



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.); antioxidační enzymy (SOD, CAT, GPx, GR).
- 3. fáze biotransformace (ABC transportéry)

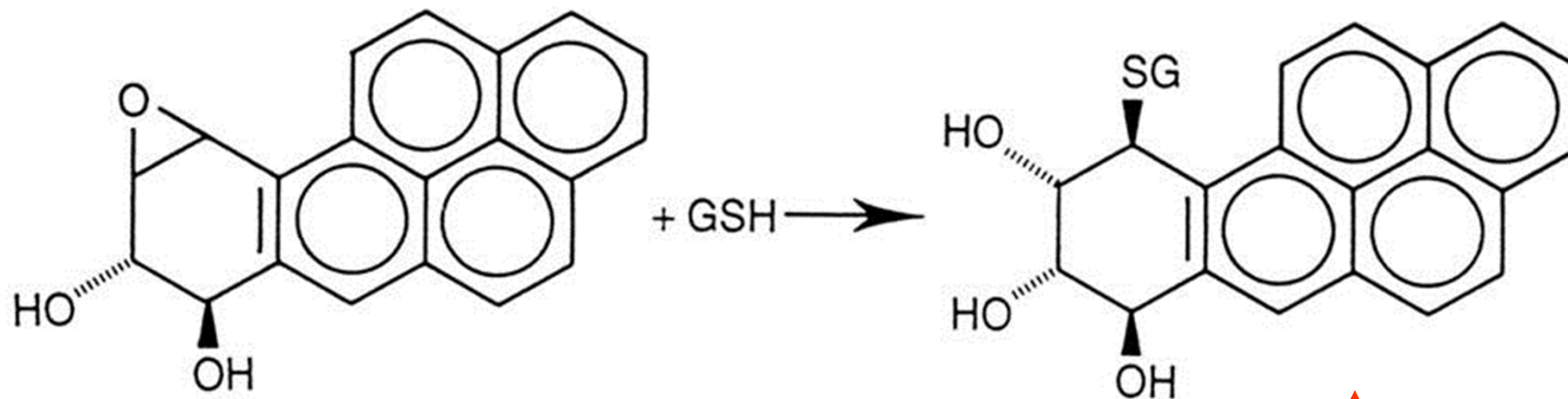


ENZYMY 2. FÁZE BIOTRANSFORMACE:

- **Glutathion-S-transferázy (GST)**
- **Uridindifosfoglukuronyltransferázy (UDPGT)**
- **Sulfotransferázy (SULF)**
- **N-, O-acetyltransferázy (NAT, OAT)**
- **Methyltransferázy**
- **Enzymy syntézy kyseliny merkapturové**

- **Antioxidační enzymy** - NQO, GST, GSPx, GR, CAT, SOD

GLUTATHION-S-TRANSFERÁZY - TYPICKÉ SCHÉMA KONJUGAČNÍ REAKCE



Glutathione-S-transferase

Reaktivní intermediát BaPDE
(příklad elektrofilního substrátu)

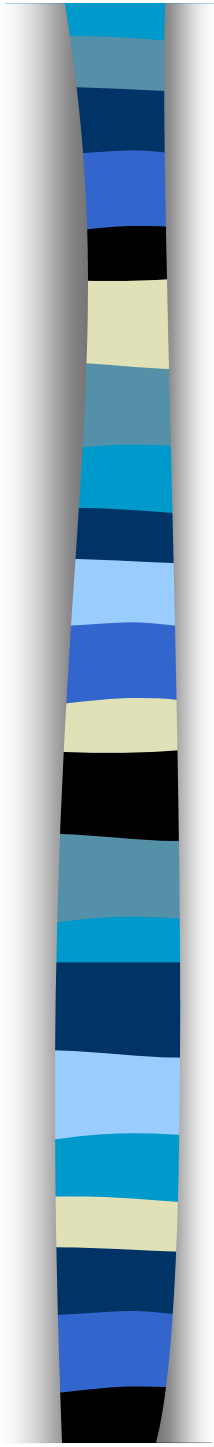
Konjugát

KLASICKÁ KLASIFIKACE GST ENZYMŮ

Funkční GST enzymy jsou dimery

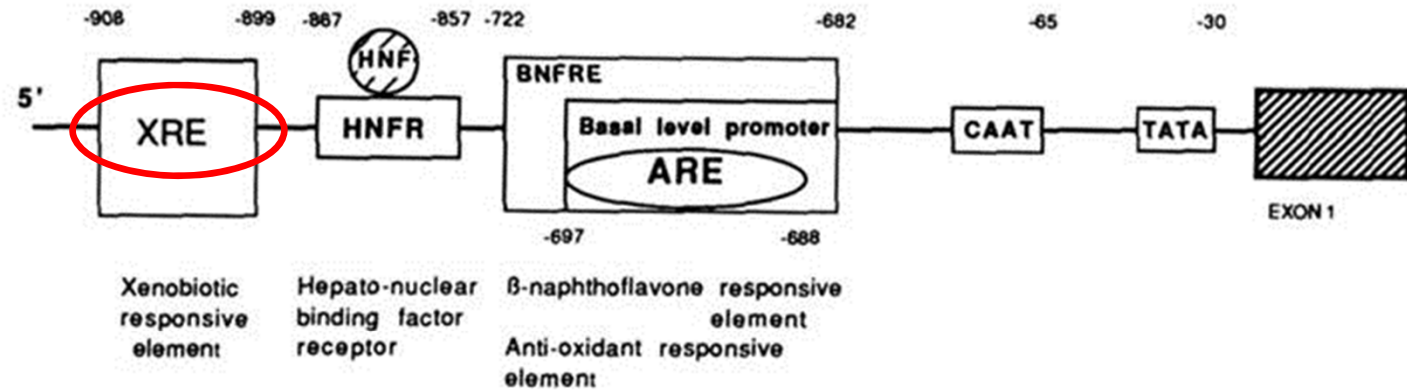
Isoenzyme	Class	Apparent subunit M_r (kdalton) ^a	Subunit M_r ^b
1-1	Alpha	25	25 434
1-2	Alpha	25 + 28	—
2-2	Alpha	28	25 209
3-3	Mu	26.5	25 806
3-4	Mu	26.5	—
3-6	Mu	26.5 + 26	—
4-4	Mu	26.5	25 592
4-6	Mu	26.5 + 26	—
5-5	— ^c	26.5	—
6-6 ^d	Mu	26	—
7-7	Pi	24	23 307
8-8	Alpha	24.5	—
Microsomal	—	17	17 237

