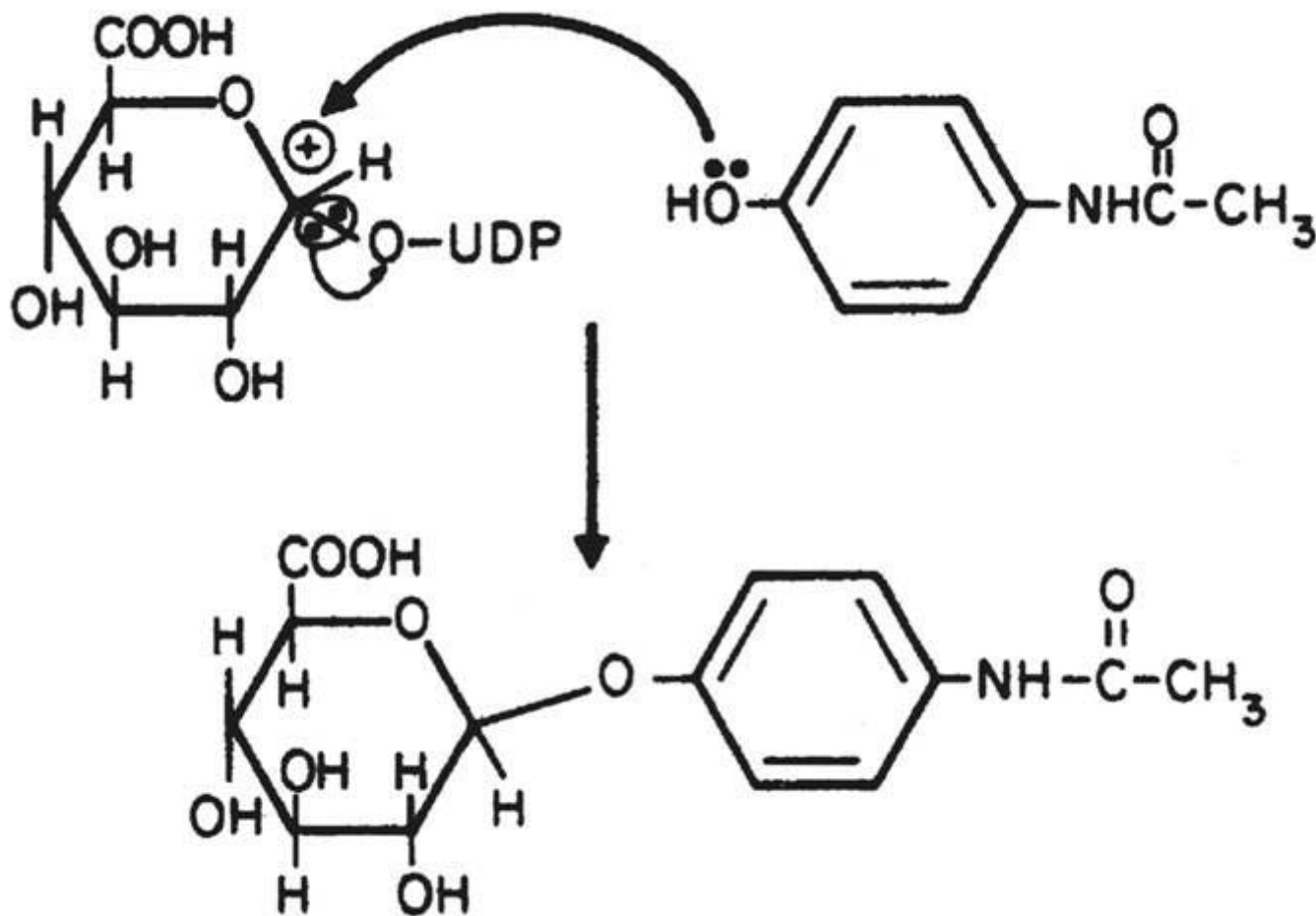
konj. agens elektrofil
(kys. UDP-glukuronová);

