



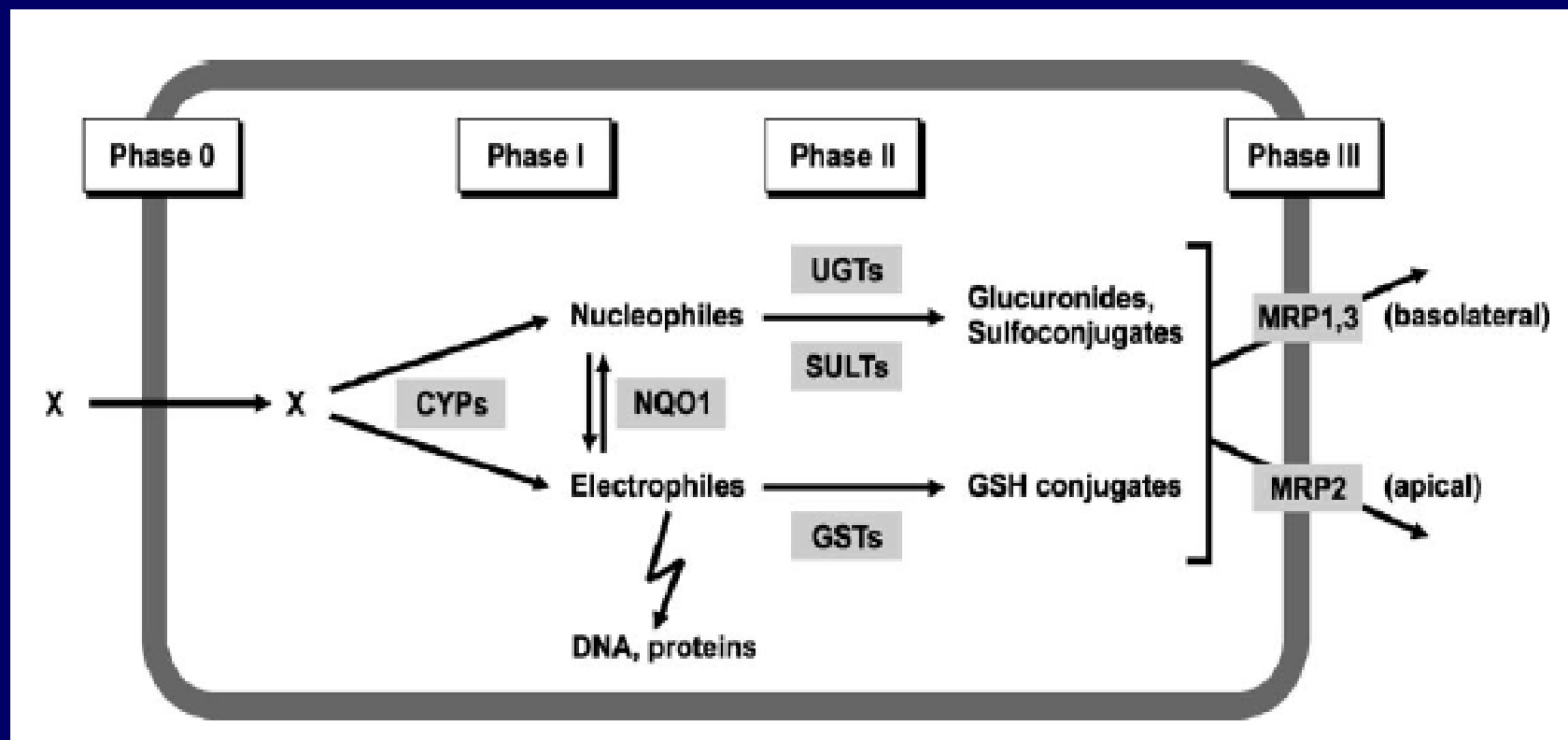
ENZYMY METABOLISMU CIZORODÝCH LÁTEK A CHEMICKÝCH REGULÁTORŮ SIGNÁLNÍ TRANSDUKCE:

- Enzymy 1. fáze biotransformace xenobiotik, steroidních hormonů a mastných kyselin –
oxygenázy (CYP, AKR, FMO, COX, LOX), reduktázy (AKR, NQO), hydrolázy (esterázy, epoxidhydrolázy).
- 2. fáze biotransformace (GST, UDPGT, SULF aj.).
- 3. fáze biotransformace (ABC transportéry)

Modulace dalších enzymů:

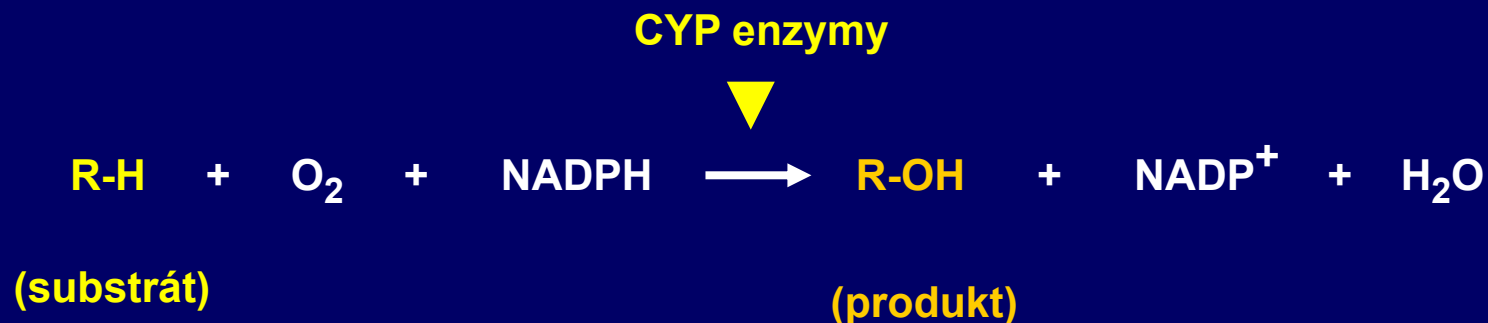
proteinkinázy („moduly“ mitogen-aktivovaných proteinkináz ERK, p38, JNK), fosfatázy; enzymy biotransformace lipidních signálních molekul (fosfolipázy, dihydroceramid-desaturáza, sfingomyelináza aj.).

BIOTRANSFORMACE CIZORODÝCH LÁTEK, STEROIDŮ, EIKOSANOIDŮ AJ. ENDOGENNÍCH LÁTEK

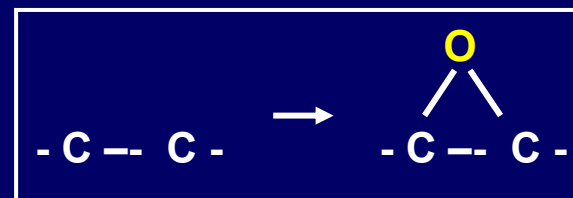
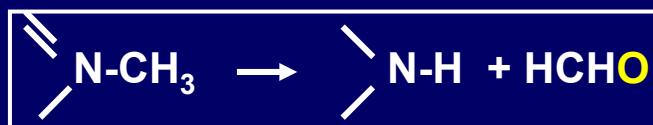




1. FÁZE BIOTRANSFORMACE: monooxygenázové reakce



- Přenos elektronů z NADPH na CYP enzym
- Aktivace molekuly kyslíku, „roztržení“ vazby
- Oxidace substrátu (hydroxylace, N-demethylace, epoxidace....)



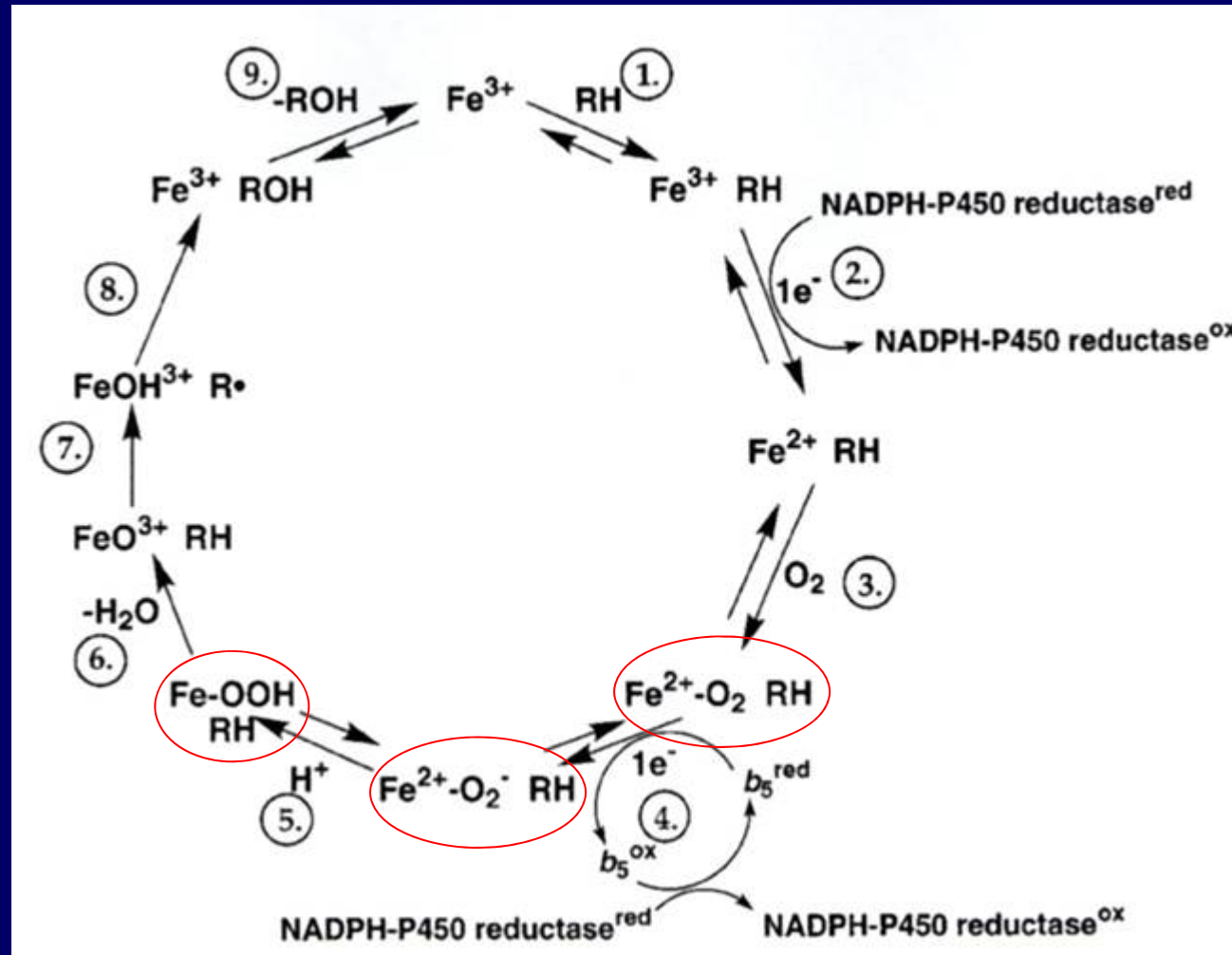
CYKLUS CYTOCHROMU P450: MONOOXYGENACE A AKTIVACE KYSLÍKU

Přenos elektronů:
NADPH
↓
NADPH:P450 oxido-
reduktáza

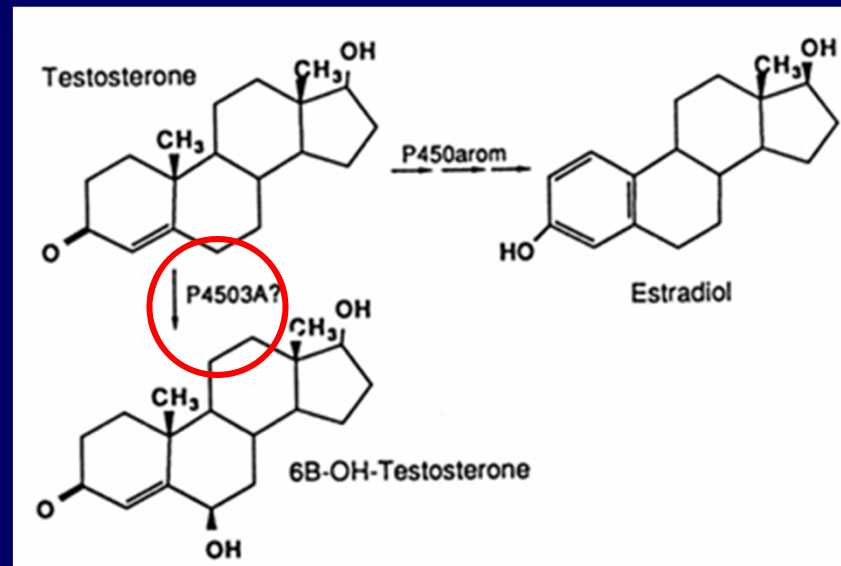
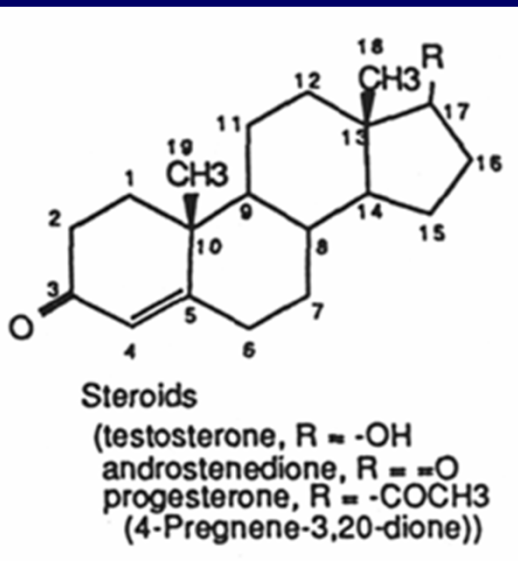
↓
cytochrom P450

(substrát RH,
produkt ROH,
produkce ROS)