membránově vázaná GST

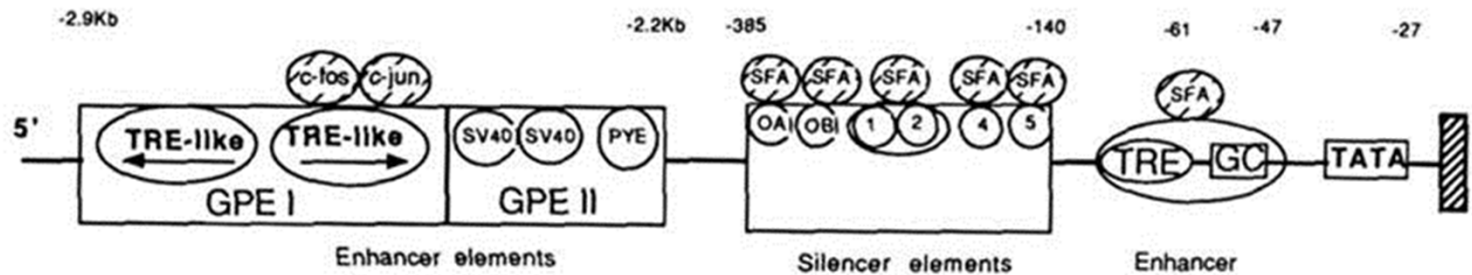


REGULACE GENOVÉ EXPRESE ISOENZYMŮ GST

GST-1 gene regulatory elements

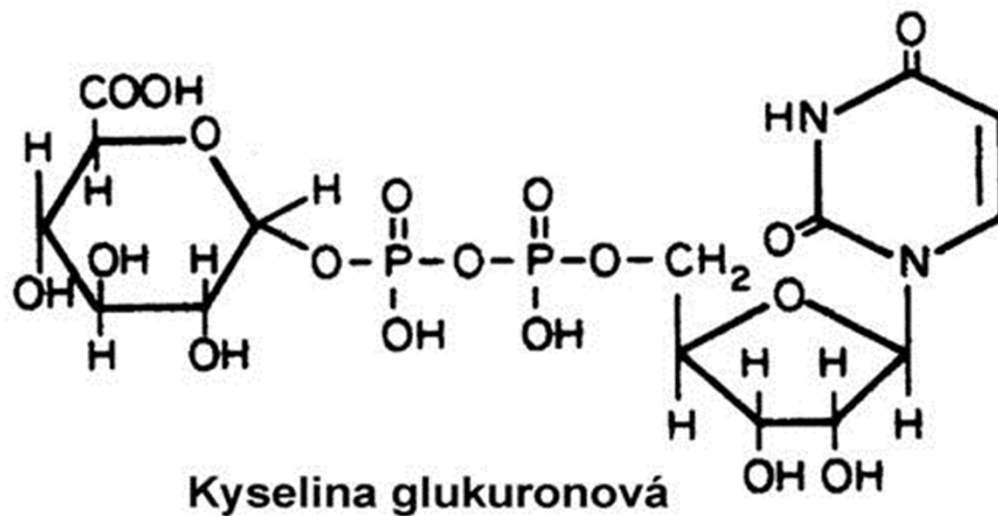


GST-7 gene regulatory elements

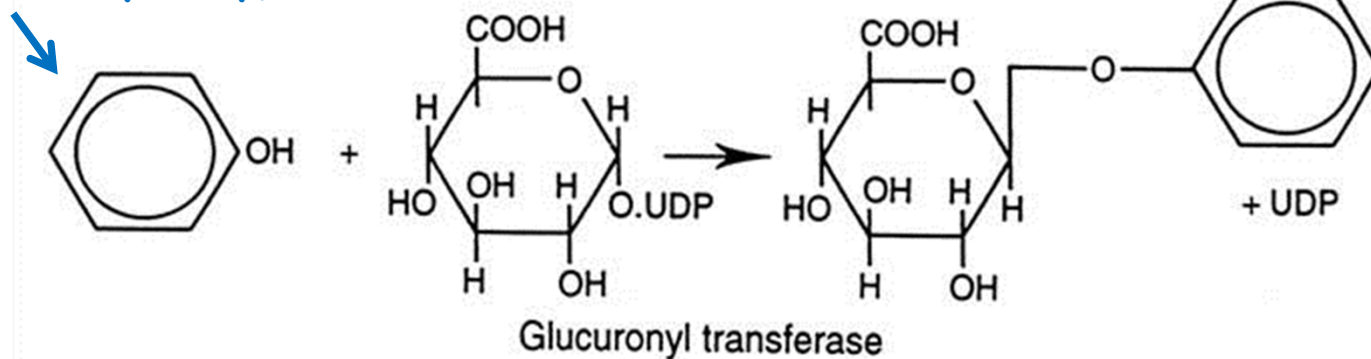


UDP-GLUKURONYLTRANSFERÁZY

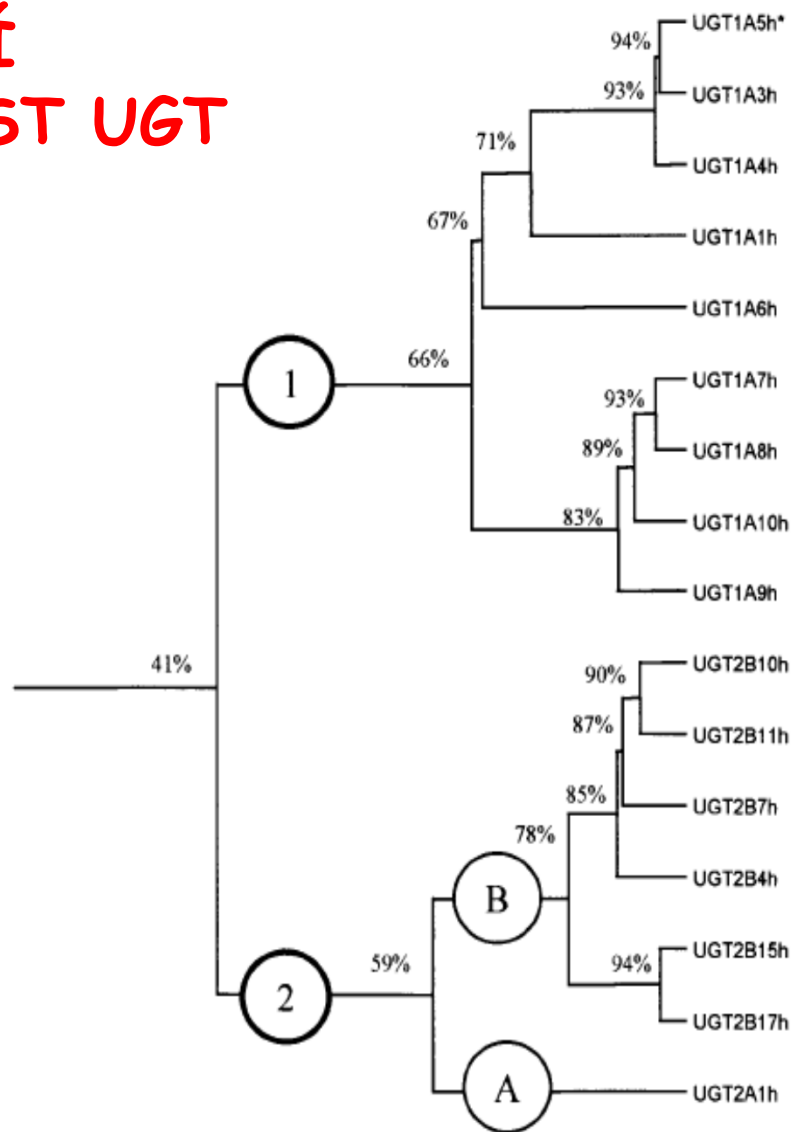
Konj. agens elektrofil
(kys. UDP-glukuronová)