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

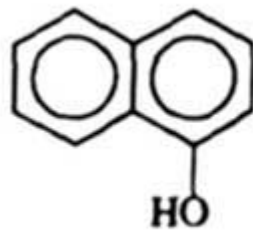


UDP-GLUKURONYLTRANSFERÁZY

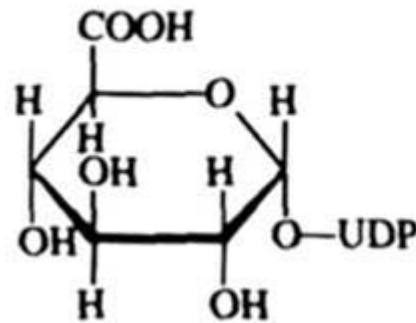
Typická
konjugační
reakce
s fenolem



UDP-GLUKURONYLTRANSFERÁZY



+



1-Naphthol

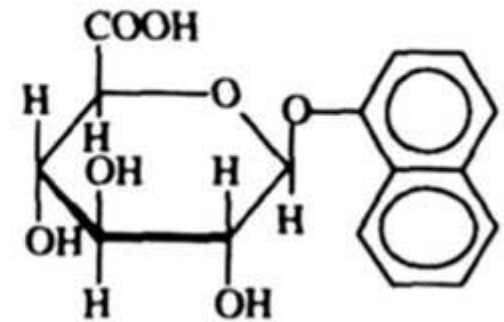
+

UDP-glucuronic acid



UDP

+



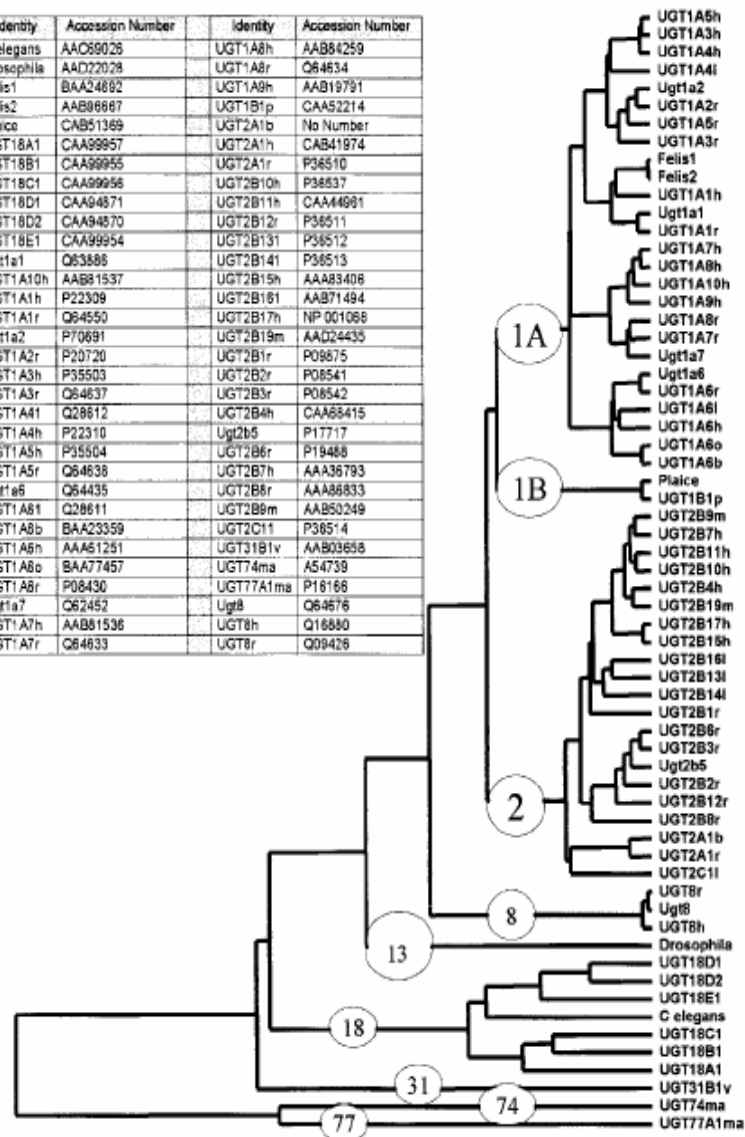
UDP

+

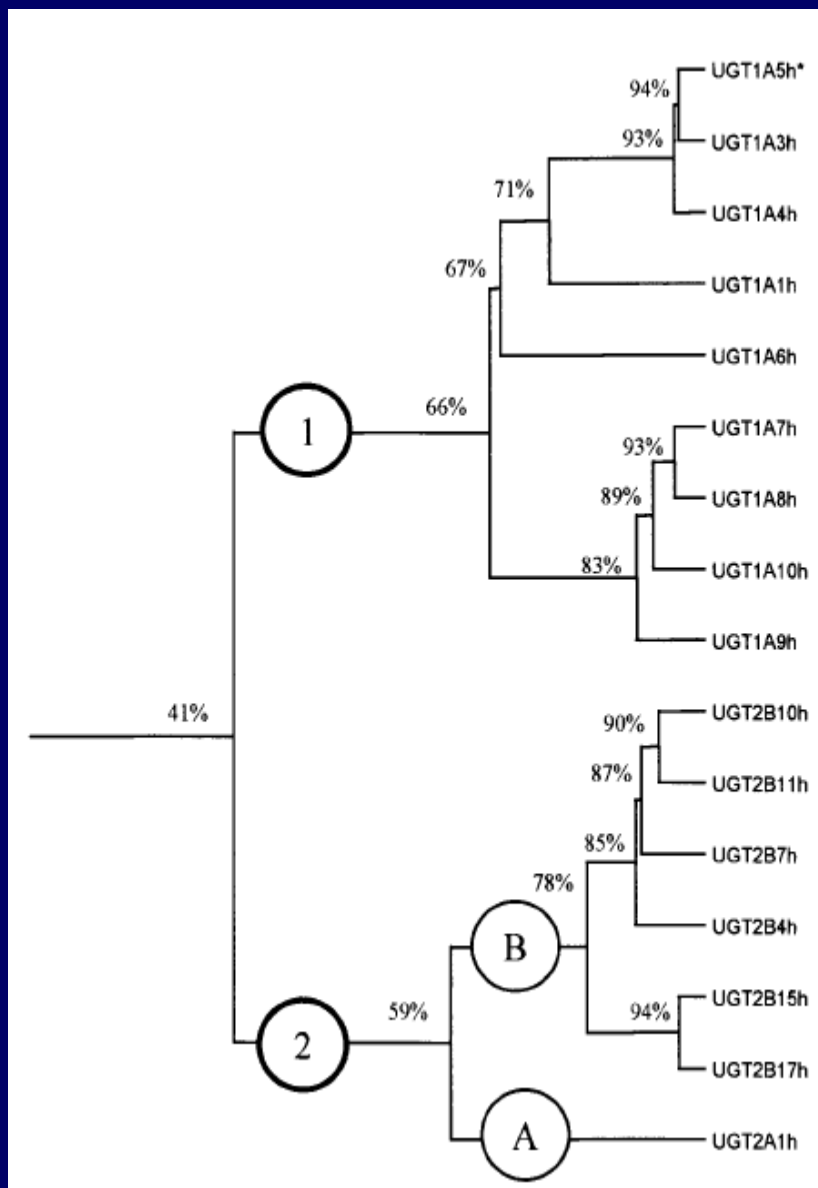
1-Naphthol glucuronide

KLASIFIKACE UGT

Identity	Accession Number	Identity	Accession Number
<i>C. elegans</i>	AAC69026	UGT1A8h	AAB84259
<i>Drosophila</i>	AAD72028	UGT1A8r	Q64634
Felis1	BA24682	UGT1A9h	AAB19791
Felis2	AAB86687	UGT1B1p	CAA52214
Plaice	CAB51369	UGT2A1b	No Number
UGT18A1	CAA99957	UGT2A1h	CAB41874
UGT18B1	CAA99955	UGT2A1r	P36510
UGT18C1	CAA99956	UGT2B10h	P36537
UGT18D1	CAA94871	UGT2B11h	CAA44981
UGT18D2	CAA94870	UGT2B12r	P36511
UGT18E1	CAA99954	UGT2B131	P36512
Ugt1a1	Q63886	UGT2B141	P36513
UGT1A10h	AAB81537	UGT2B15h	AA83406
UGT1A1h	P22309	UGT2B161	AAB71494
UGT1A1r	Q64550	UGT2B17h	NP_001068
Ugt1a2	P70691	UGT2B19m	AA024435
UGT1A2r	P20720	UGT2B1r	P09675
UGT1A3h	P35503	UGT2B2r	P08541
UGT1A3r	Q64637	UGT2B3r	P08542
UGT1A41	Q28612	UGT2B4h	CAA65415
UGT1A4h	P22310	Ugt2b5	P17717
UGT1A5h	P35504	UGT2B6r	P19488
UGT1A5r	Q64638	UGT2B7h	AAA36793
Ugt1a6	Q64435	UGT2B8r	AAA86833
UGT1A81	Q28611	UGT2B8m	AAB50249
UGT1A8b	BA23359	UGT2C11	P36514
UGT1A6h	AA61251	UGT31B1v	AAB03658
UGT1A8c	BA77457	UGT74ma	A54739
UGT1A8r	P08430	Ugt77A1ma	P18166
Ugt1a7	Q62452	Ugt8	Q64676
UGT1A7h	AAB81536	UGT8h	Q16880
UGT1A7r	Q64633	UGT8r	Q09426