Aktivace kyslíku:
ROS = vedlejší
produkty

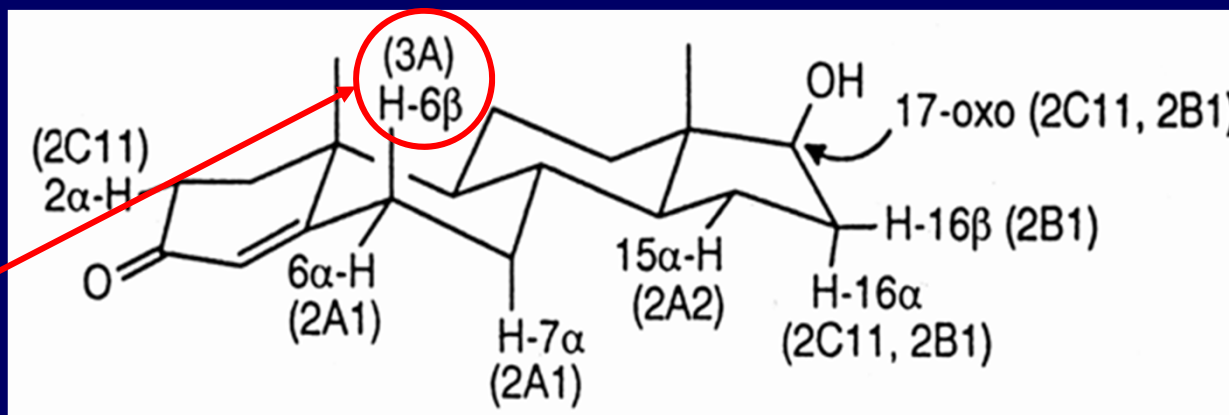


SPECIFICKÉ SUBSTRÁTY CYP ENZYMŮ

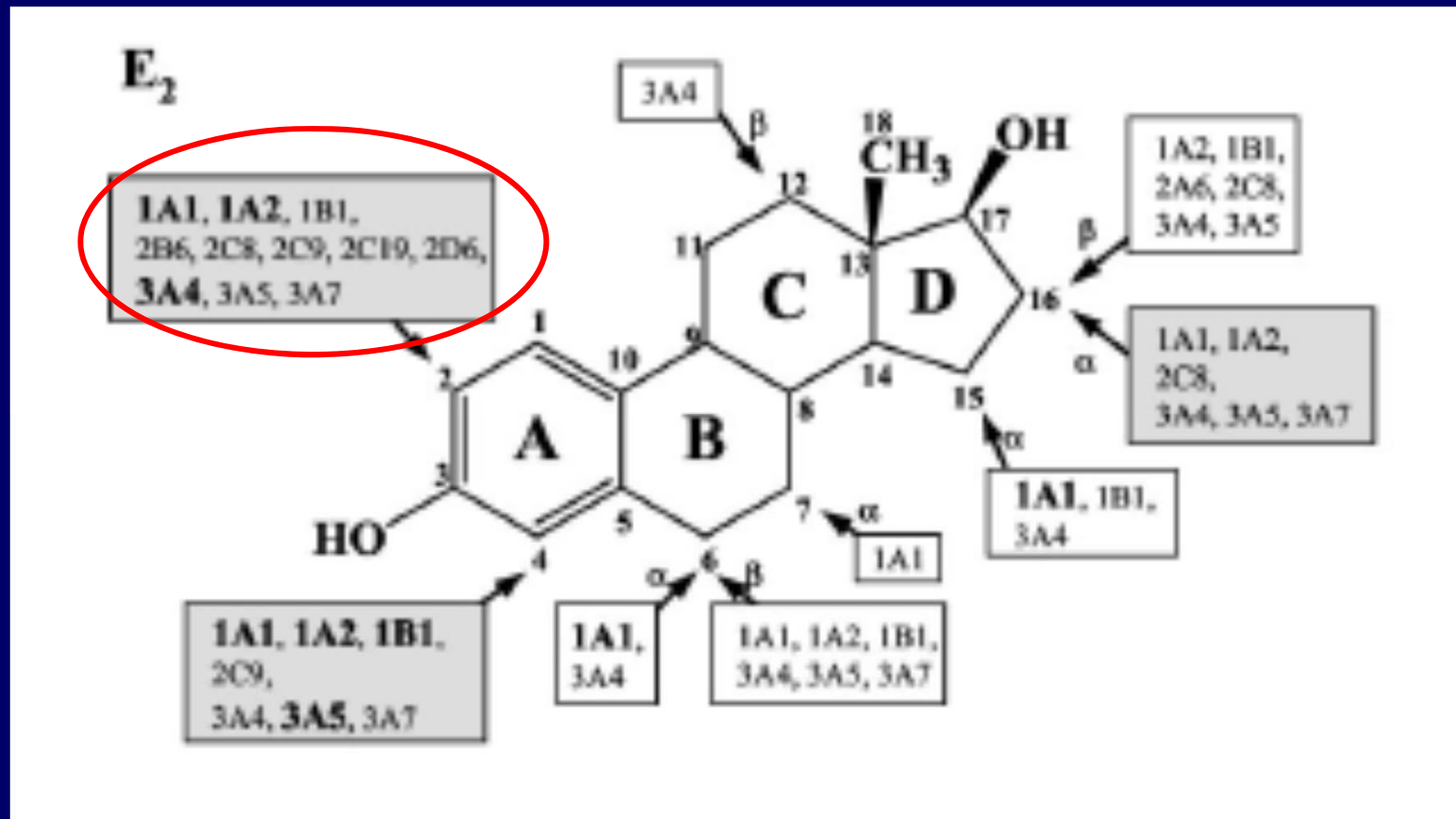


Hydroxylace steroidů
 v různých pozicích
 (v závorkách isoformy
 CYP enzymů)

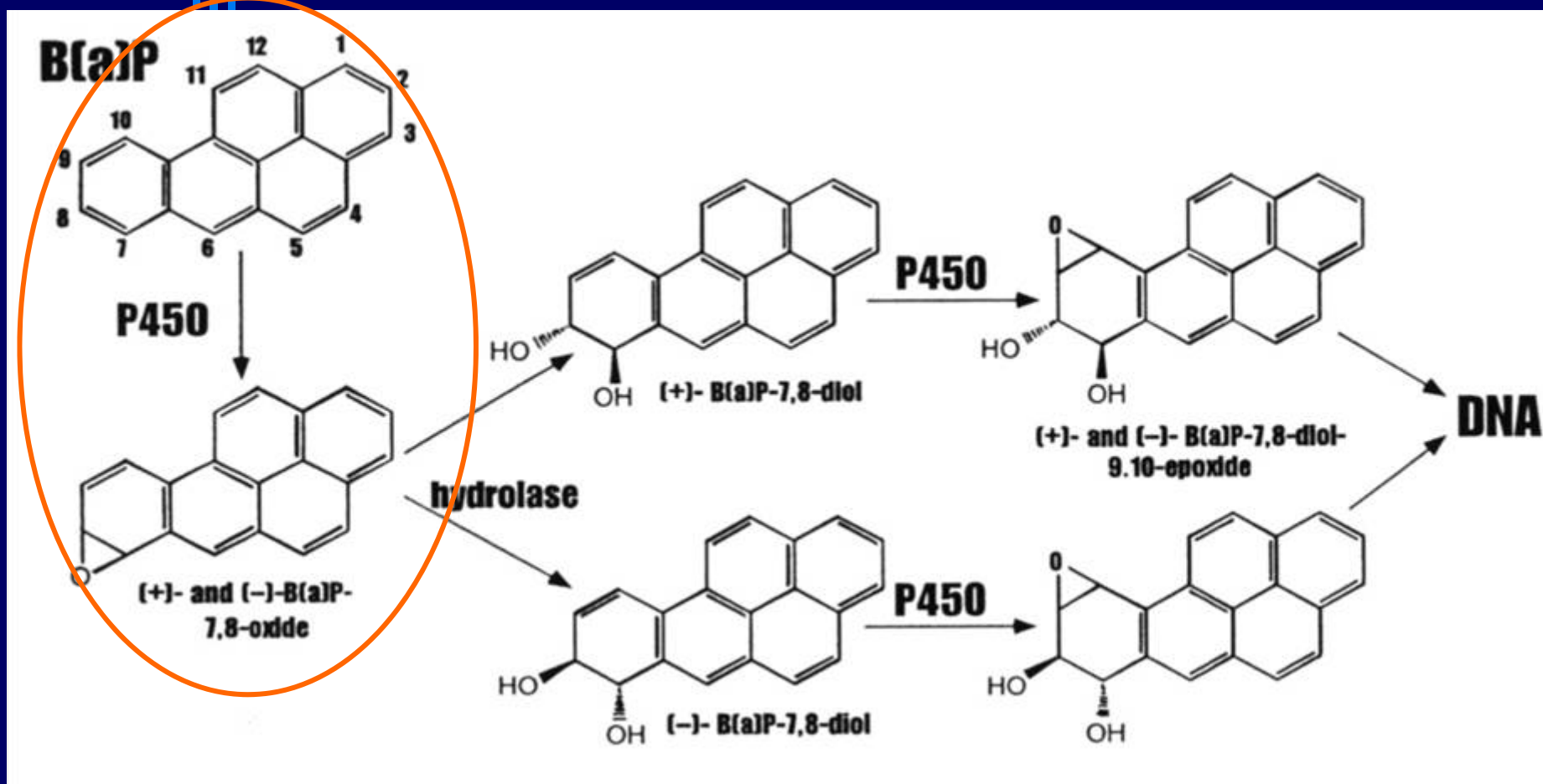
6β-hydroxylace =
 specifická reakce CYP3A



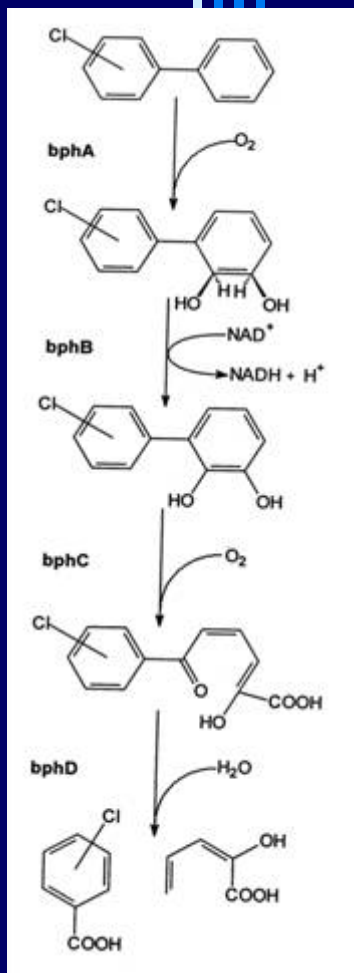
REGIOSELEKTIVNÍ HYDROXYLACE ESTRADIOLU ISOFORMAMI CYTOCHROMU P450



ROLE CYP1A1/CYP1A2/CYP1B1 A EPOXIDHYDROLÁZ V METABOLICKÉ AKTIVACI POLYCYKLIČKÝCH AROMATICKÝCH UHLOVODÍKŮ



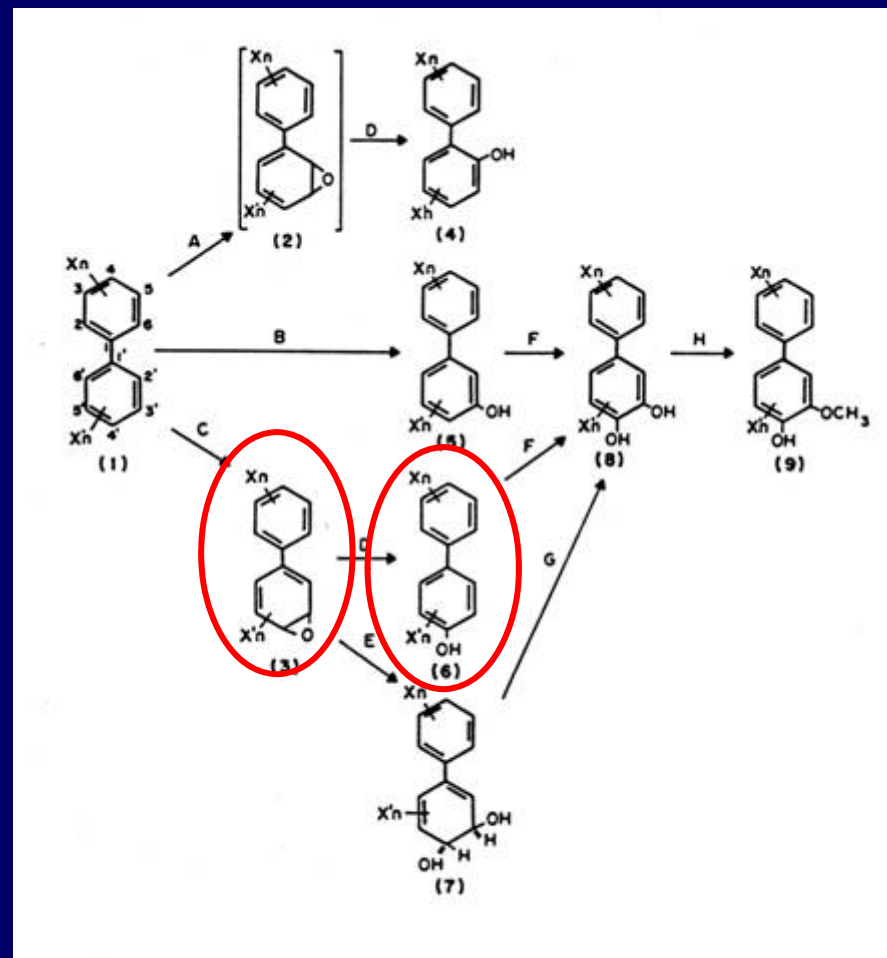
METABOLISMUS POLYCHLOROVANÝCH BIFENYLŮ (PCB) – příklad 1. fáze metabolismu persistentních organických sloučenin



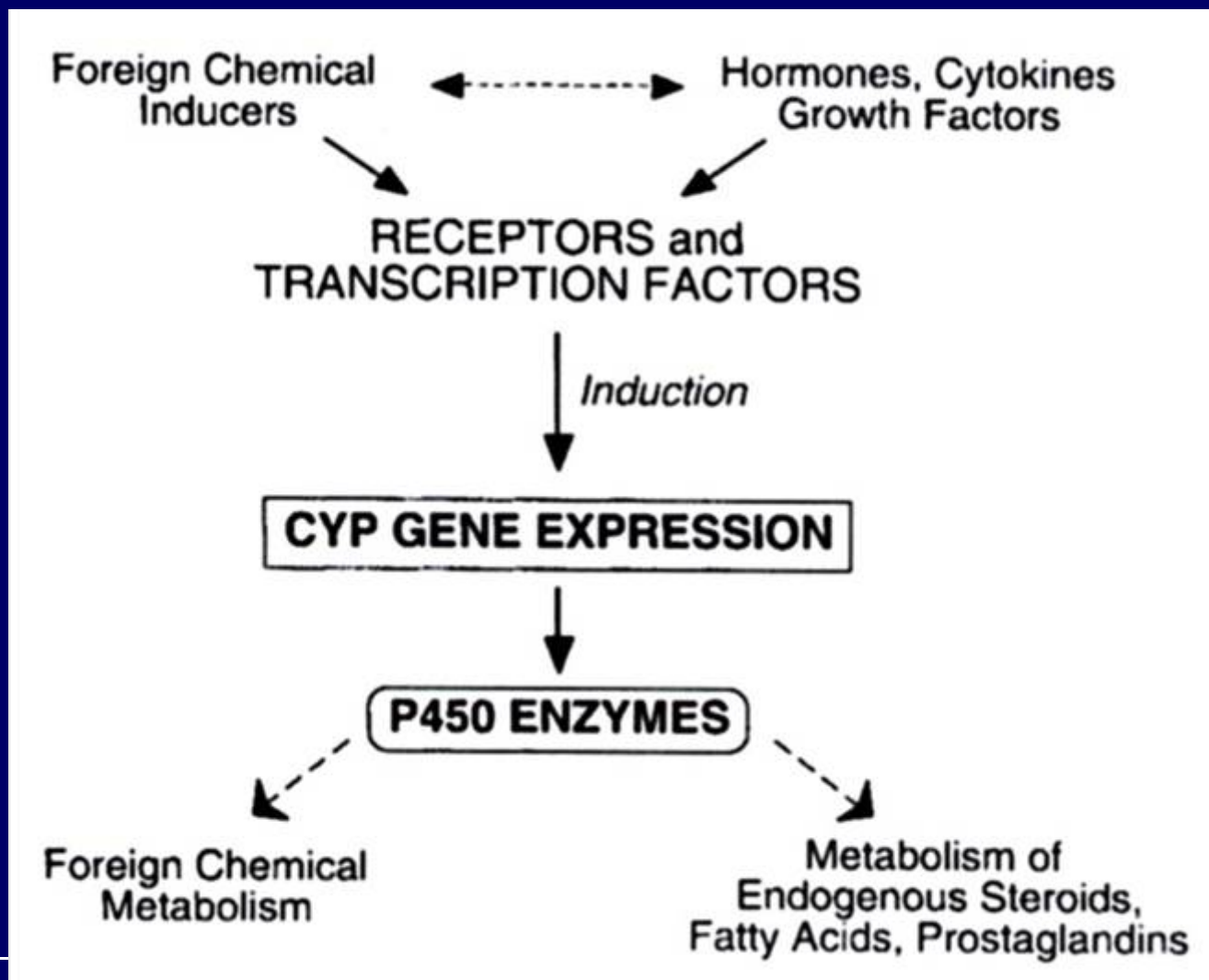
Mikrobiální degradace

Metabolismus u vyšších živočichů: oxidativní metab. (hl. cesta C, D)

Persistetní arom. sloučeniny: obsah. Cl v sousedních pozicích – bariéra vzniku epoxidu monooxygenáz. reakcí