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

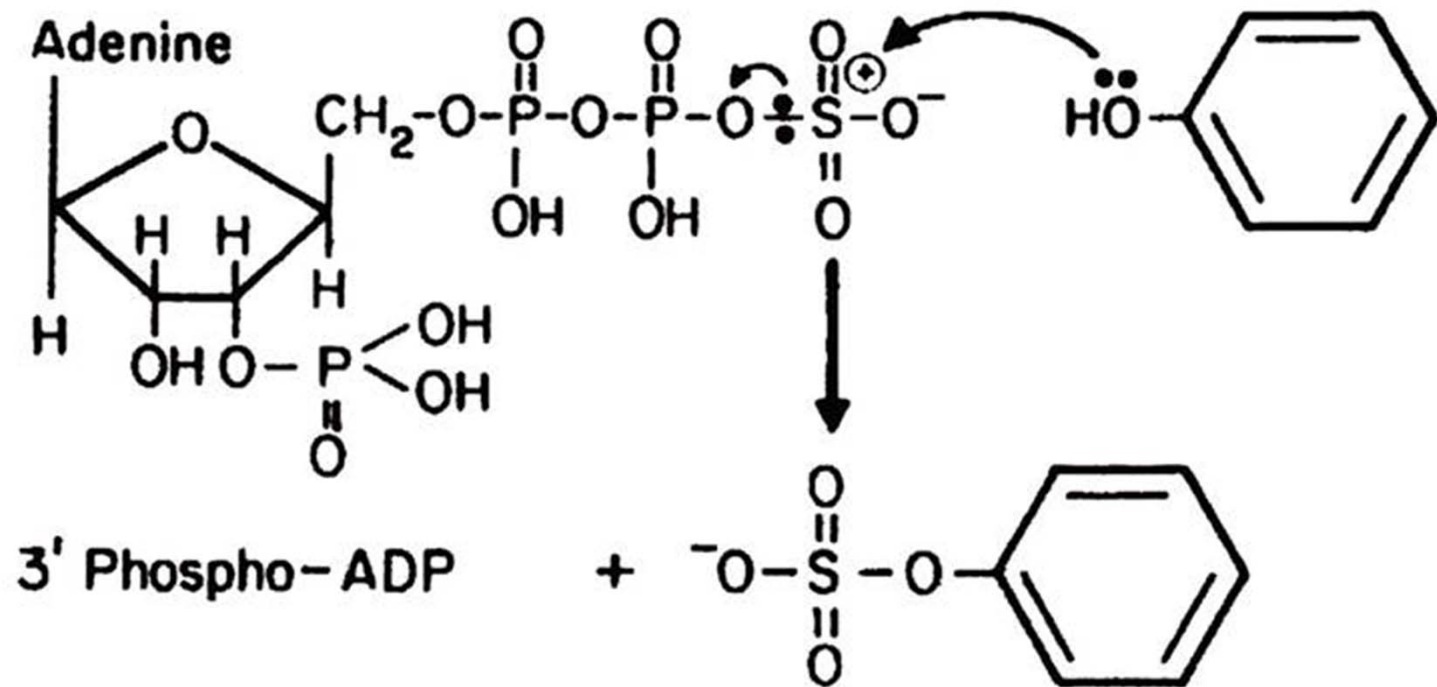


SEKVENČNÍ PŘÍBUZNOST UGT



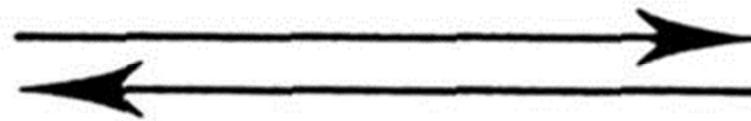
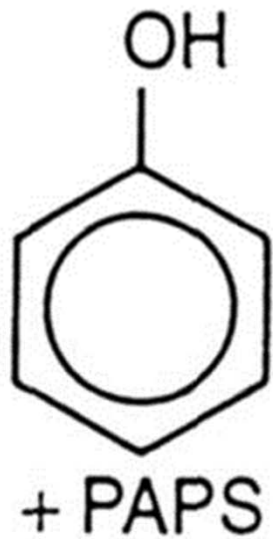
SULFOTRANSFERÁZY

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

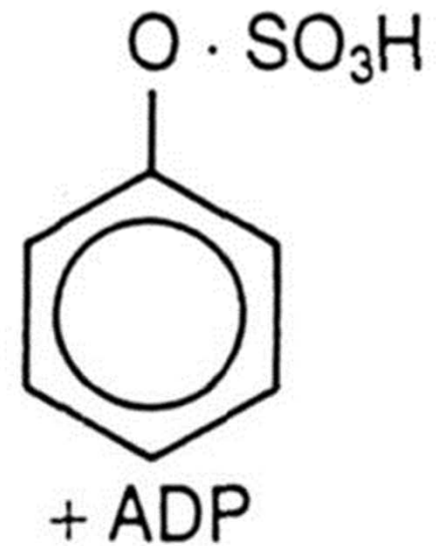


SULFOTRANSFERÁZY

sumární rovnice



Sulphotransferase



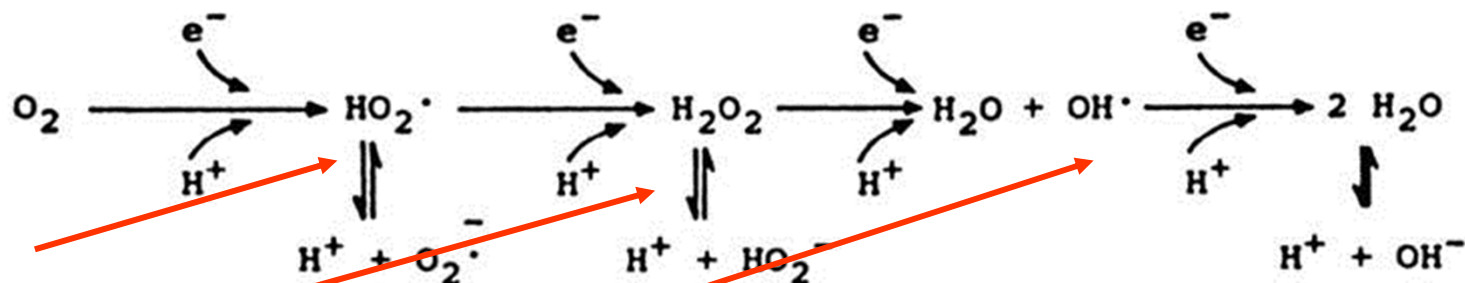


ANTIOXIDAČNÍ OBRANNÉ SYSTÉMY

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

REAKTIVNÍ FORMY KYSLÍKU (ROS)