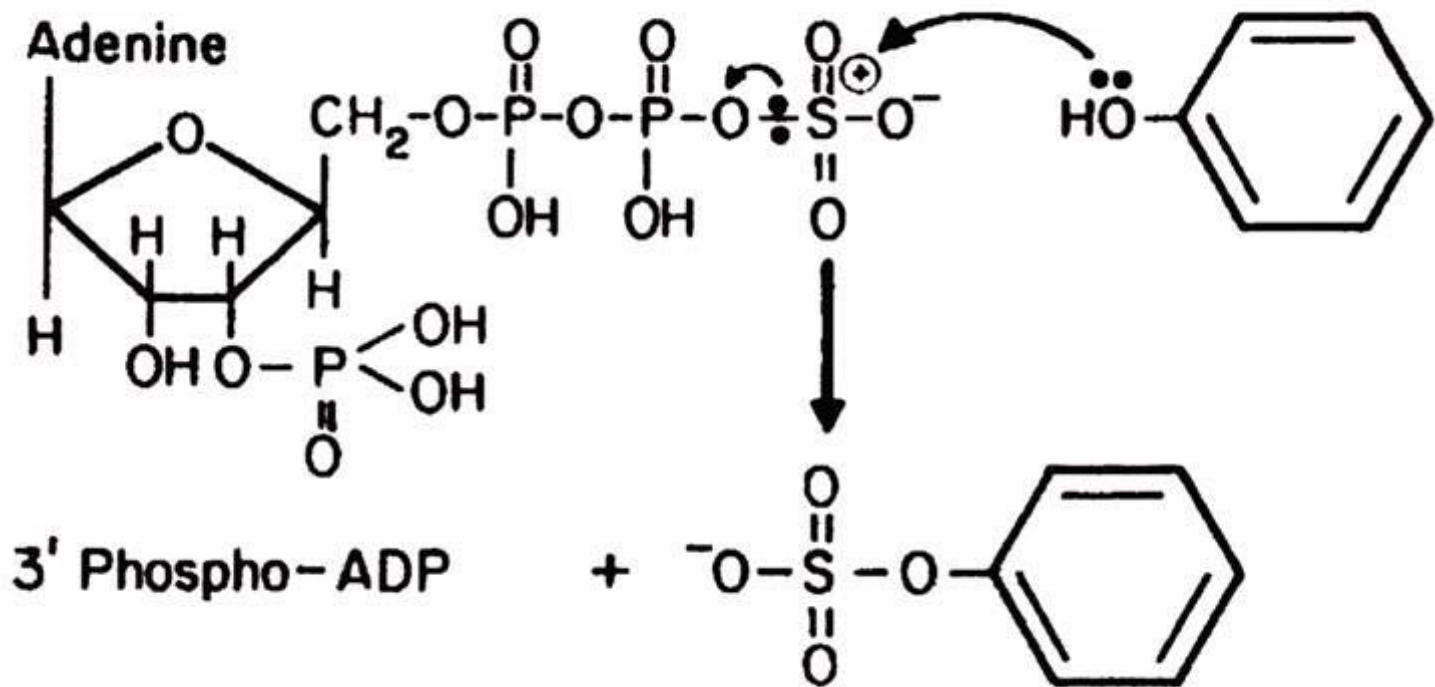


SEKVENČNÍ PŘÍBUZNOST UGT



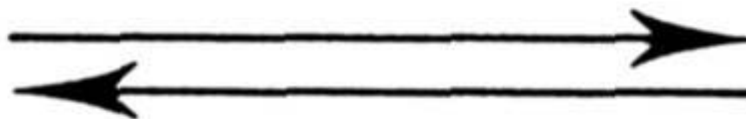
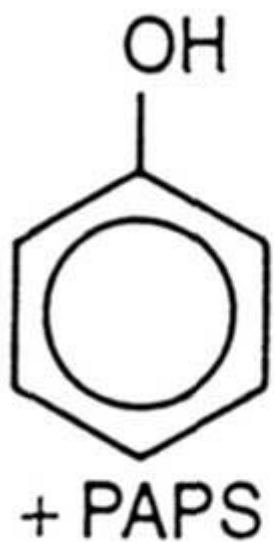
SULFOTRANSFERÁZY

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

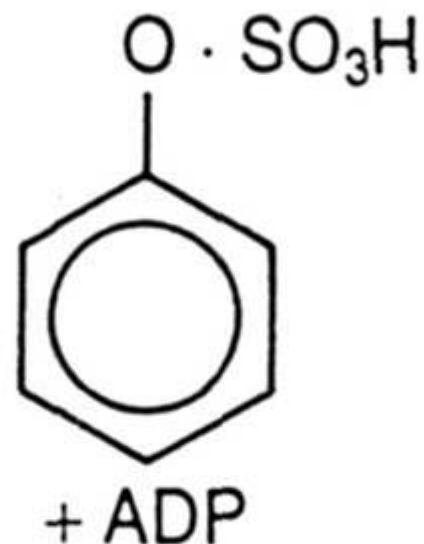


SULFOTRANSFERÁZY

sumární rovnice



Sulphotransferase

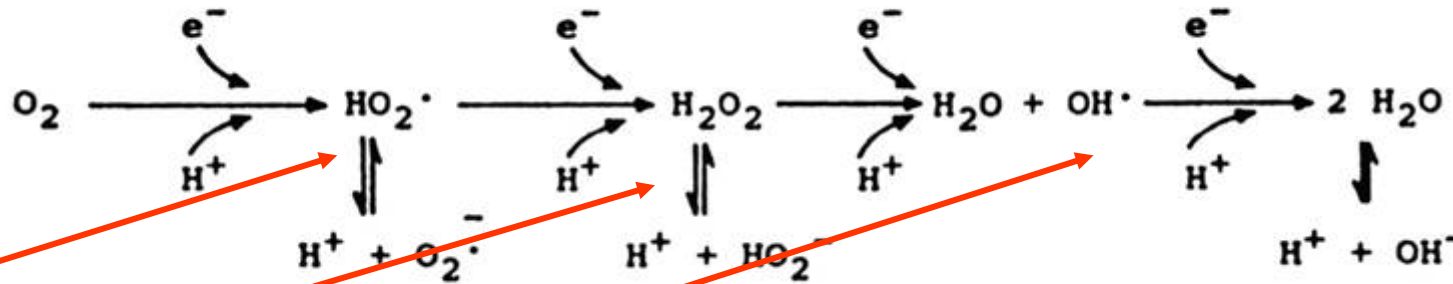




ANTIOXIDAČNÍ OBRANNÉ SYSTÉMY

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

REAKTIVNÍ FORMY KYSLÍKU (ROS)

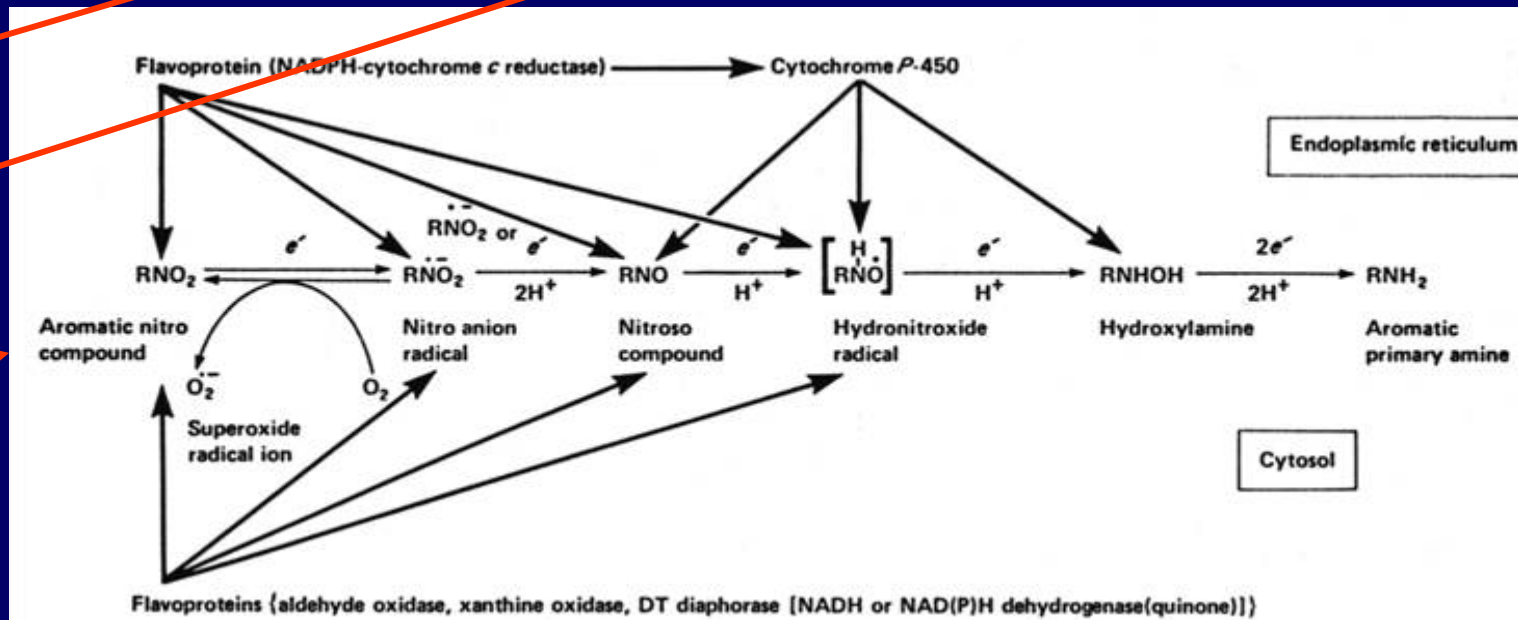


Superoxid

Peroxid

Hydroxylový radikál

Redukce nitrosloučenin



1) reaktivní formy kyslíku (ROS), NO aj. dusíkaté slouč.