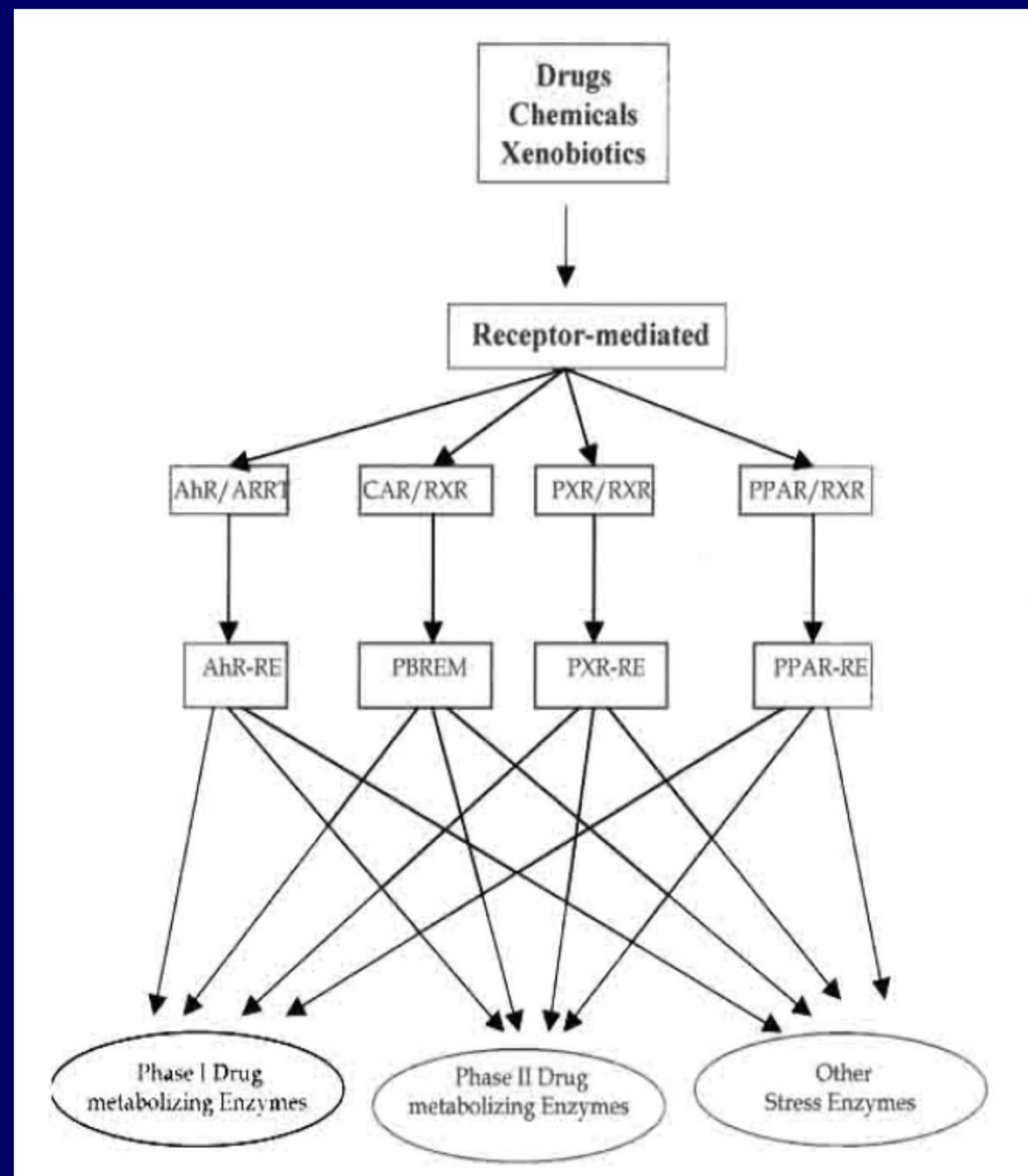


NUKLEÁRNÍ A CYTOSOLOVÉ RECEPTORY KONTROJUJÍCÍ EXPRESI CYP PROTEINŮ



**XENOBIOTIKA, STEROIDY AJ.
LÁTKY INDUKUJÍ VLASTNÍ
METABOLISMUS AKTIVACÍ
RECEPTORŮ (TRANSKRIPČNÍCH
FAKTORŮ), KTERÉ KONTROLUJÍ
EXPRESI BIOTRANSFORMAČNÍCH
ENZYMŮ A ABC TRANSPORTÉRŮ**

- vazba xenobiotika na receptor (aktivace receptoru)
- dimerizace receptoru
- vazba receptoru na specifické elementy v promoterových oblastech cílových genů



NUKLEÁRNÍ A CYTOSOLOVÉ RECEPTORY

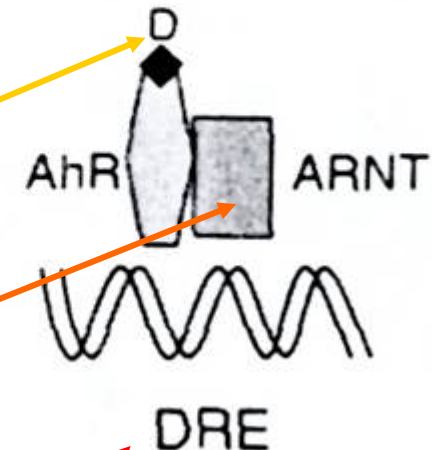
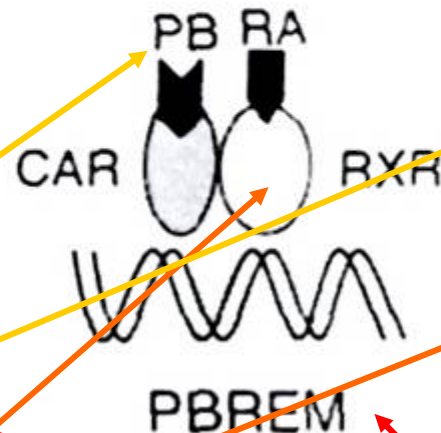
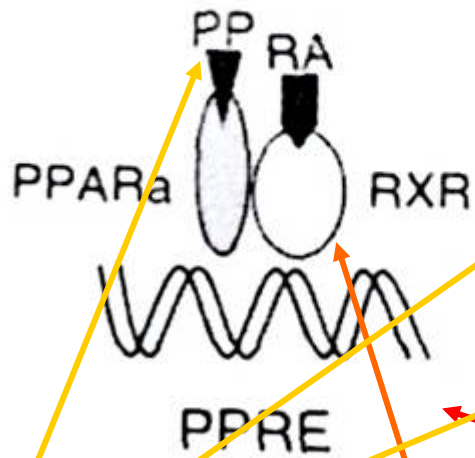
nukleární receptory

cytosolový receptor

a) peroxisome proliferators

b) phenobarbital

c) dioxin



ligand receptoru

dimerizační partner

specif. responsní element v promoterech

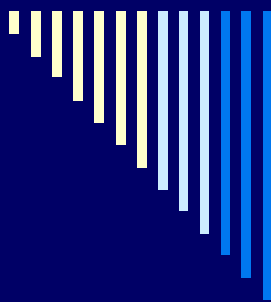
NUKLEÁRNÍ A CYTOSOLOVÉ RECEPTORY KONTROLUJÍCÍ EXPRESI CYP ENZYMŮ

CYP Induction Mediated by Nuclear Receptors

P450 inducing agents	Prototypic responsive rat liver CYPs	Receptor
Polycyclic aromatic hydrocarbons	1A1, 1A2, 1B1	Ah receptor ^a
Phenobarbital	2B1, 2B2	CAR
Dexamethasone	3A1, 3A2, 3A23	PXR
Fibrate drugs	4A1, 4A2, 4A3	PPAR α
Cholesterol	7A1	LXR α
Bile acids ^b	7A1	FXR
Thyroid hormone	P450 reductase	TR

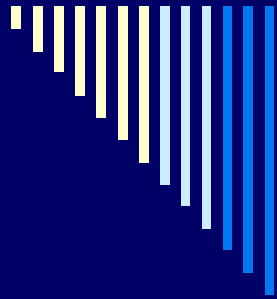
^a PAS transcription family member, not a nuclear receptor.

^b Inhibitors of CYP7A1 transcription.



SEZNAM CYTOCHROMŮ P450 (CYP) 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, (ω -1)-hydroxylace mastných kyselin
- ❑ CYP3A: exprese regulována **GR/PXR**; indukce dexametazonem aj. steroidy, monooxygenace velké řady xenobiotik (nejdůležitější enzym biotransformace), 6β -hydroxylace testosteronu
- ❑ CYP4A: exprese regulována **PPAR α** , indukce peroxisomálními proliferátory (clofibrate, dialkylestery kyseliny ftalové), ω -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



CYTOSOLOVÉ RECEPTORY: AhR (Aryl hydrocarbon receptor)

AhR kontroluje genovou expresi

biotransformačních enzymů

CYP1A1/1A2/1B1,
UGT, GST, NQO1

regulátorů bun. cyklu /
apoptózy

p27, Bax, ...

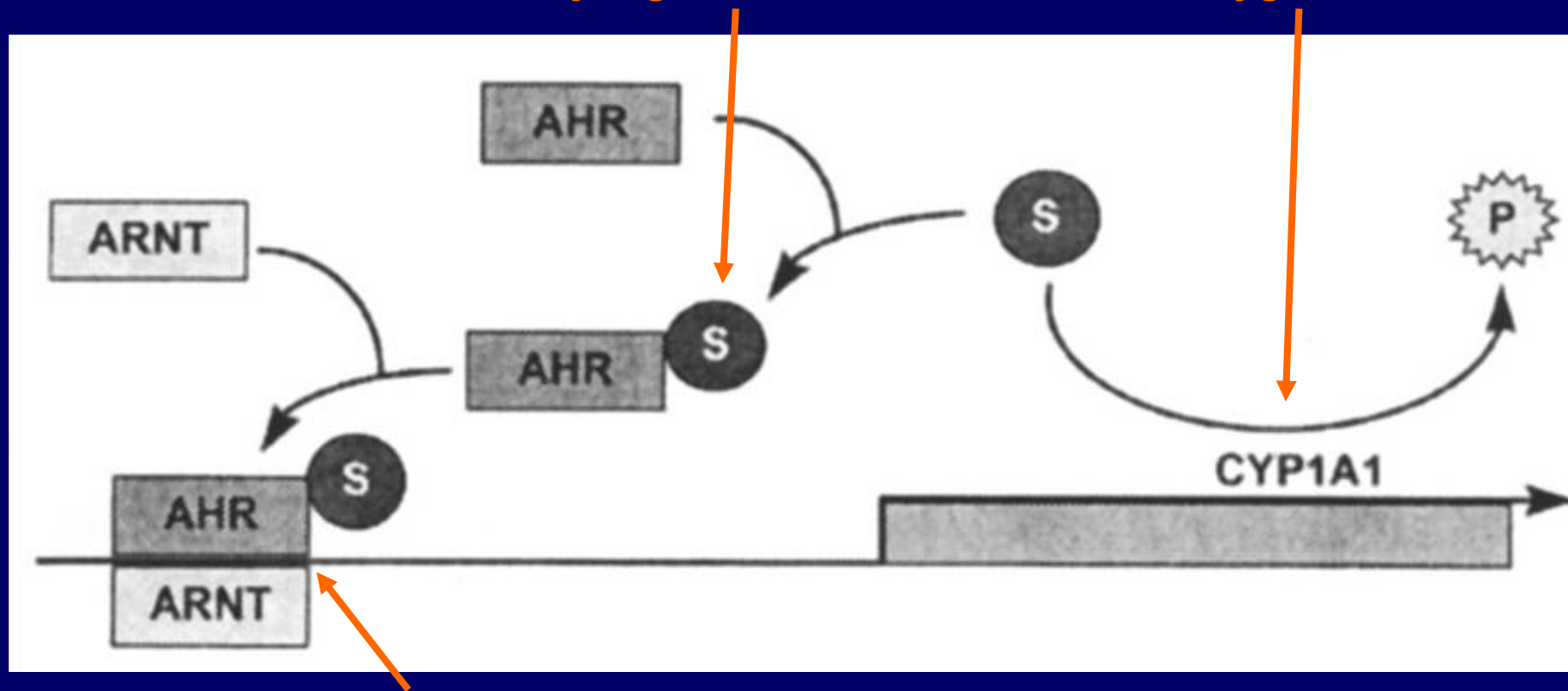
?

přímé interakce (ER?,...)

AKTIVACE Ah RECEPTORU A INDUKCE CYP1A1 SUBSTRÁTEM CYP1A

substrát S je ligandem AhR

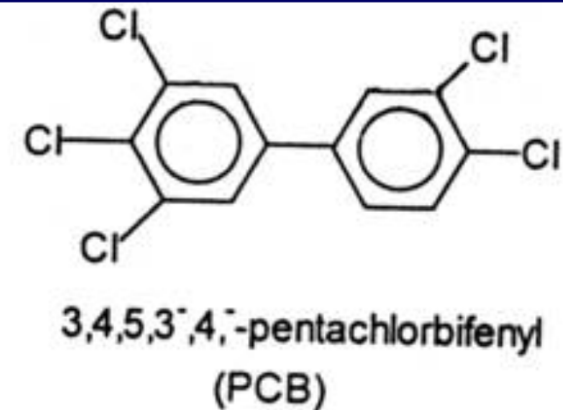
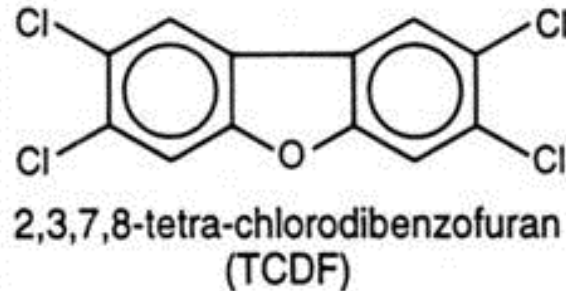
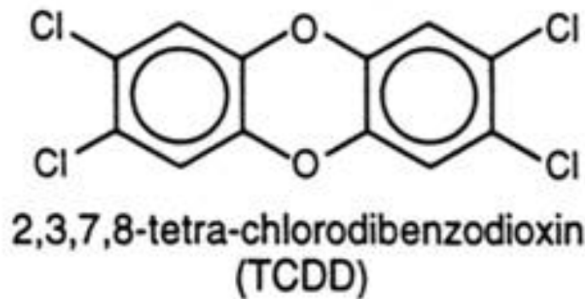
monooxygenázová reakce



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

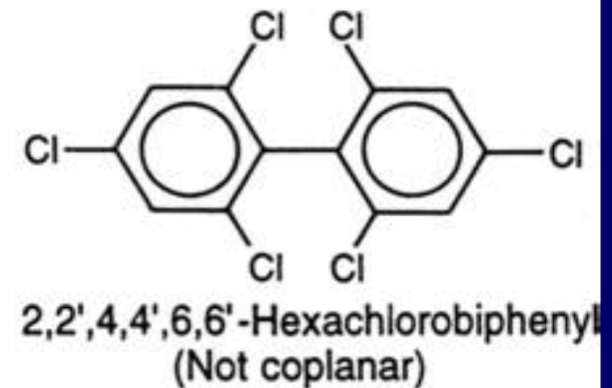
LIGANDY AhR

Strukturní podobnost (šířka, výška, molekulární objem, planarita molekuly)