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

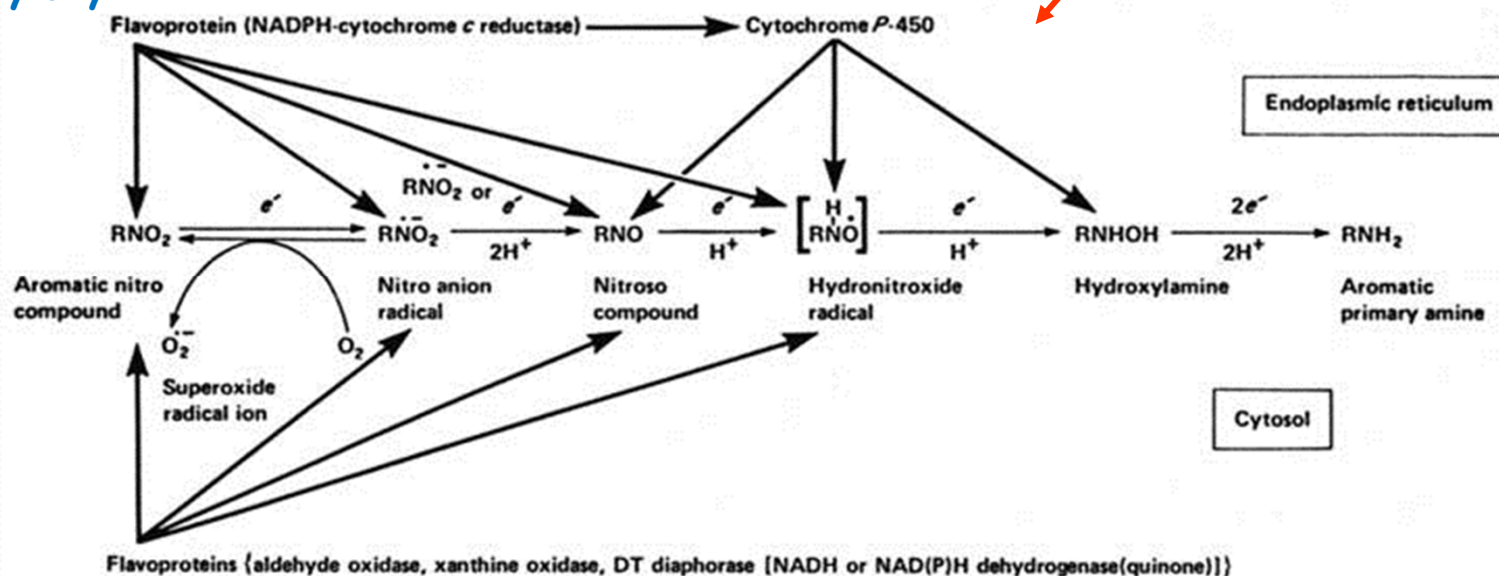


Superoxid

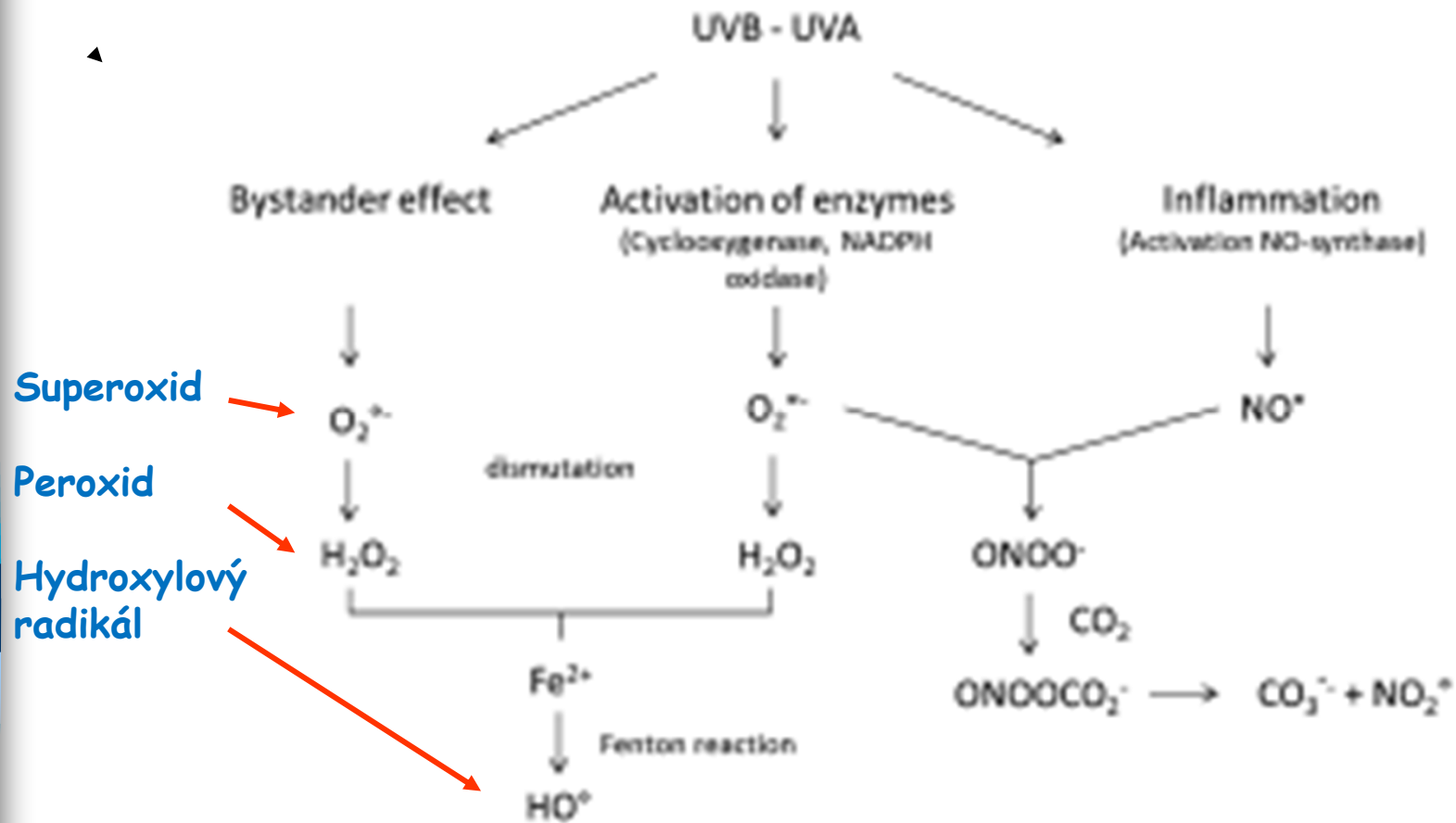
Peroxid

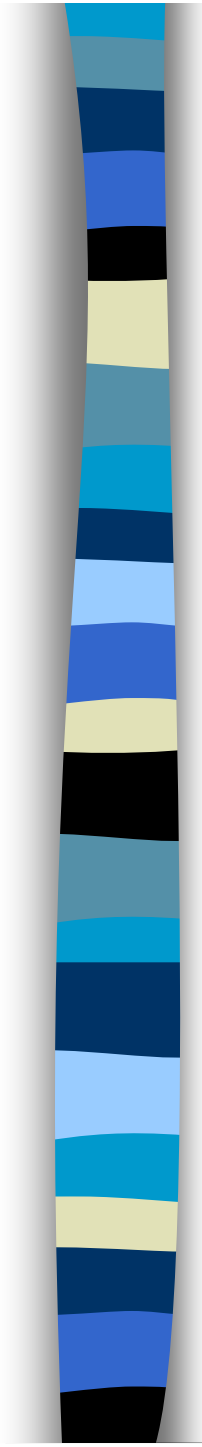
Hydroxylový radikál

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

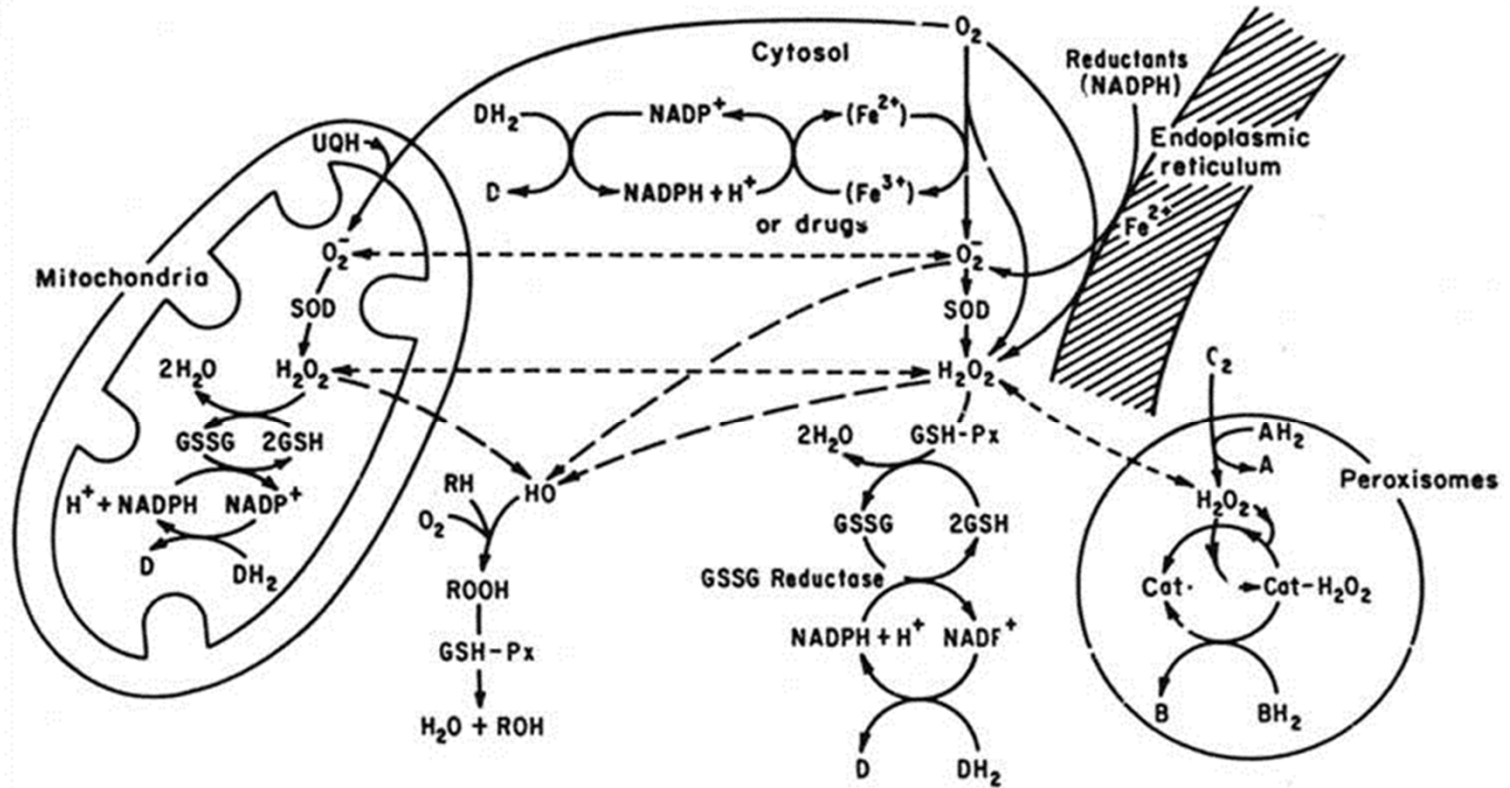
ANTIOXIDAČNÍ OBRANNÉ SYSTÉMY (NÍZKOMOLEKULÁRNÍ LÁTKY):

lipidní
sloučeniny

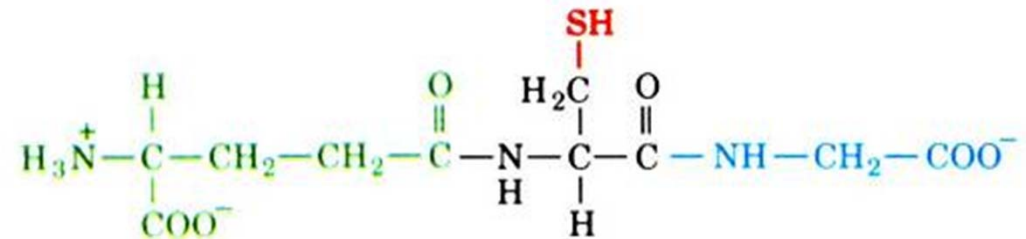
- **vitamín E** konvertuje $O_2^{\cdot-}$, $\cdot OH$ a lipidové peroxyradikály na méně reaktivní formy; zastavuje řetězové reakce lipidní peroxidace; lipidové membrány, extracelulární tekutiny
- **bilirubin** reaguje s $ROO\cdot$, produkt hemoproteinu, výskyt v krvi i tkáních
- **β -karoten** zháší $O_2^{\cdot-}$, 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 transitní 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
rozpuštěné
ve vodě