2) reaktivní metabolity xenobiotik, fosfolipidů aj.

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

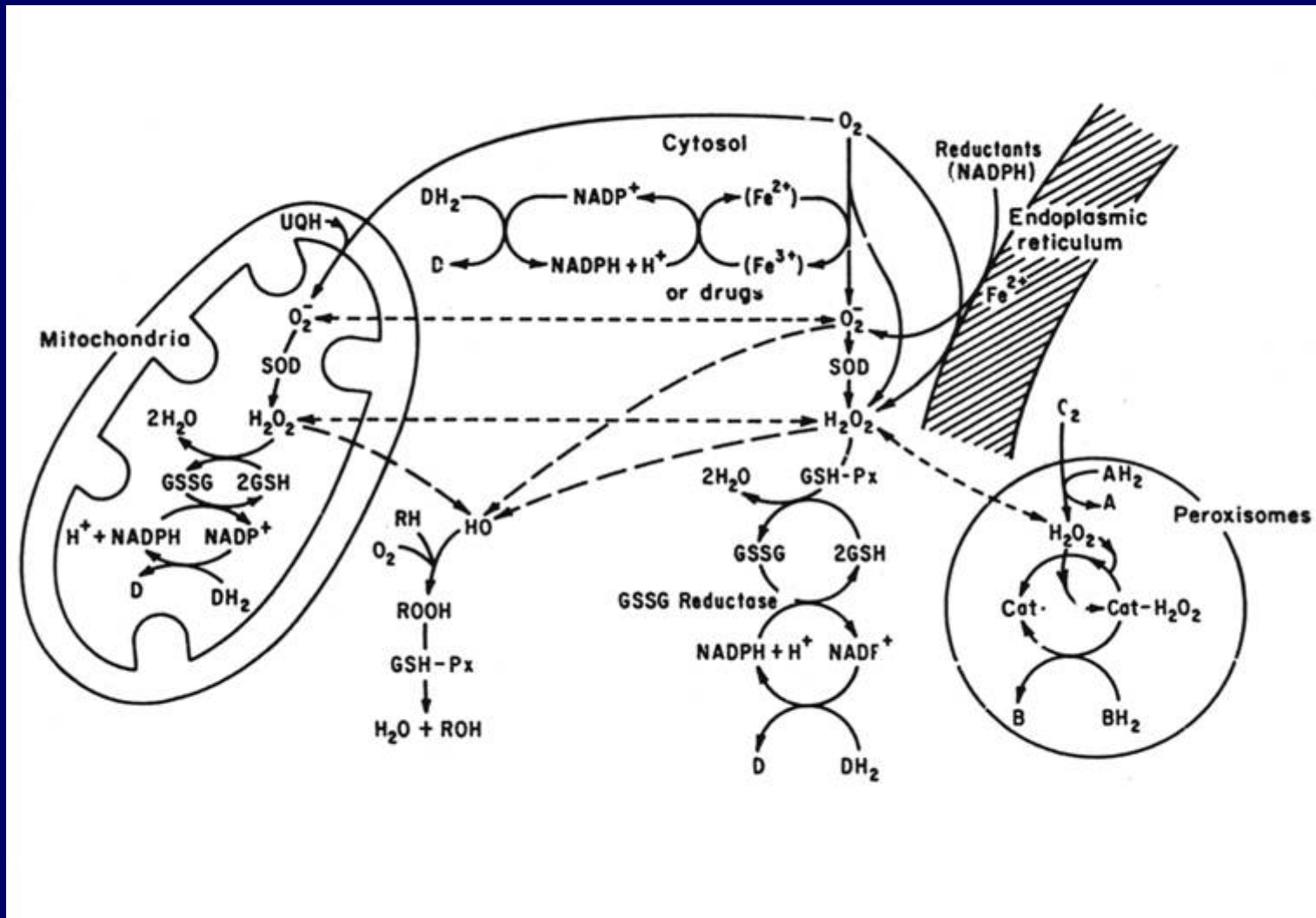
ANTIOXIDAČNÍ OBRANNÉ SYSTÉMY (NÍZKOMOLEKULÁRNÍ LÁTKY):

- **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 transité 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.

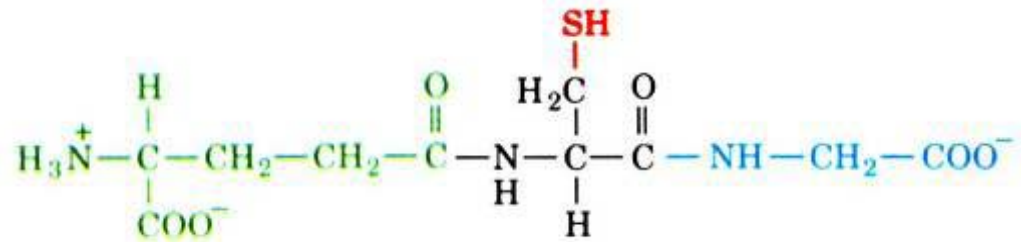
lipidní
sloučeniny

sloučeniny
rozpuštěné
ve vodě

ANTIOXIDAČNÍ ENZYMY VS. ROS



GLUTATHION JAKO ANTIOXIDANT



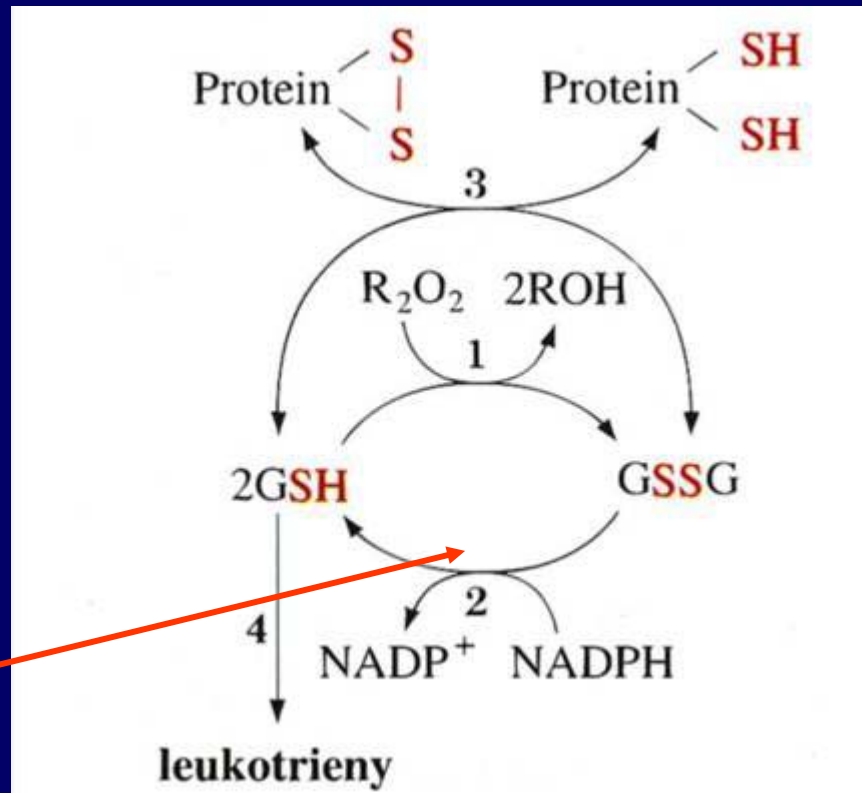
Funkce GSH:

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

Další funkce:

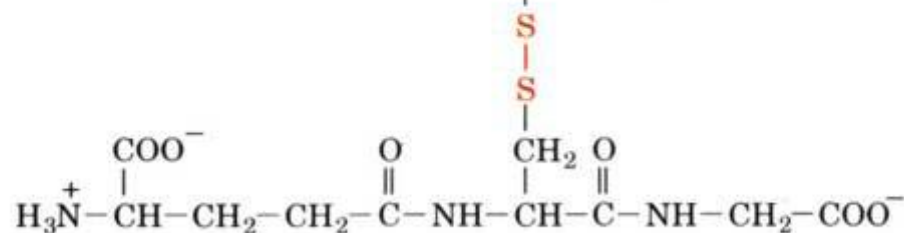
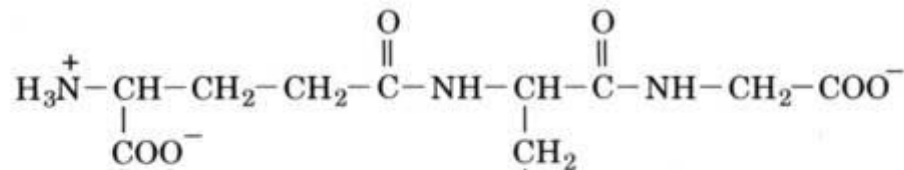
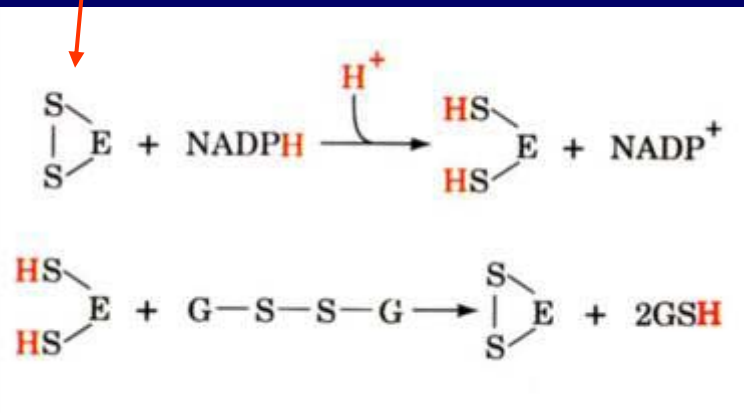
- kofaktor konjugačních reakcí katalyzovaných GST, např. s fenoly
- účast v biosyntéze leukotrienů

Redukce GSSG na GSH pomocí GR

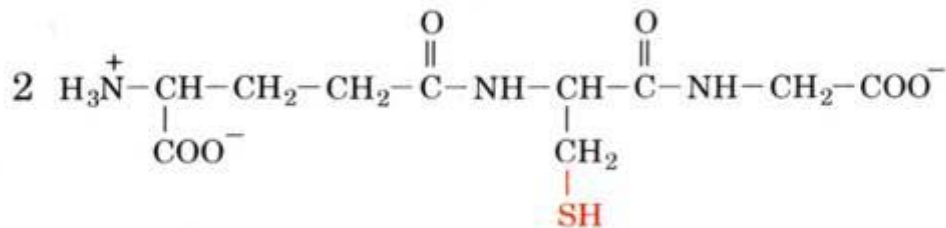
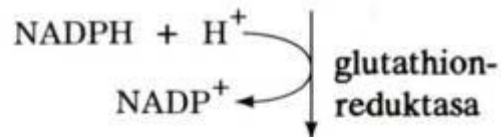


GLUTATHIONREDUKTÁZA

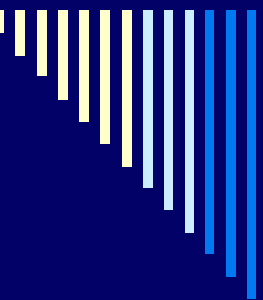
GR



glutathiondisulfid (GSSG)

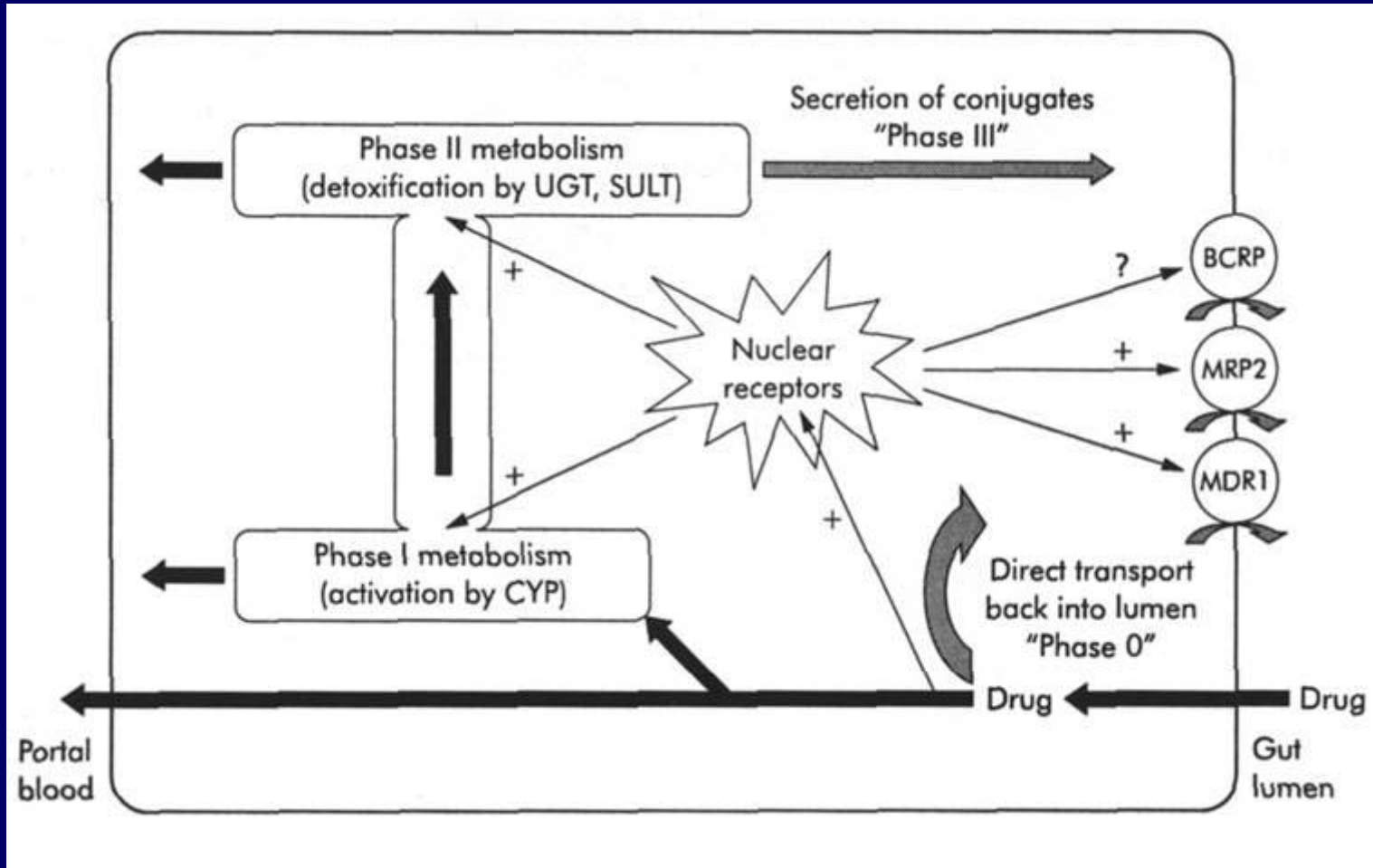


glutathion (GSH)
(γ -L-glutamyl-L-cysteinylglycin)