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

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

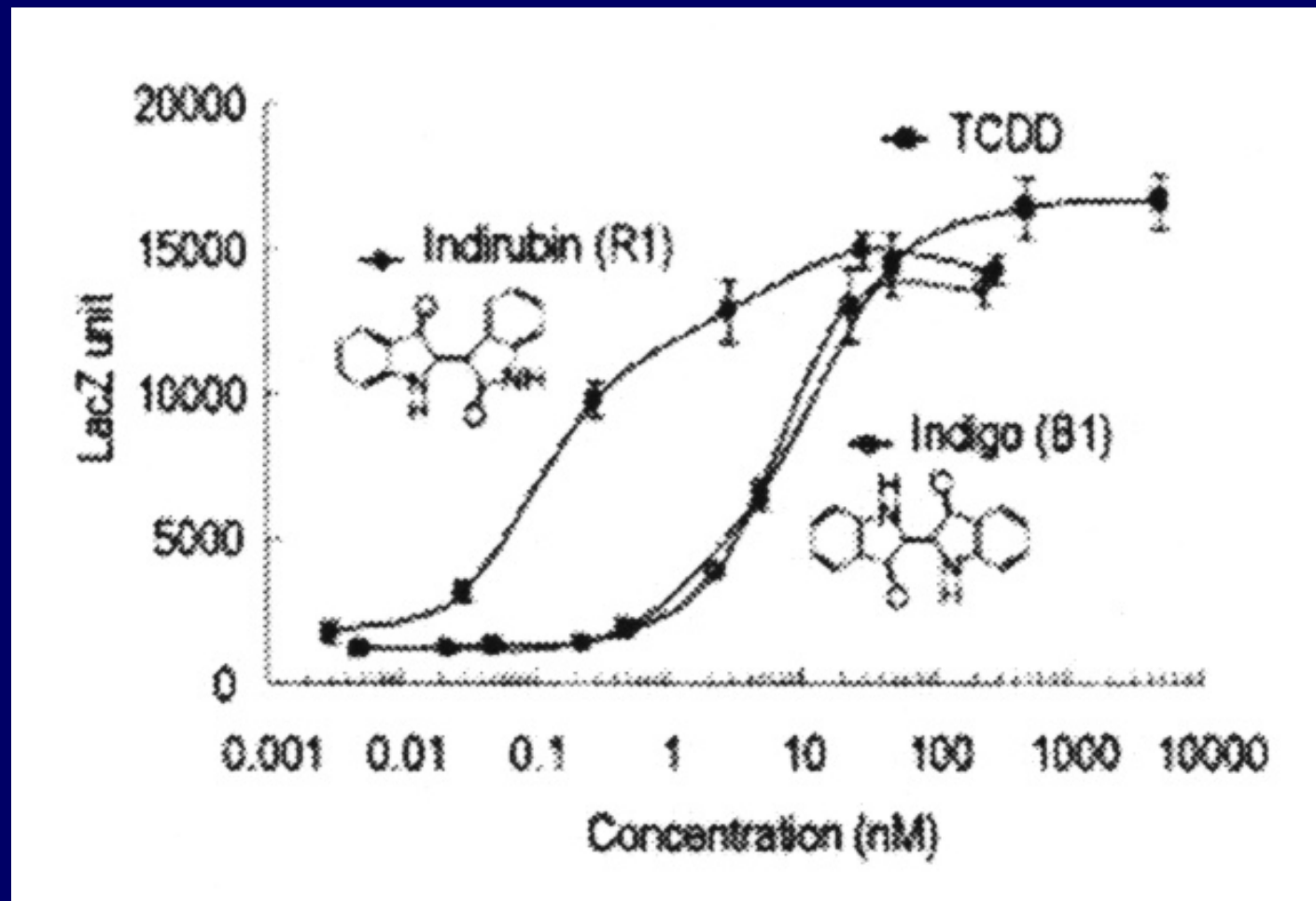


ENDOGENNÍ AGONISTÉ AhR

dosud nejsou známy (deriváty tryptofanu ?)

Funkce AhR:

nezbytný v řadě
proliferačních a
vývojových
procesů
(viz myší AhR-
deficientní
modely)



AKTIVACE Ah RECEPTORU / AhR-DEPENDENTNÍ GENOVÁ EXPRESE

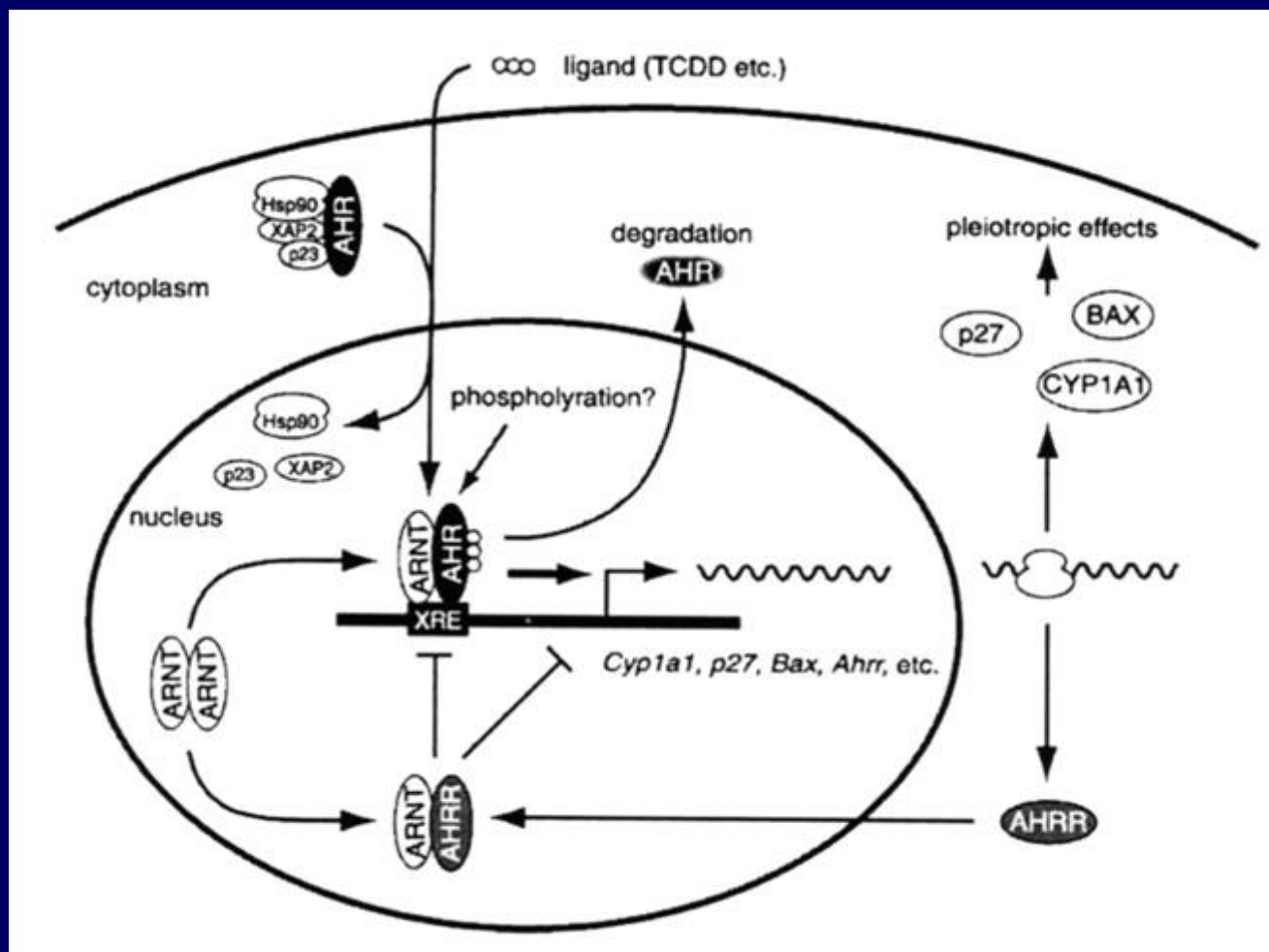
Produkty genové exprese:

- detox./bioaktiv. enzymy
- apoptóza;
- bun. cyklus;
- ?

Přímé interakce AhR („cross-talk“ s ER, ...)

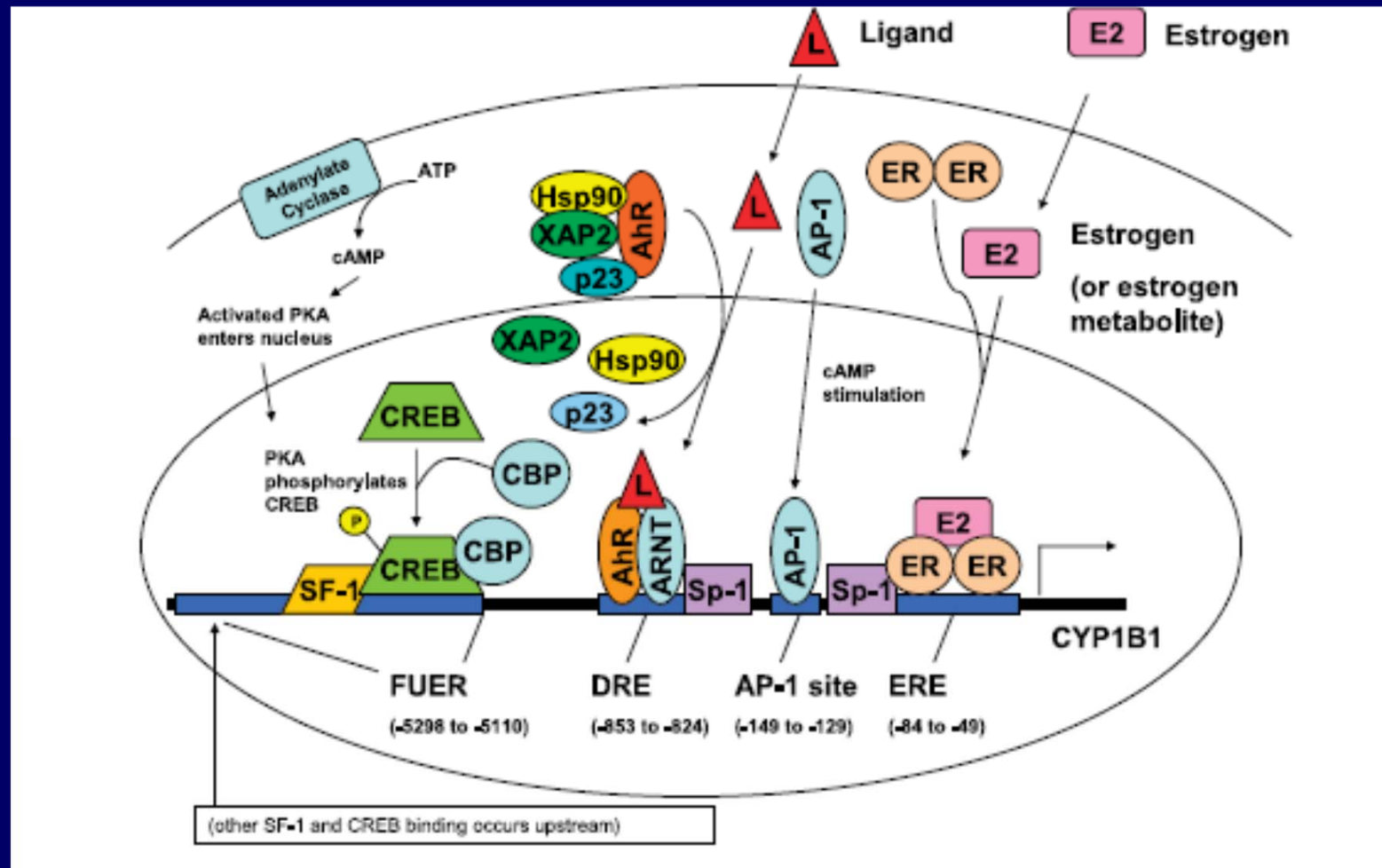
Regulace AhR:

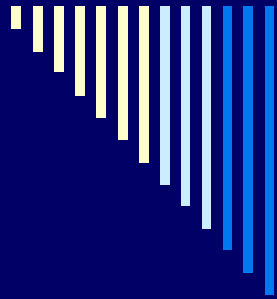
- degradace AhR po navázání ligandu
- AHRR = AhR represor



REGULATE CYTOCHROMU P4501B1 (CYP1B1)