ANTIOXIDAČNÍ ENZYMY VS. ROS



GLUTATHION JAKO ANTIOXIDANT



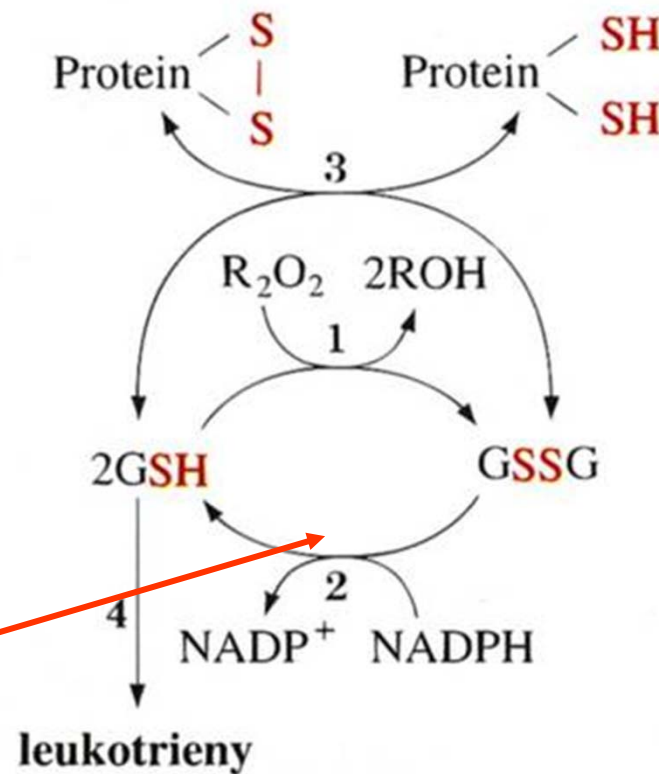
Funkce GSH:

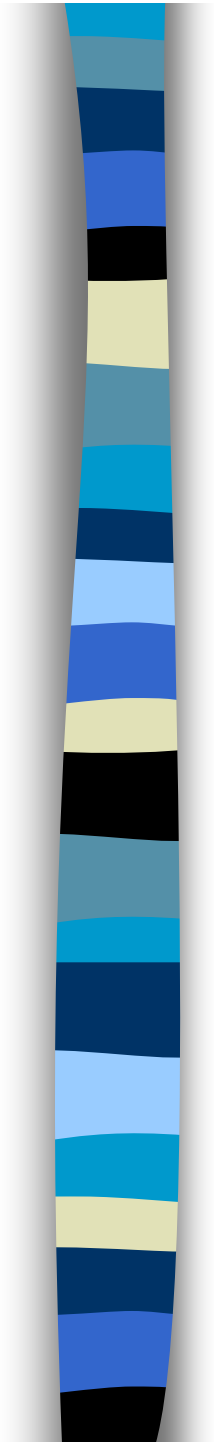
- redukce disulfidických můstků
- přímá reakce s ROS a kyslík. metabolity (lipid. peroxidy...)
- kofaktor glutathionperoxidáz (Se-dependentních GPx, GST)

Další funkce:

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

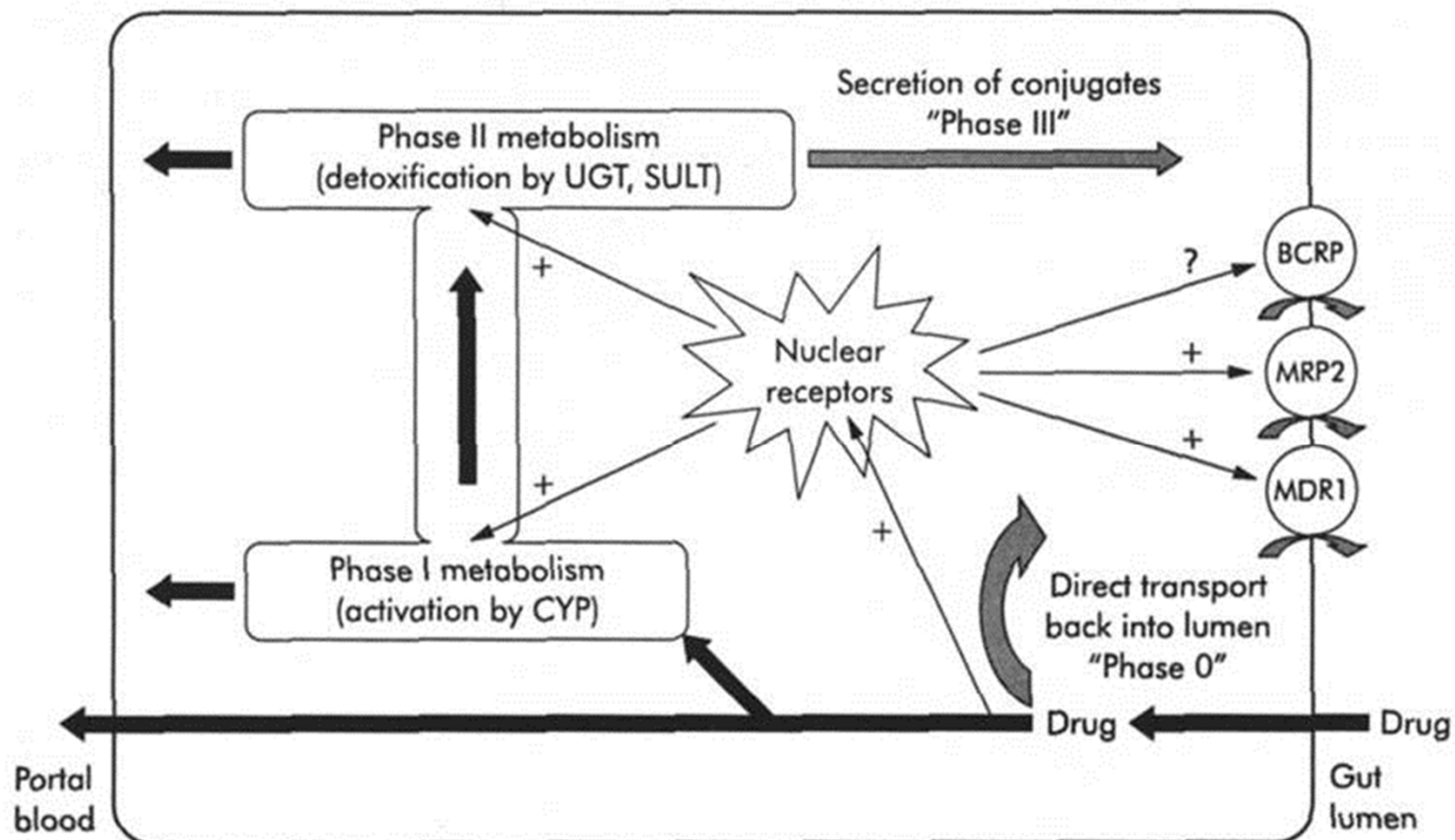
Redukce GSSG na GSH pomocí GR





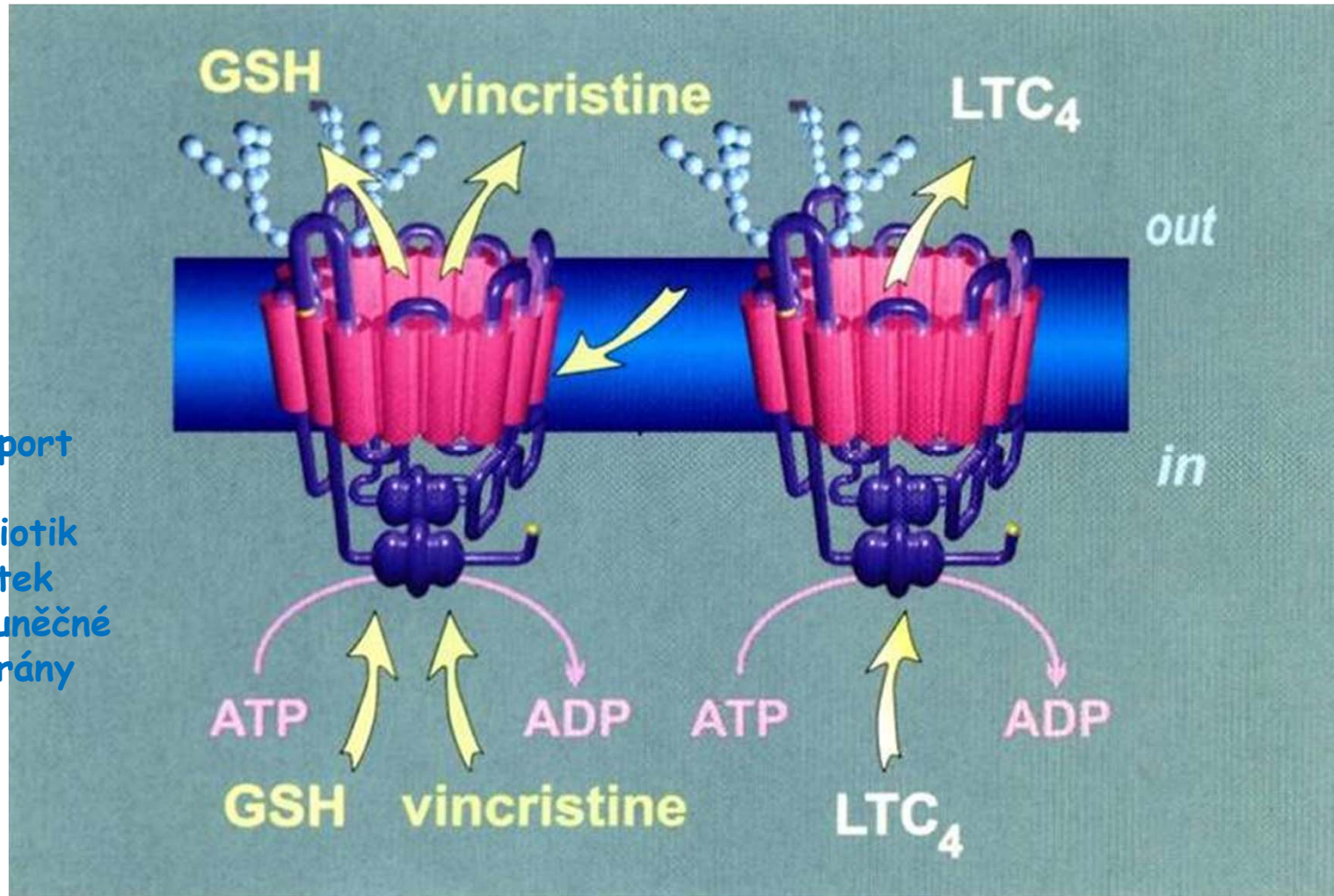
3. FÁZE BIOTRANSFORMACE

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

3. FÁZE BIOTRANSFORMACE: KOMPLEXNÍ REGULACE GENOVÉ EXPRESE