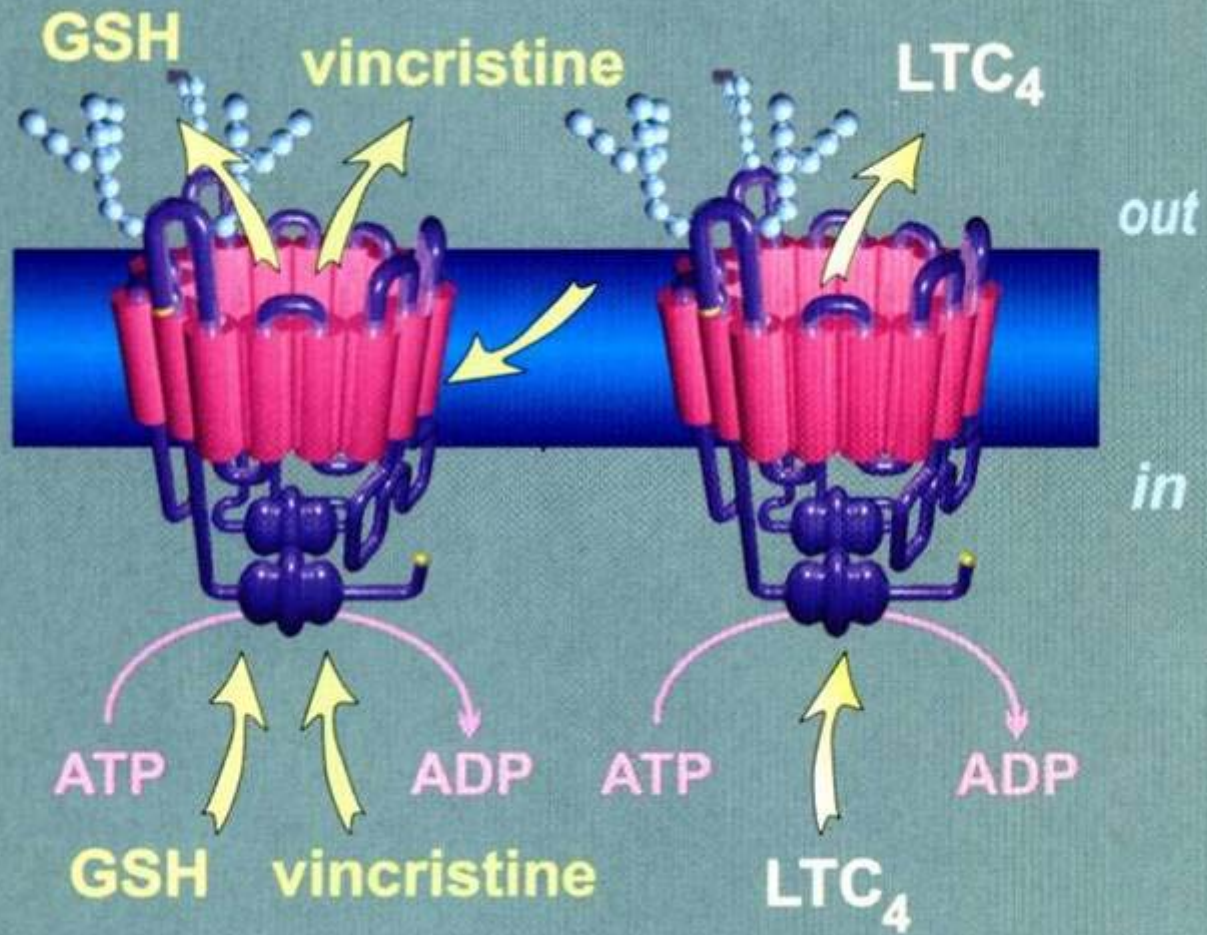
3. FÁZE BIOTRANSFORMACE

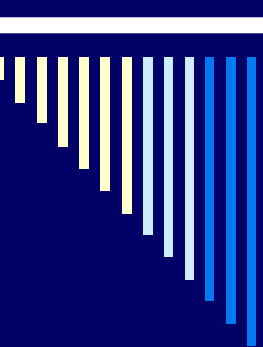
3. FÁZE BIOTRANSFORMACE (ABC TRANSPORTÉRY)



ABC TRANSPORTÉRY: MULTIDRUG RESISTANCE (MDR) SYSTEM

Transport
lipidů,
antibiotik
aj. látek
černě buněčné
membrány





3. FÁZE BIOTRANSFORMACE (ABC TRANSPORTÉRY)

Nejvýznamnější zástupci ABC (ATP Binding Cassette) transportérů:

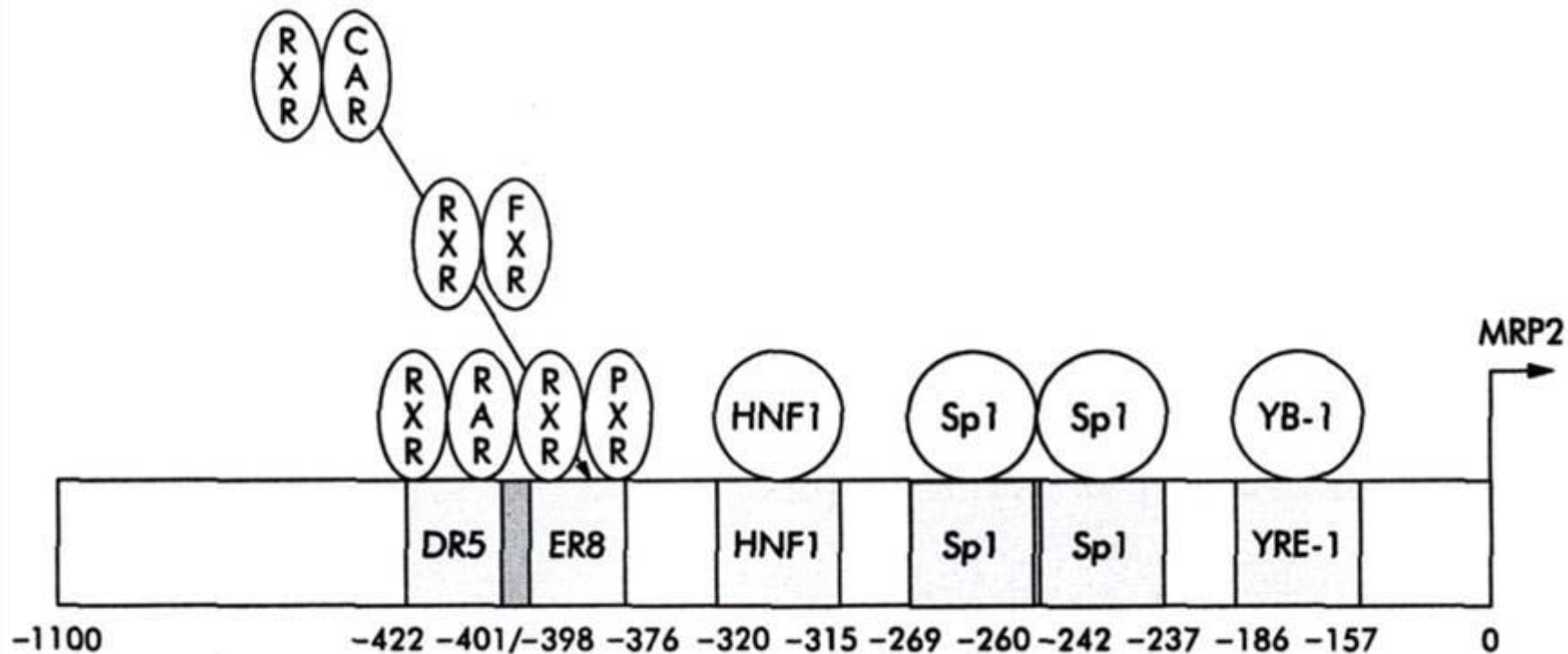
1. ABCC – transport aniontů včetně S-glutathionyl- a sulfátových konjugátů
MRP1 (ABCC1, *mrp1* gen) transportuje přes membránu LTC₄, D₄, E₄;
komplexuje oxidovaný glutathion (GSSG)