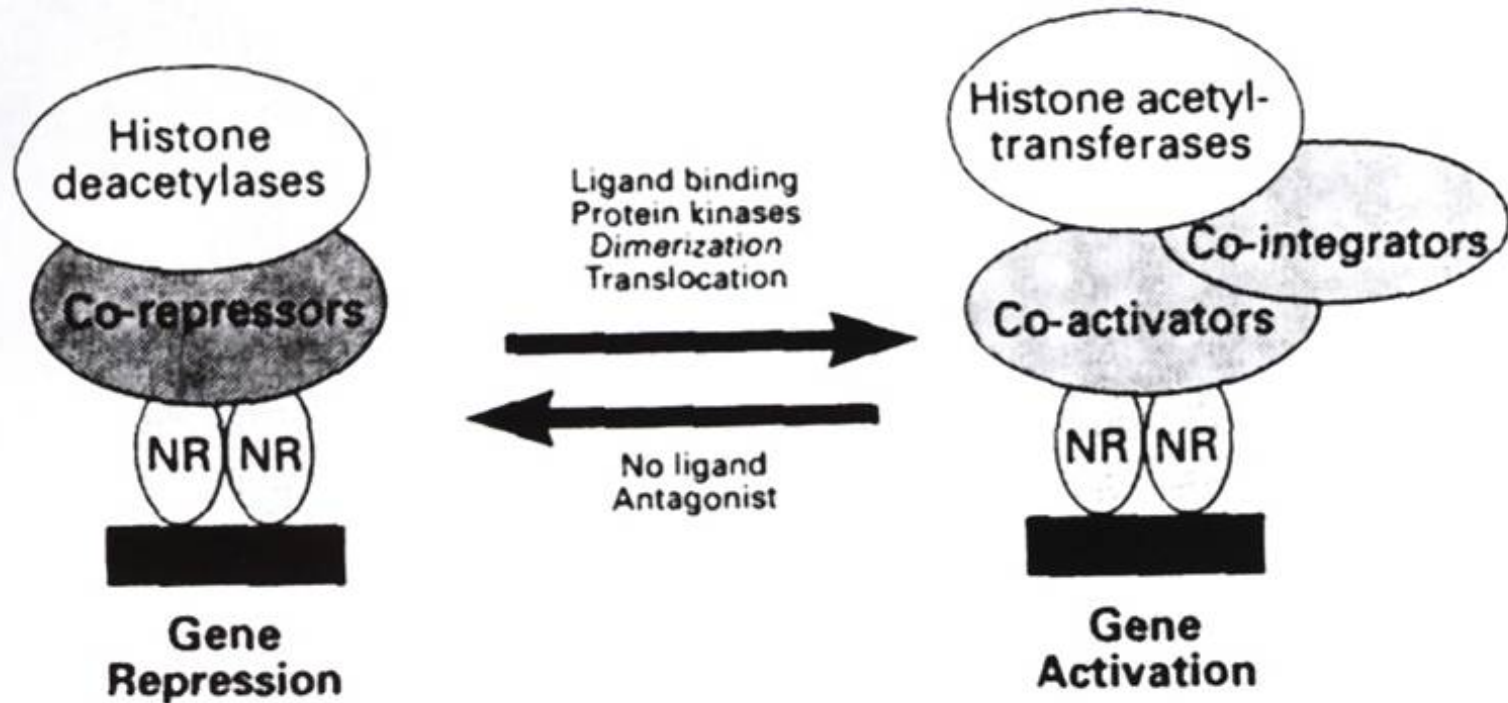
DRE =
dioxin
response
element





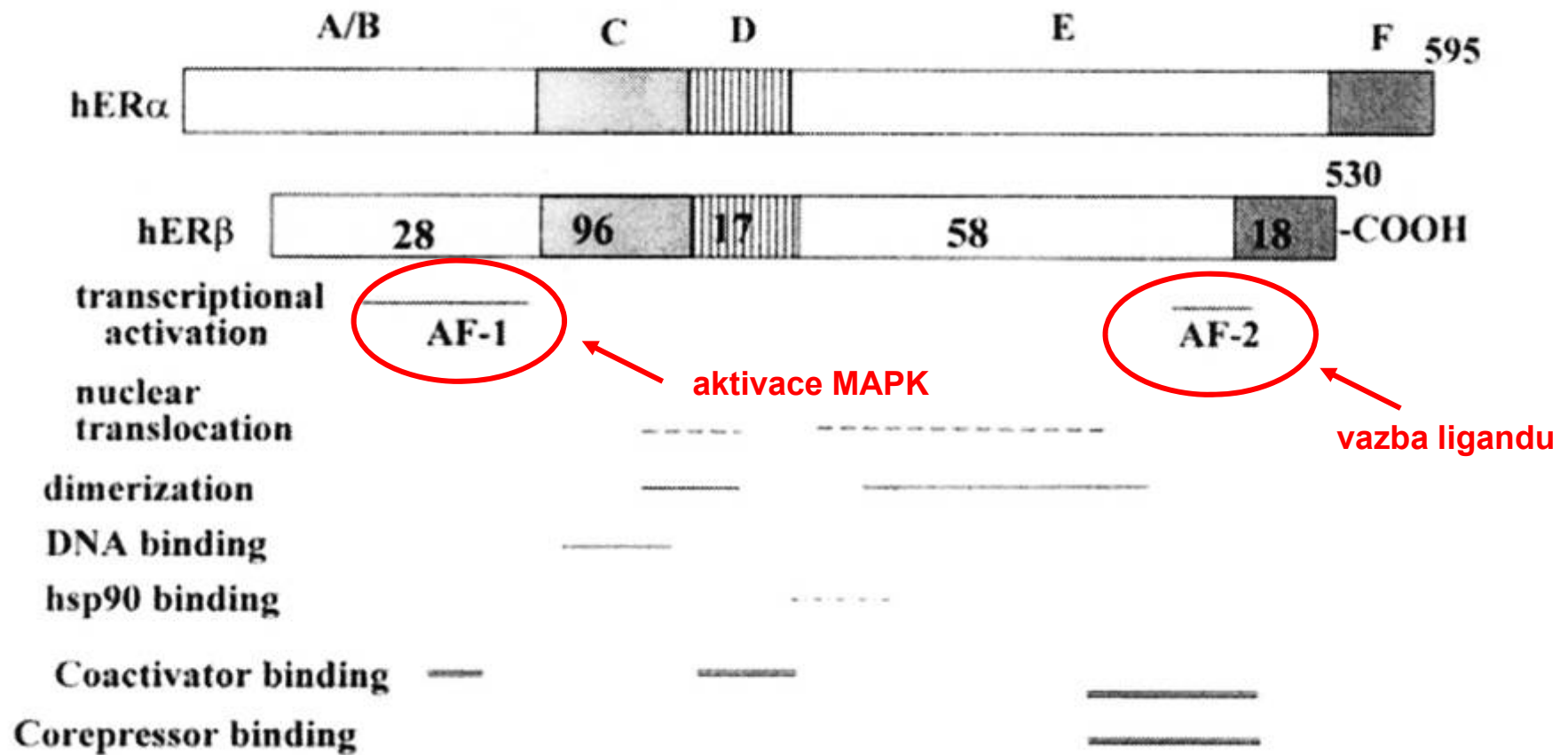
REGULACE EXPRESE BIOTRANSFORMAČNÍCH ENZYMŮ: NUKLEÁRNÍ RECEPTORY

NUKLEÁRNÍ RECEPTORY (NR)



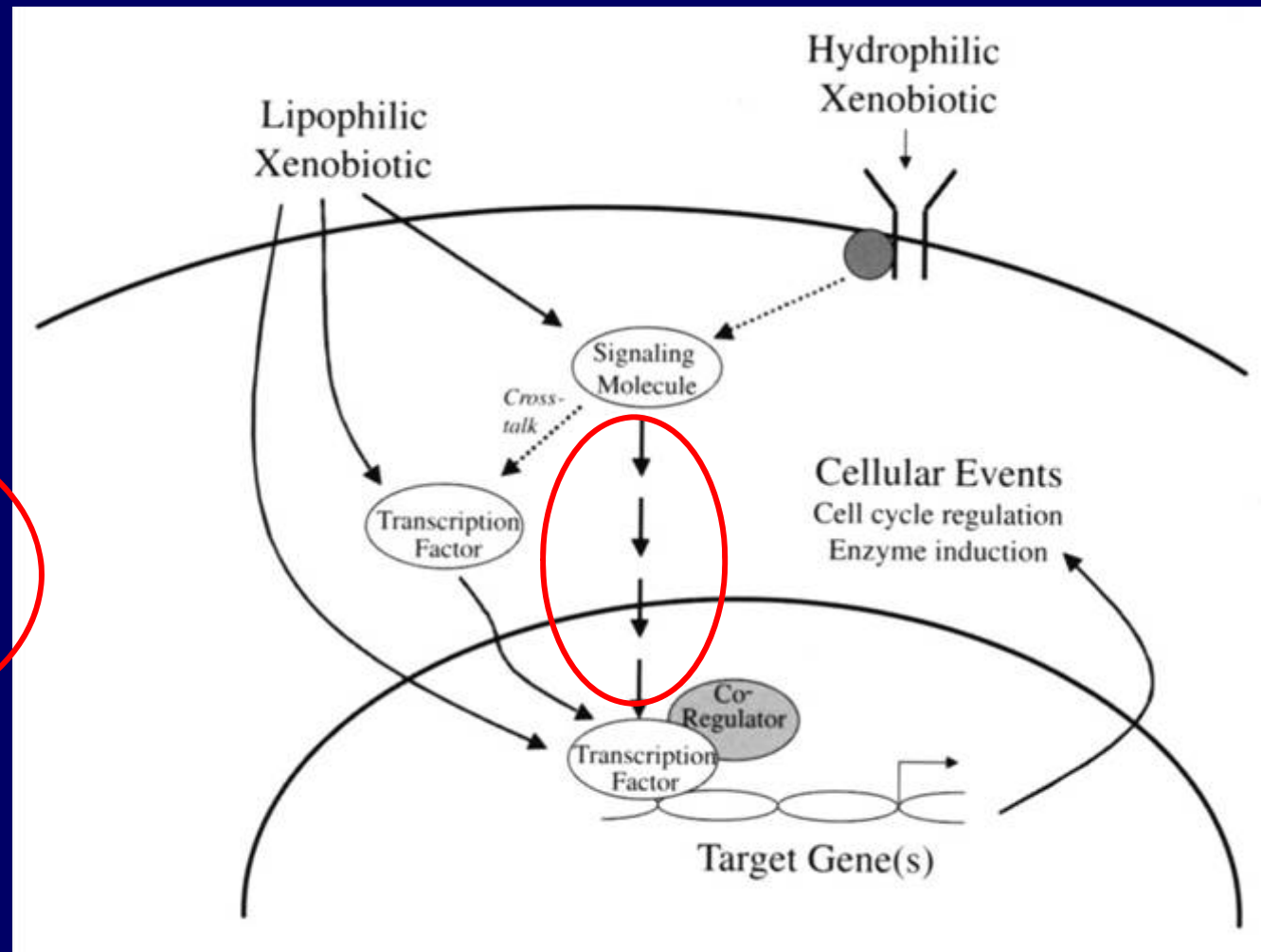
Model for gene activation and gene repression by NRs

NUKLEÁRNÍ RECEPTORY: struktura domén receptorů



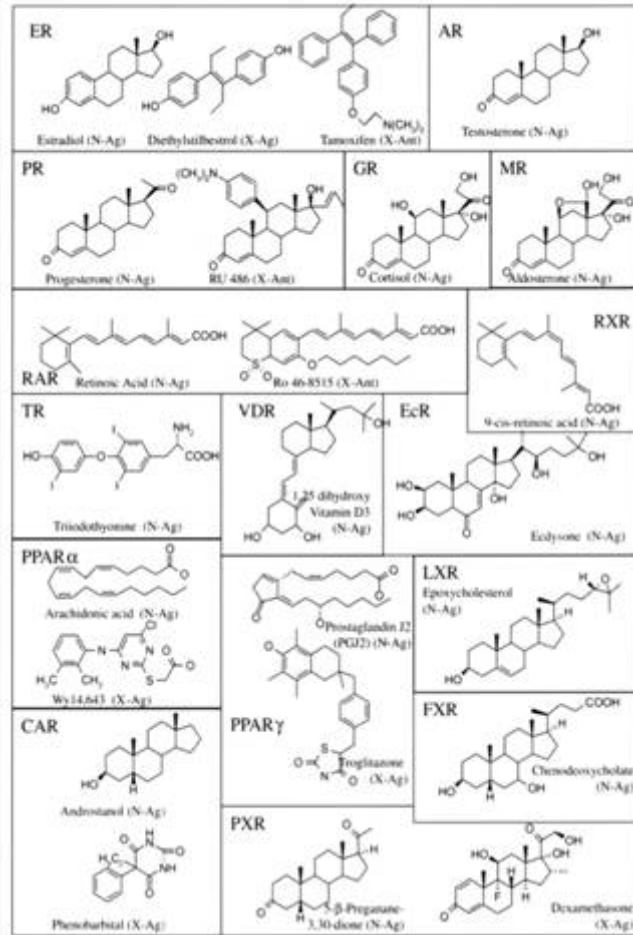
NUKLEÁRNÍ RECEPTORY

Ligand-independentní
modulace
transkripčního
faktoru (MAPK, PKA,...)



NUKLEÁRNÍ RECEPTORY

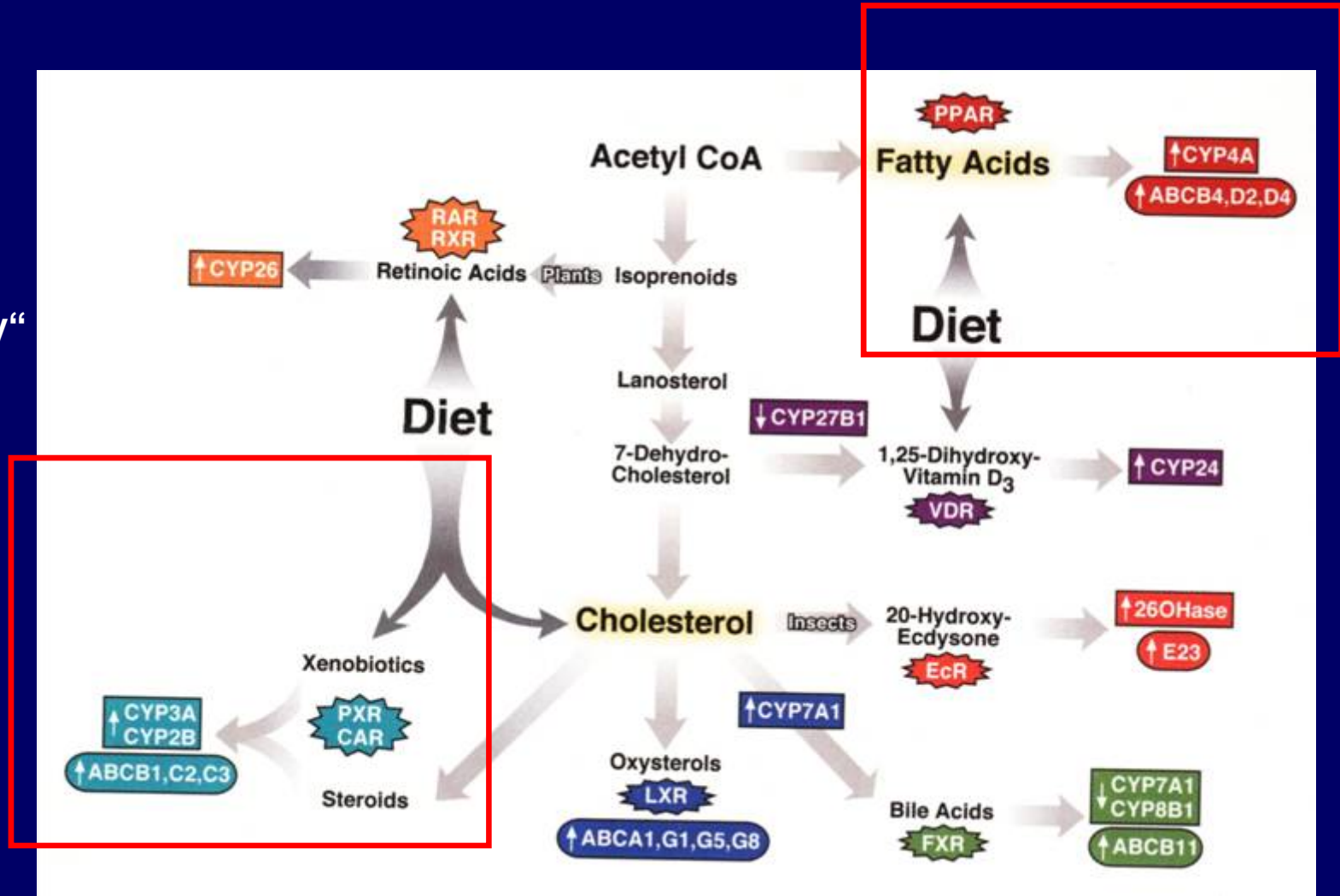
Nuclear Hormone Receptors



	Endocrine Receptors	Adopted Orphan Receptors	Orphan Receptors
Ligands:	High-affinity, hormonal lipids	Low-affinity, dietary lipids	Unknown
	<div style="background-color: #0056b3; color: white; padding: 5px;"> ER α, β PR AR GR MR </div> <div style="background-color: #800080; color: white; padding: 5px;"> RAR α, β, γ TR α, β VDR EcR </div>	<div style="background-color: #ff0000; color: white; padding: 5px;"> RXR α, β, γ PPAR α, β, γ LXR α, β FXR PXR/SXR CAR </div>	<div style="background-color: #000000; color: white; padding: 5px;"> 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 </div>