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 „overexpres“
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



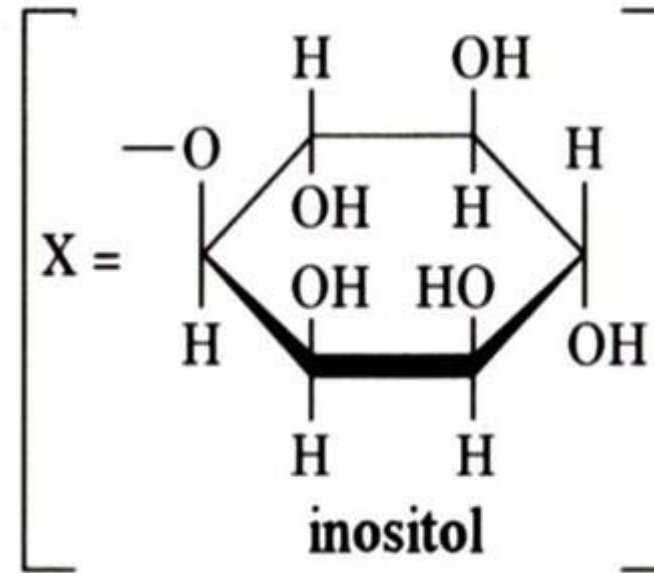
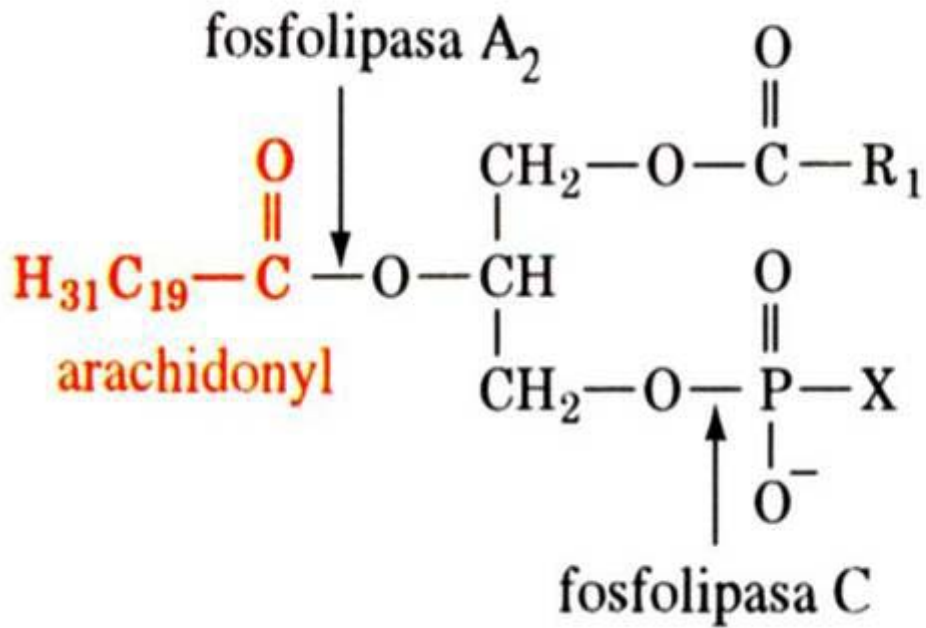
endokrinní /
parakrinní signály

- ☛ Fosfolipázy A₂ (PLA₂)
- ☛ Fosfolipázy C (PI- PLC, PC-PLC)
- ☛ DAG lipázy
- ☛ Cytochromy P450 (CYP4A, CYP2E1, CYP1A, ...)
- ☛ Lipoxygenázy (LOX-5, LOX-12, ...)
- ☛ Cyklooxygenázy (COX-2)

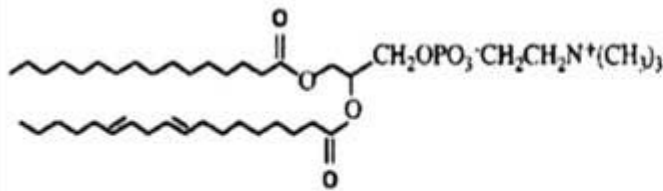
BIOTRANSFORMACE LIPIDŮ: fosfolipidy - substráty pro PLA2 a PLC

produkty: AA

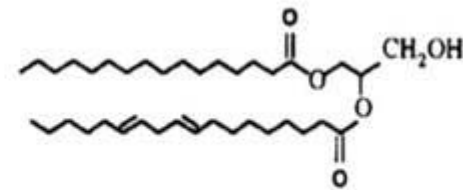
diacylglycerol (DAG)



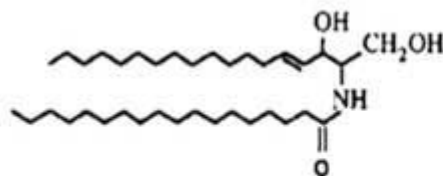
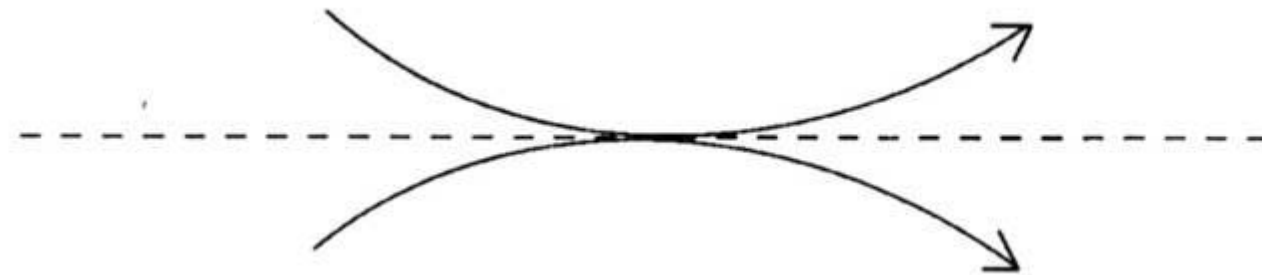
BIOTRANSFORMACE LIPIDŮ: PL-PLC (SMsyntáza)



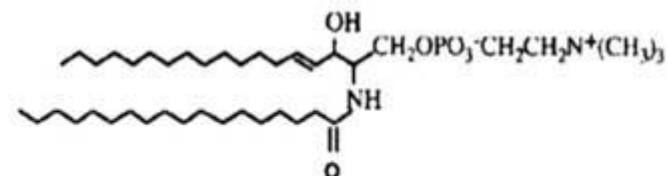
Phosphatidylcholine



Diacylglycerol



Ceramide



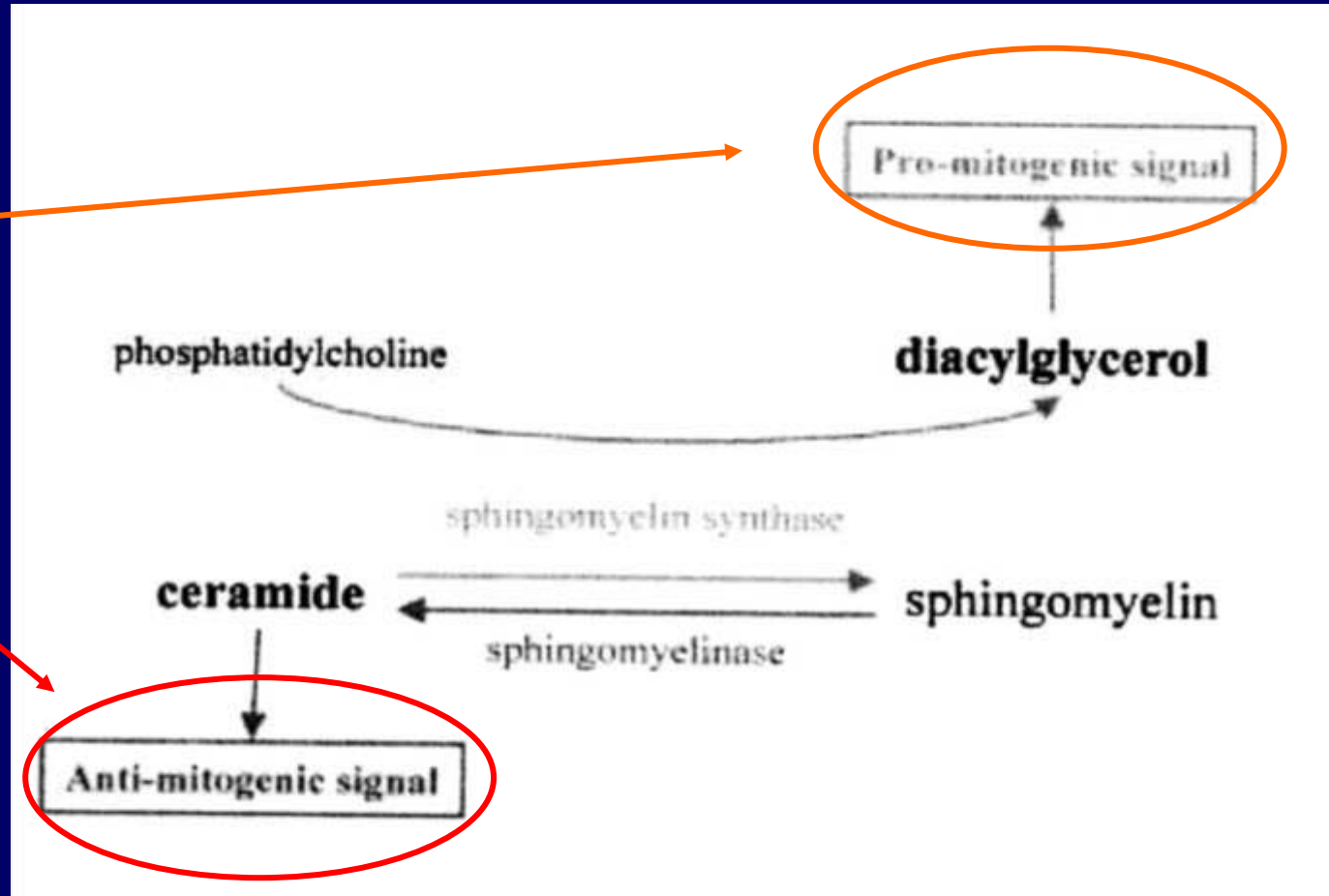
Sphingomyelin

BIOTRANSFORMACE LIPIDŮ: role syntézy ceramidu a DAG v signální transdukci

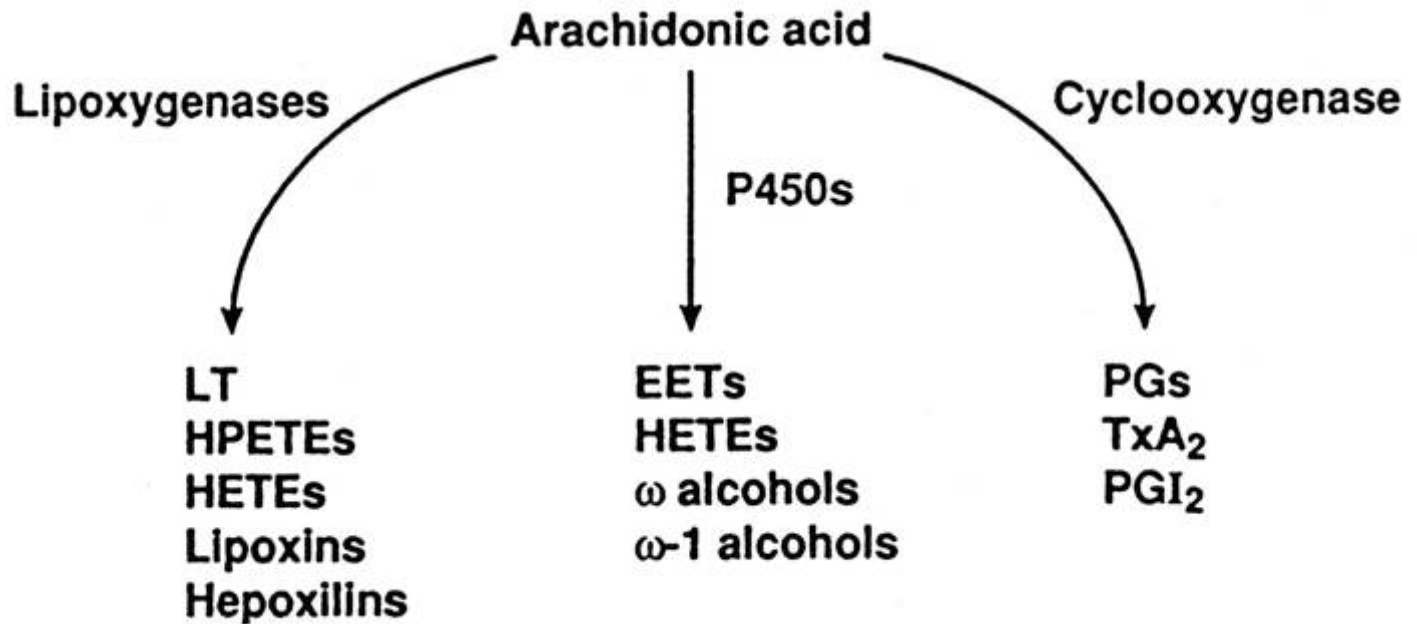
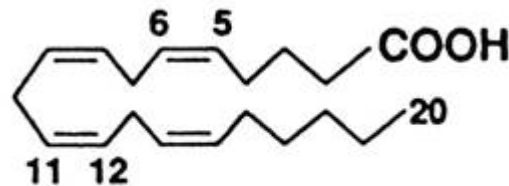
PC-PLC a
SMsyntáza

versus

SMáza



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



REGULACE EXPRESE TRANSKRIPČNÍMI FAKTORY NF- κ B

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

PROZÁNĚTLIVÉ
PROCESY