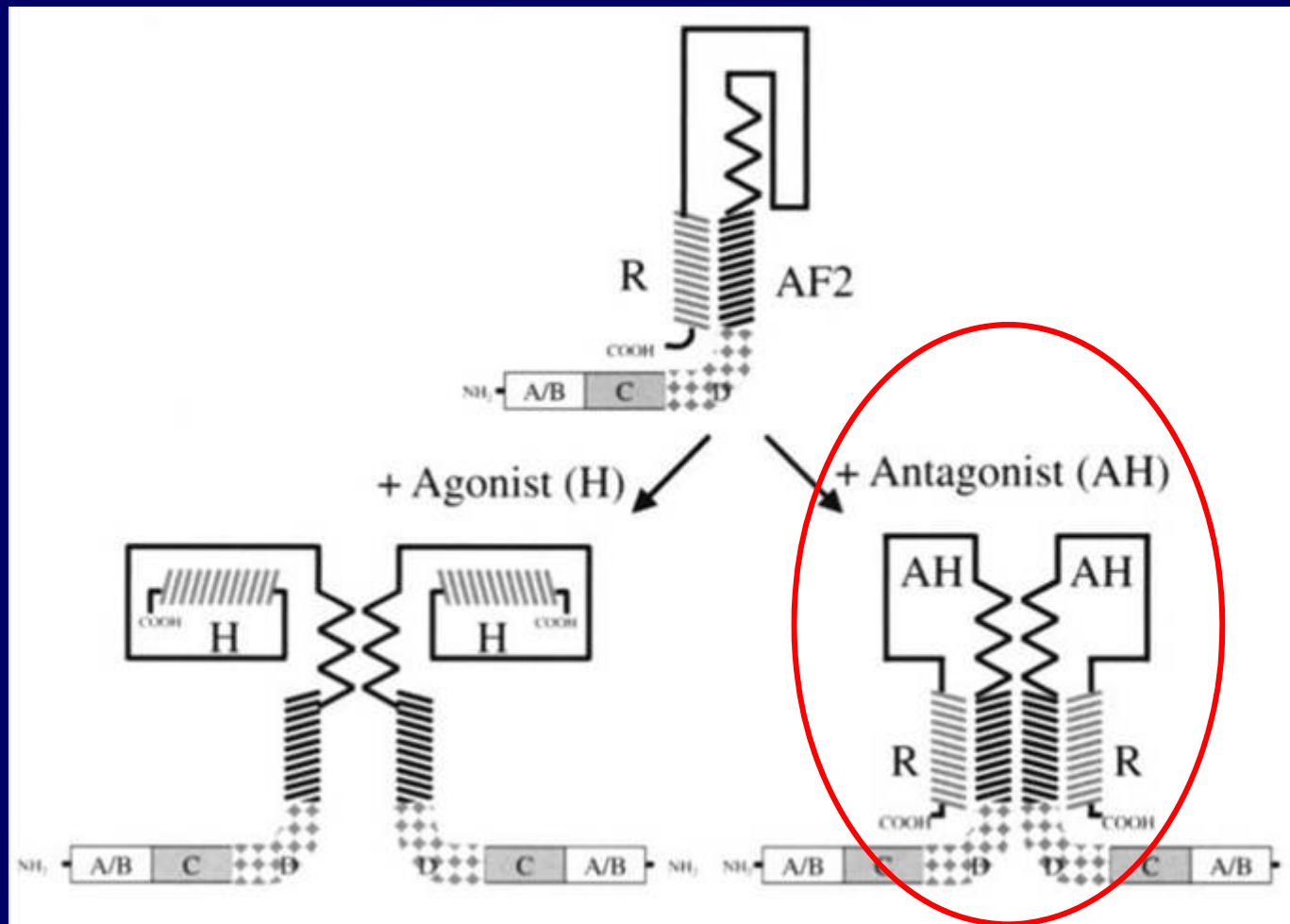
NUKLEÁRNÍ RECEPTORY

„lipidní sensory“ a „xenosensory“



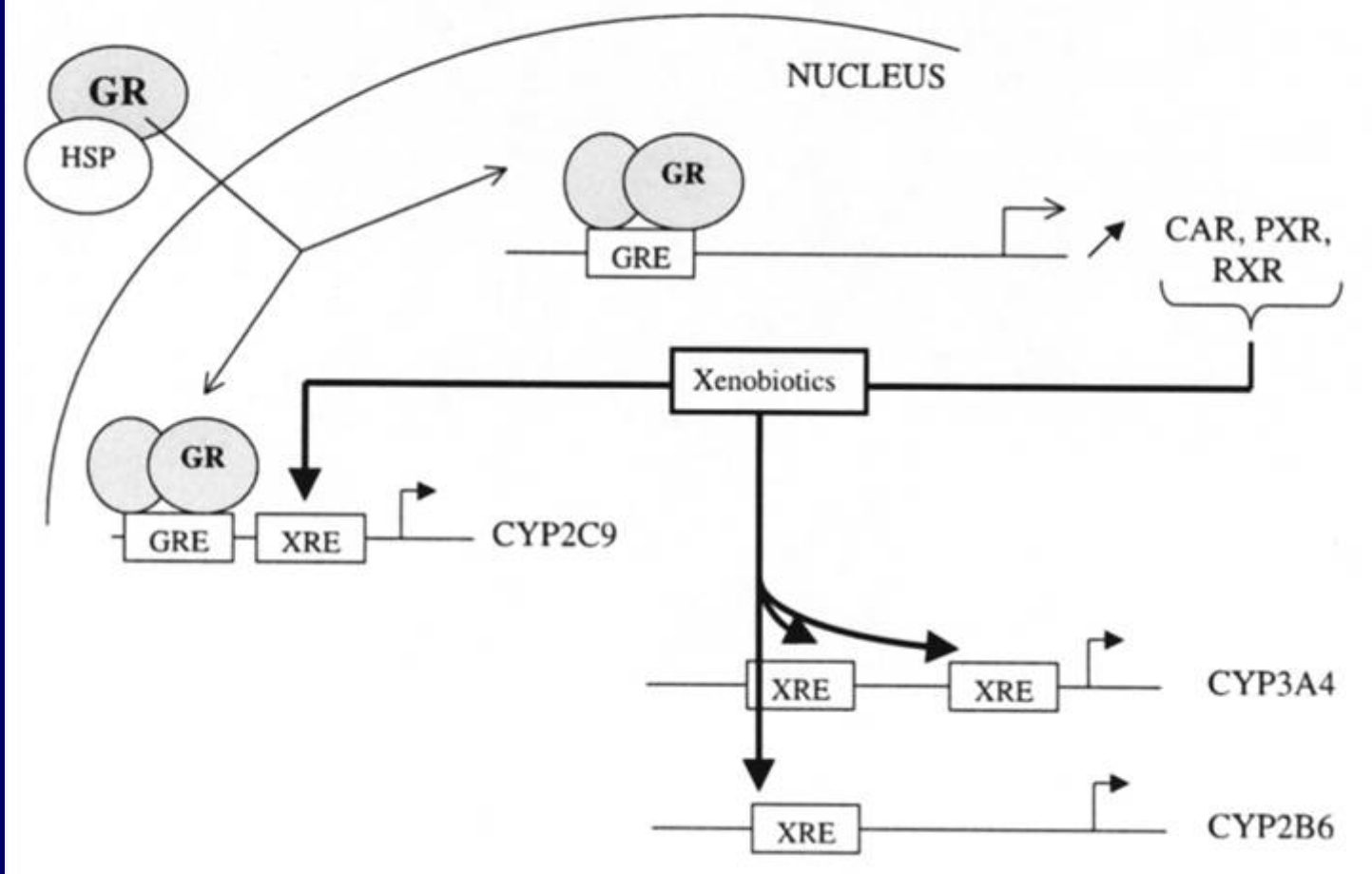
NUKLEÁRNÍ RECEPTORY: vazba antagonistického a agonistického ligandu

Antagonisté:
vazba bez
transaktivace



REGULACE GR / PXR / CAR

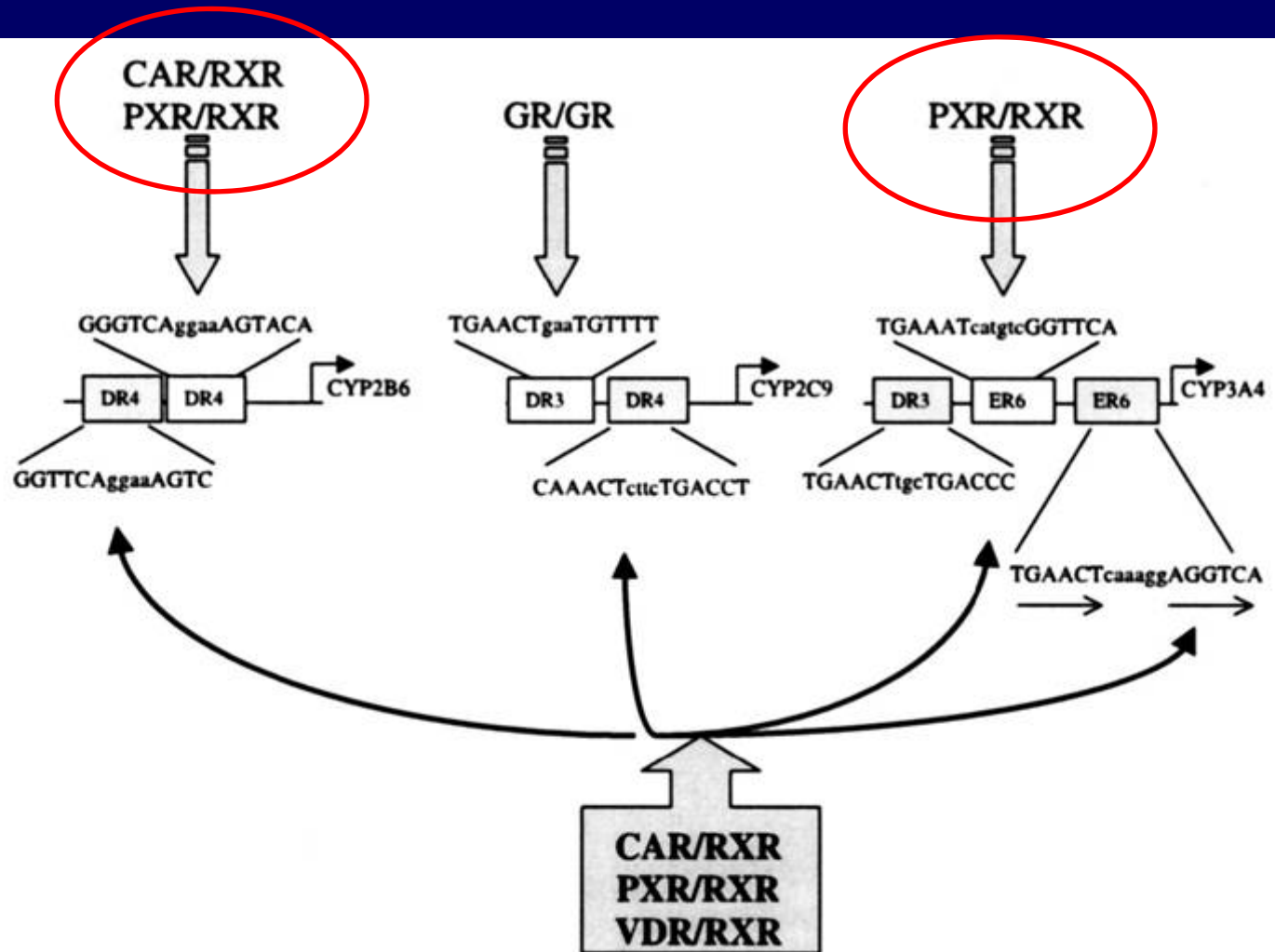
J.M. Pascussi et al. / Biochimica et Biophysica Acta 1619 (2003) 243–253



Více úrovní regulace;

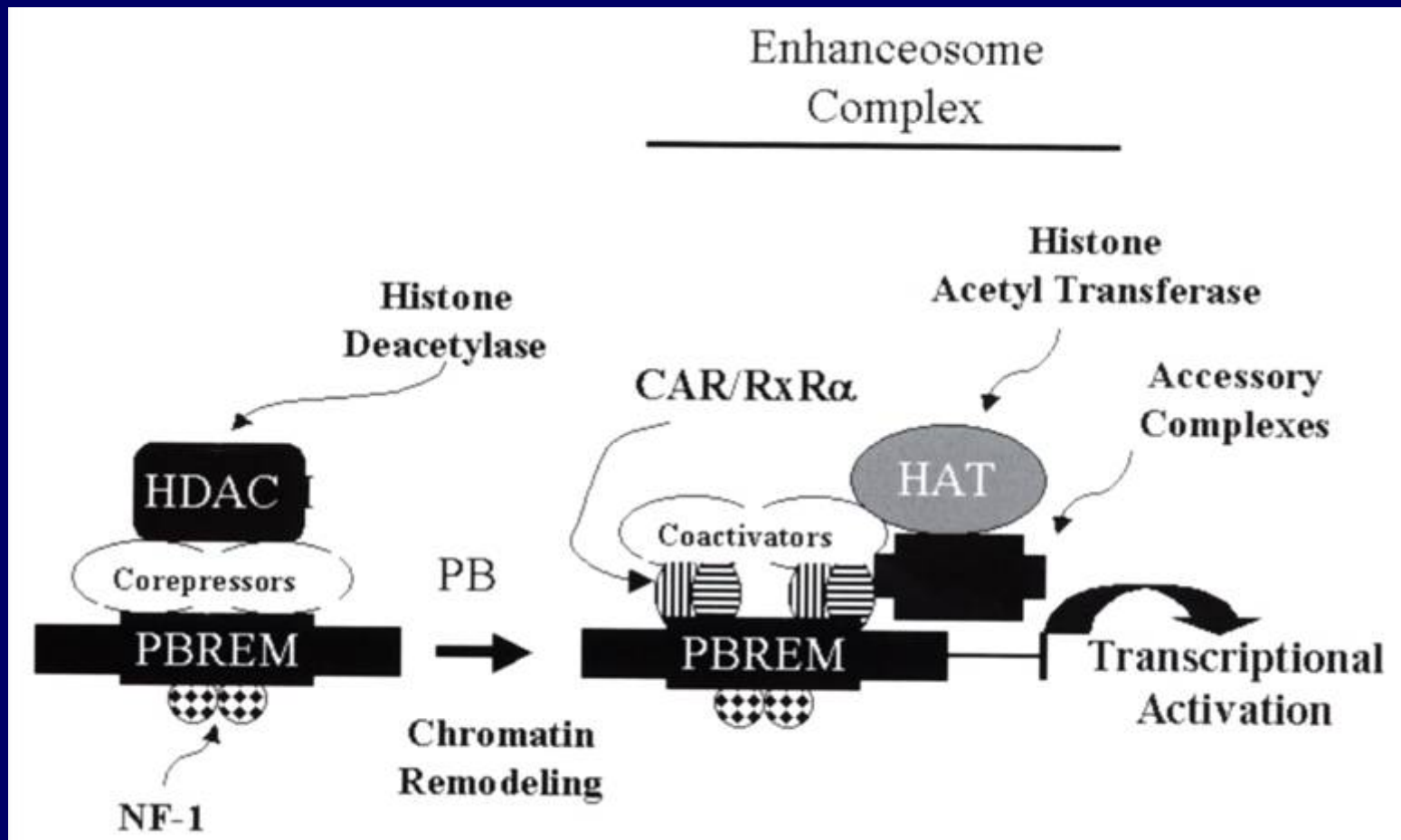
aktivace nízkou vs. vysokou koncentrací ligandu

REGULACE GR / PXR / CAR



REGULACE CAR FENOBARBITALEM

Další faktory
modulují
aktivaci
transkripce

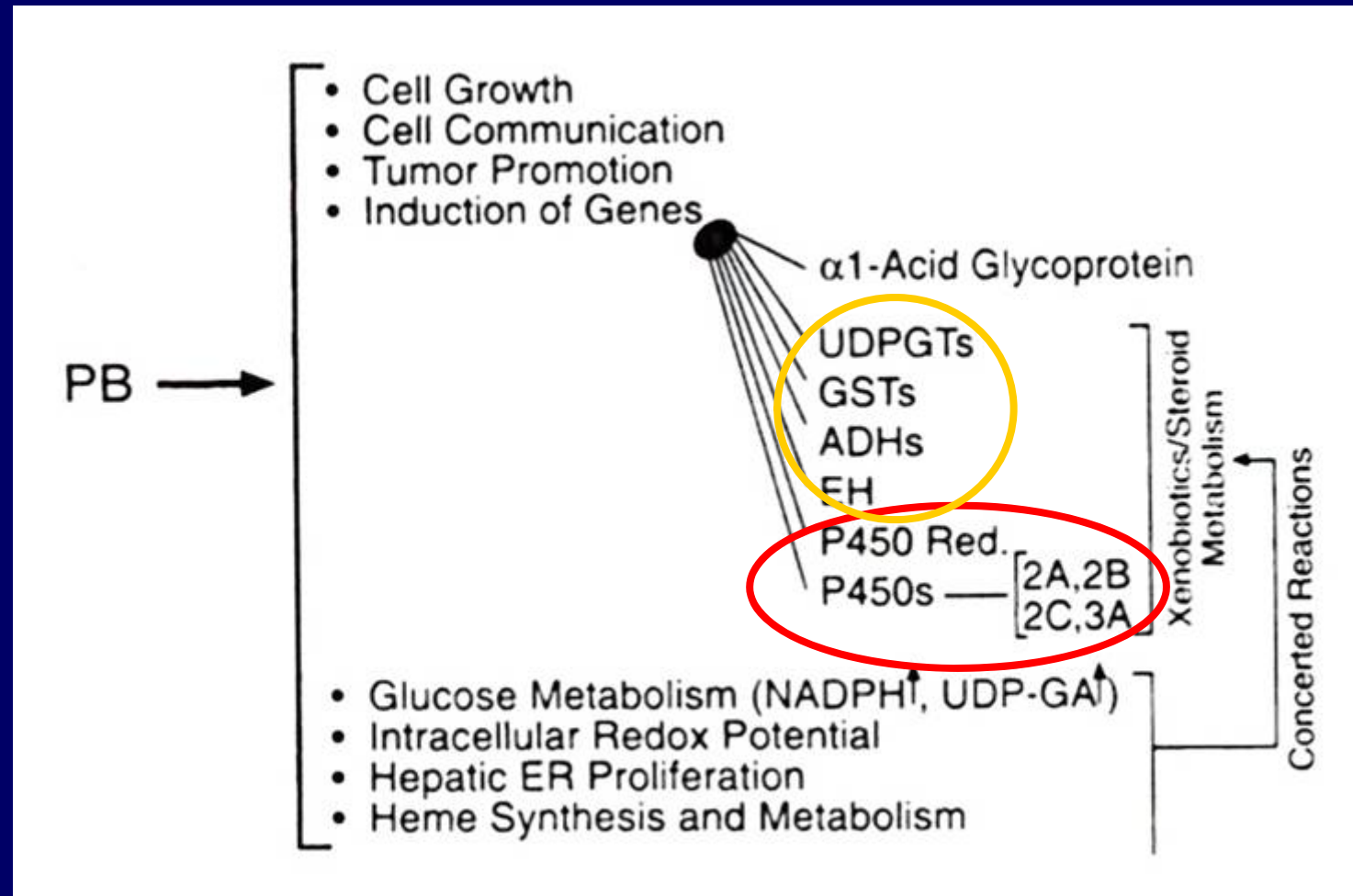


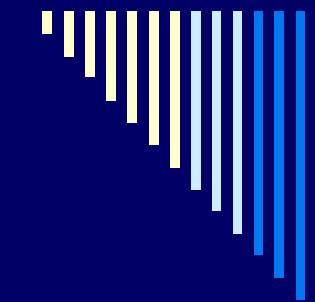
FENOBARBITAL (PB) – AGONISTA CAR A DALŠÍCH PROCESŮ

Biotransformace:

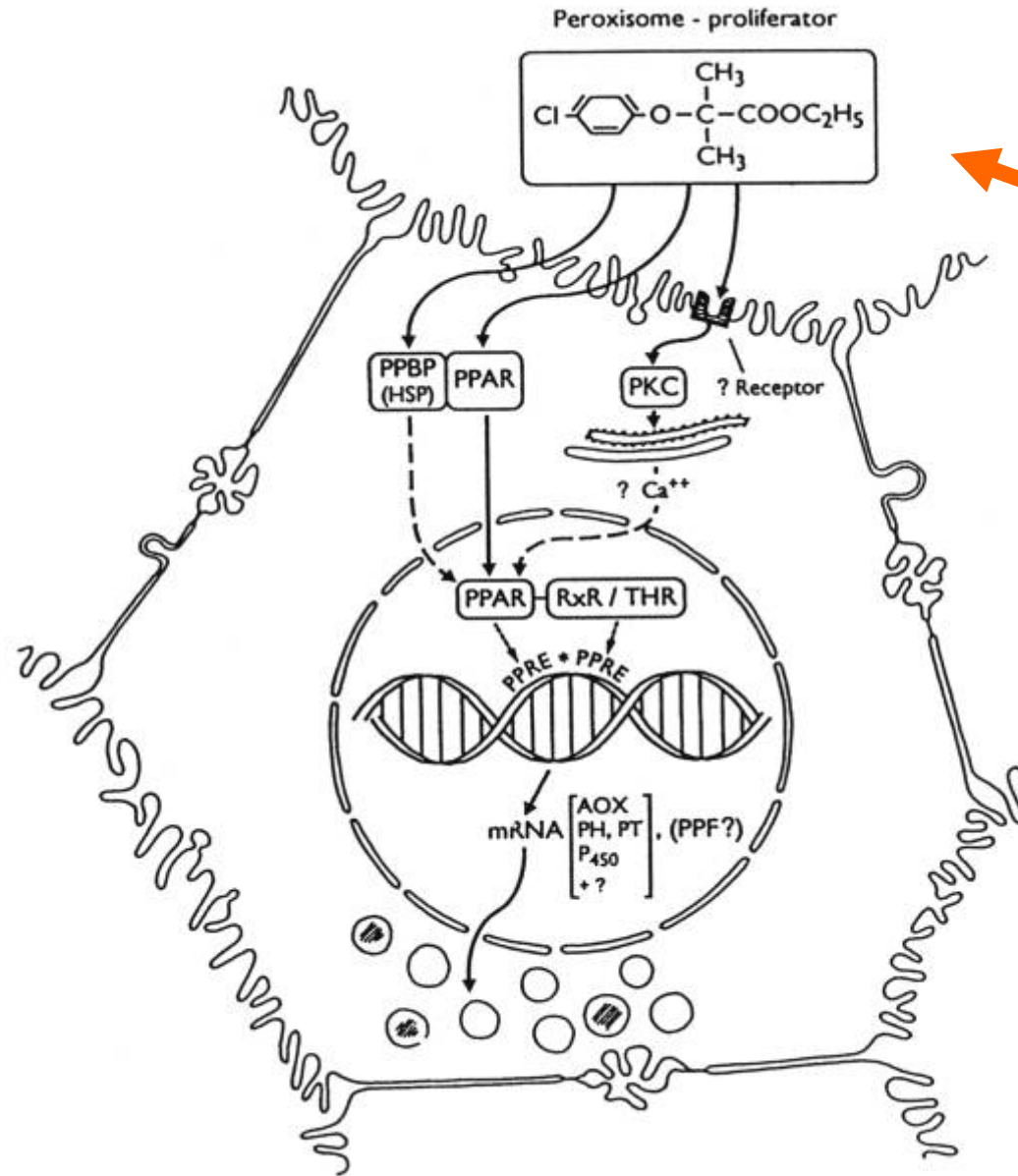
enzymy 1. fáze

enzymy 2. fáze





PPAR α
(Peroxisomal
Proliferator-
Activated
Receptor alpha)
kontroluje expresi
CYP4A1 a enzymů
metabolismu
lipidů

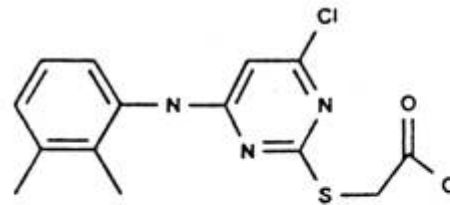


Induktory:
mastné
kyseliny,
hypo-
lipidemika
(fibráty),
environ.
látky
(ftaláty)

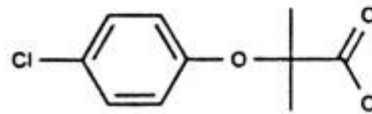
LIGANDY PPAR α

Farmaka
(hypolimidemika)

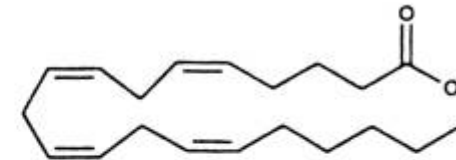
Environmentální
kontaminanty



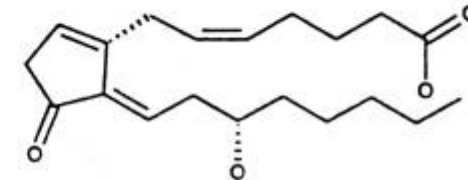
Wy 14,643



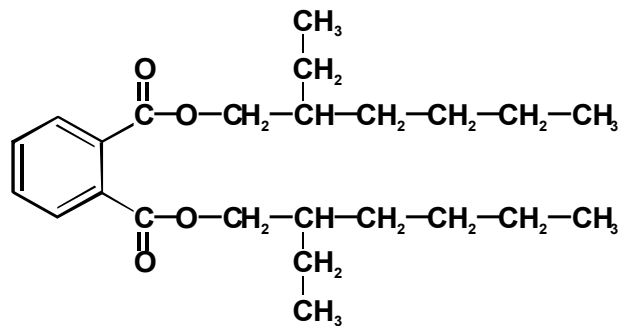
Clofibrate



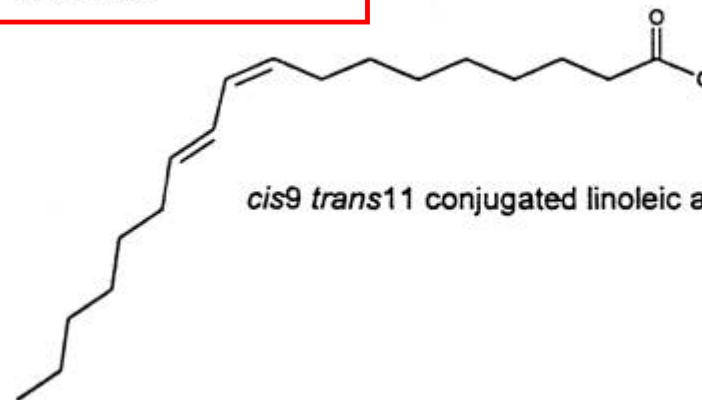
Arachidonic Acid



Prostaglandin J2



Di(2-ethylhexyl)ftalát (DEHP)

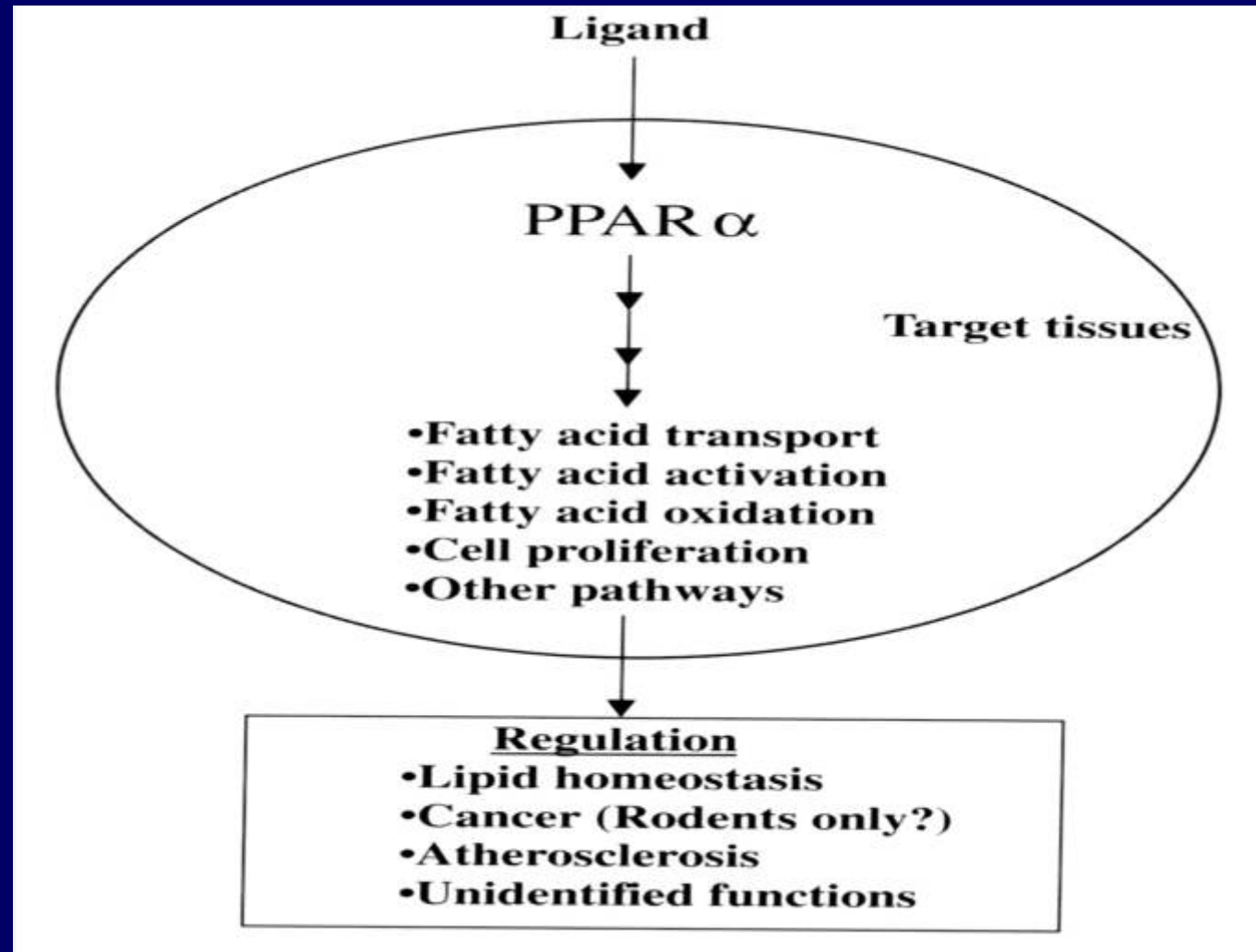


cis9 trans11 conjugated linoleic acid

(Endogenní) lipidy

DŮSLEDKY AKTIVACE PPAR α

Nerovnoměrná
indukce CYP4A
(vedl. produkt: H₂O₂)
a dalších enzymů
(např. CAT)
dependentních
na PPARalfa





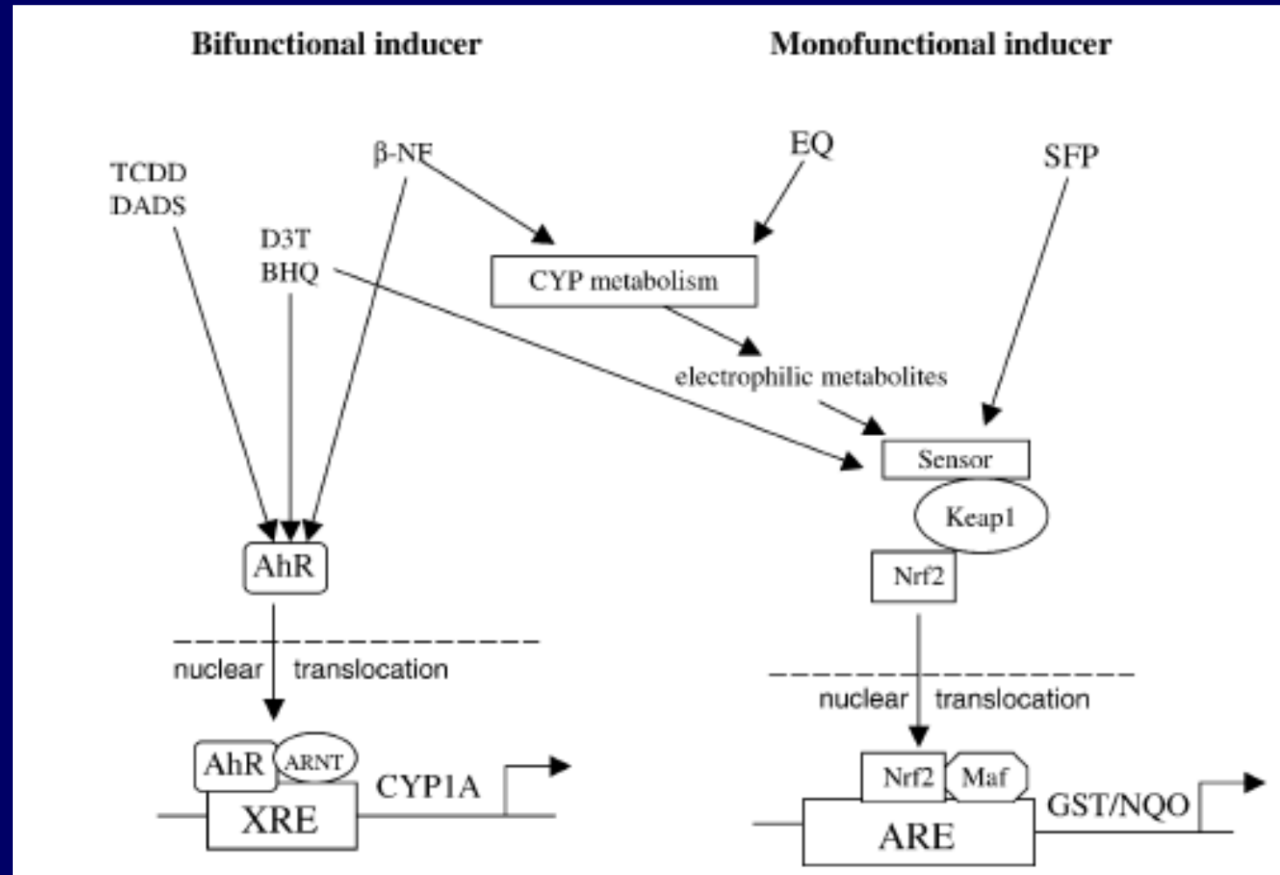
REGULACE DALŠÍCH ENZYMŮ 1.FÁZE BIOTRASFORMACE

KLASICKÝ POHLED NA INDUKCI GENOVÉ EXPRESE KONTROLOVANOU XRE A ARE

ARE = antioxidant response element

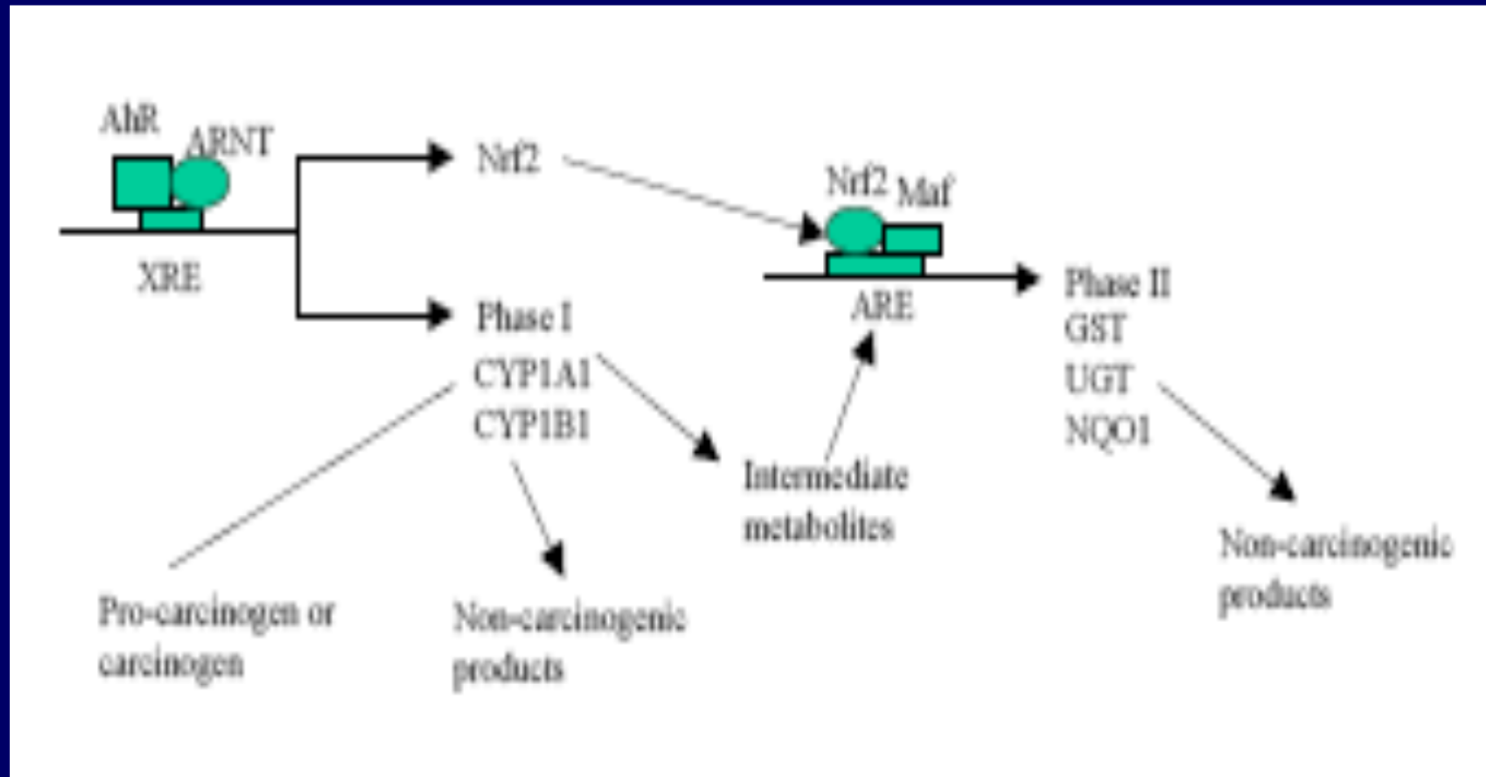
Bifunkční induktory = xenobiotika induk. AhR a Nrf2

GST = enzym 2. fáze biotransformace



Miao et al., Biochem. Pharmacol., 2004

TRANSKRIPČNÍ FAKTOR Nrf2 JE REGULOVÁN OXIDATIVNÍM STRESEM / ELEKTROFILNÍMI METABOLITY A TAKÉ AKTIVACÍ AhR



Miao et al., JBC, 2005



ALDOKETOREDUKTÁZY

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

Příklady lidských AKR:

AKR1A1 (aldehydoreduktáza)

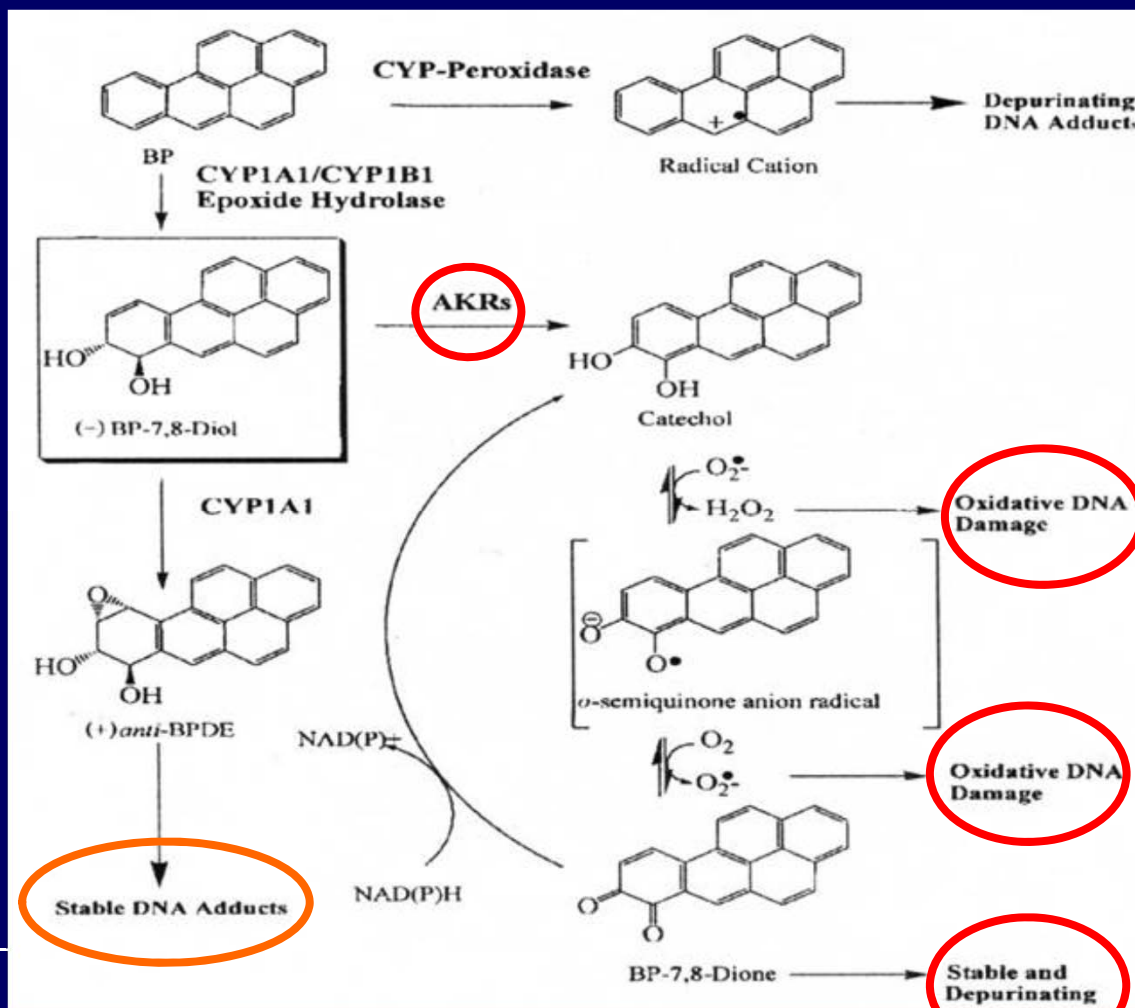
AKR1B1 (aldosareduktáza)

AKR1C1-1C4 (20 α -, 3 α -, 3 α /17 α -, 3 α -HSD)

AKR1D1 (5 β -reduktáza)

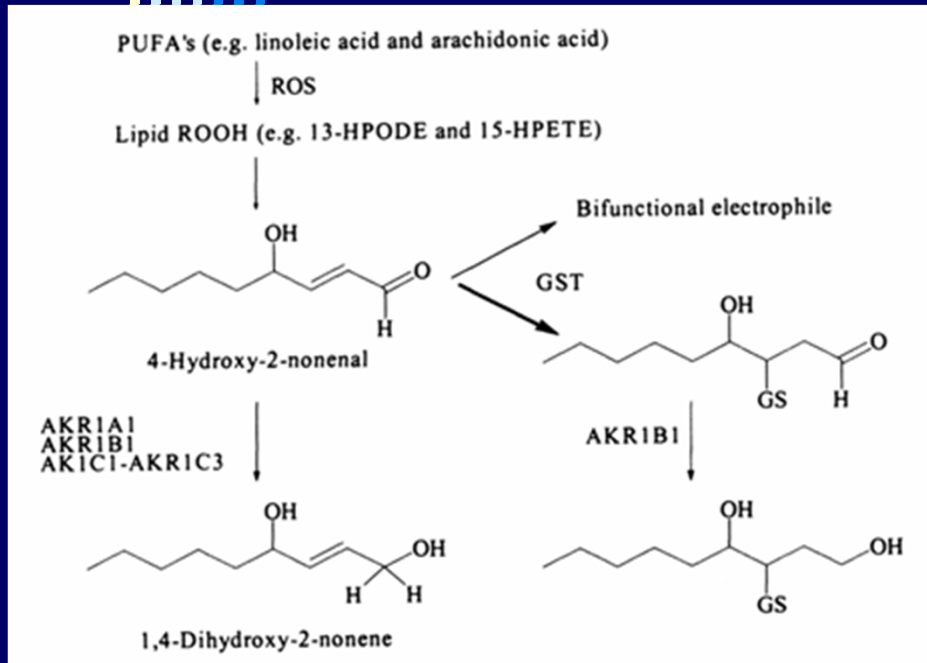
1. fáze biotransformace PAH: účast CYP1A1/1A2/1B1 (monooxygenace), EH (hydroláza) a AKR (reduktáza)

Detoxikace
versus
bioaktivace

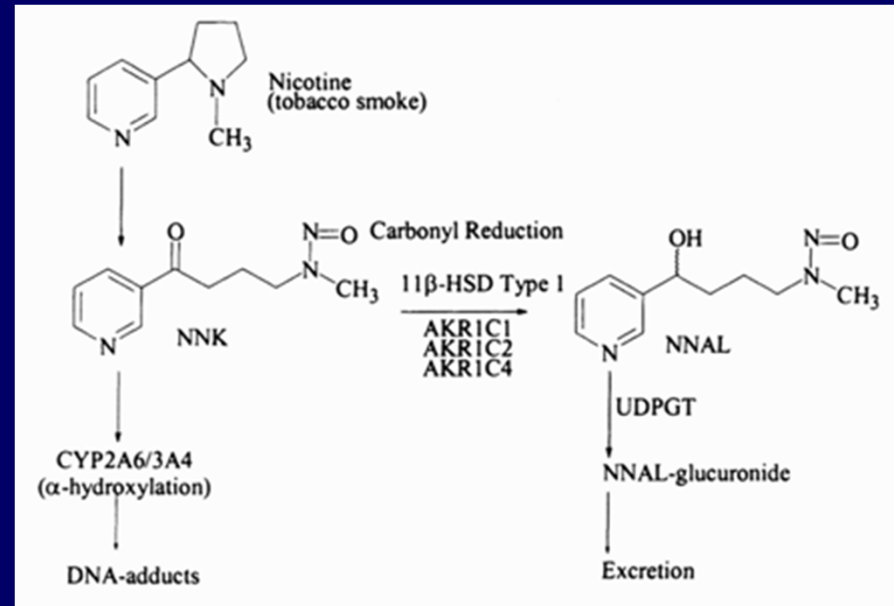


katecholy =
- metabolity PAHs,
- podobně metabolity steroidů (E2)

ALDOKETOREDUKTÁZY

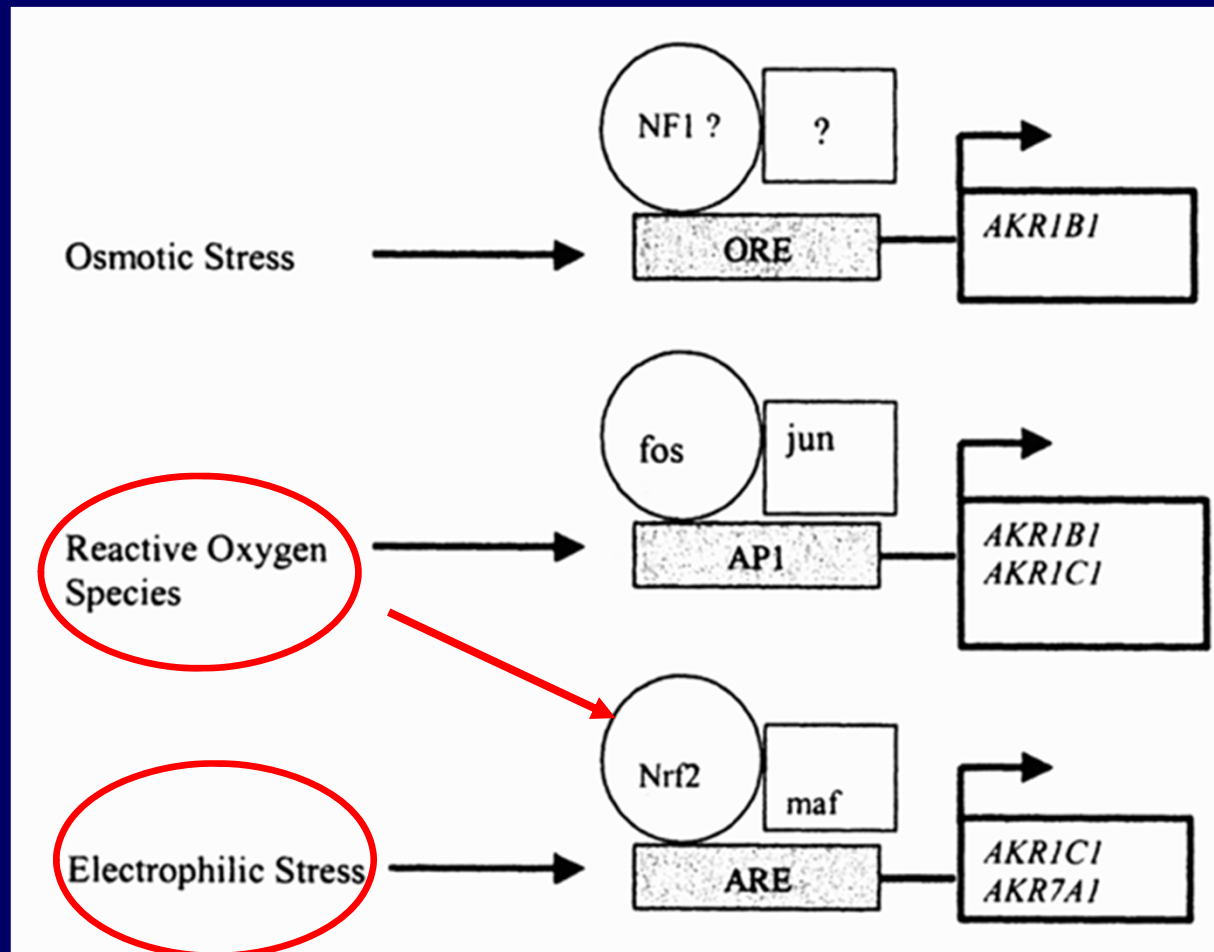


Biotransformace aldehydů lipidní peroxidace



Detoxikace NNK

REGULACE ALDOKETOREDUKTÁZ





EPOXIDHYDROLÁZY

Funkce:

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

celkem 7 forem EH:

- savčí solubilní (cytosolová) EH
- mikrosomální EH
- leukotrien A4 hydroláza
- etc.

Regulace?

ROLE CYP1A1/CYP1A2/CYP1B1 A EPOXIDHYDROLÁZ V METABOLICKÉ AKTIVACI POLYCYKlickÝCH AROMATICKÝCH UHLOVODÍKŮ

