

# Xenobiochemie

**Xenobiochemie se zabývá biotransformacemi cizorodých látek a metabolickými a fyziologickými souvislostmi. Je to multidisciplinární obor s úzkým vztahem k biochemii, farmakologii, toxikologii, mikrobiologii a hygieně prostředí**

Definice:

**Xenobiotika** - látky tělu cizí, které mají často škodlivý účinek

Původ slova podle: J. Kábrt a J. Kábrt:

*Lexicon Medicum, Galen 1995:*

Řecky: **xenos** = cizí; **řecky bios** = život

Latinsky: **xenobioticus**, a, um

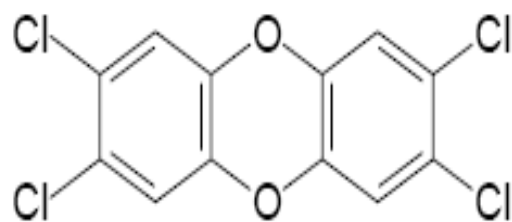
Xenobiotika - látky cizorodé organismu

Xenobiotika jsou látky většinou lipofilní, které jsou biotransformacemi měněny na látky hydrofilní.

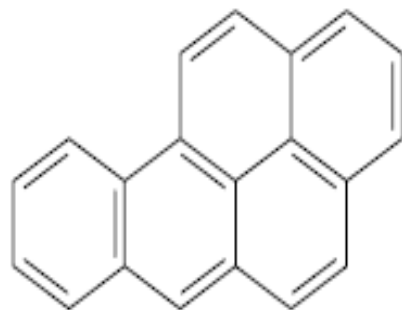
Eobiotika - látky vlastní organismu

Látky většinou hydrofilní, ionizovatelné (kromě steroidů, mastných kyselin apod.)

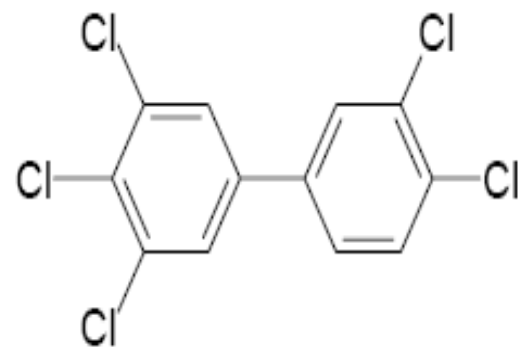
*Příklady xenobiotik*



TCDD

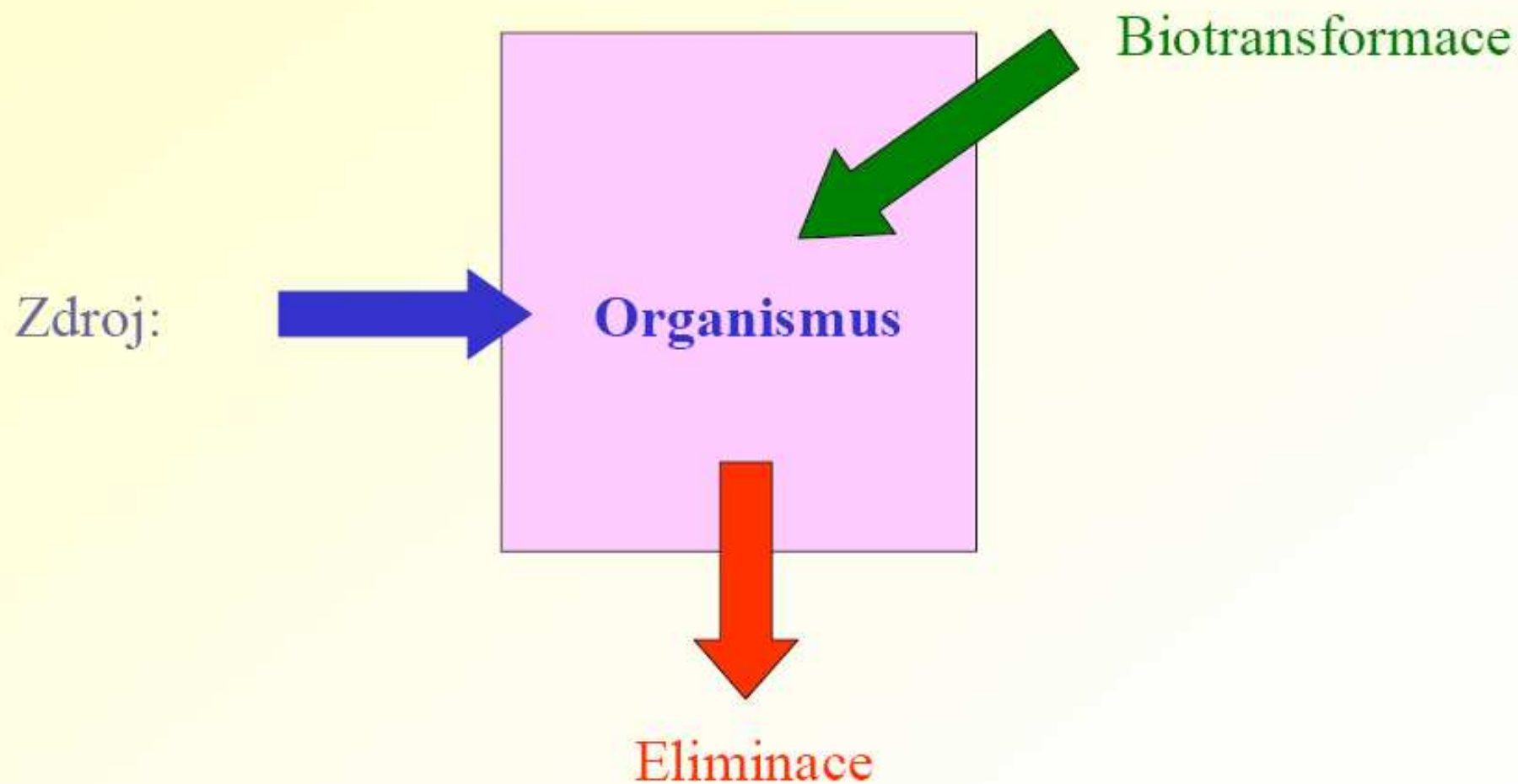


benzo[a]pyren



PCB

## Osud xenobiotik:

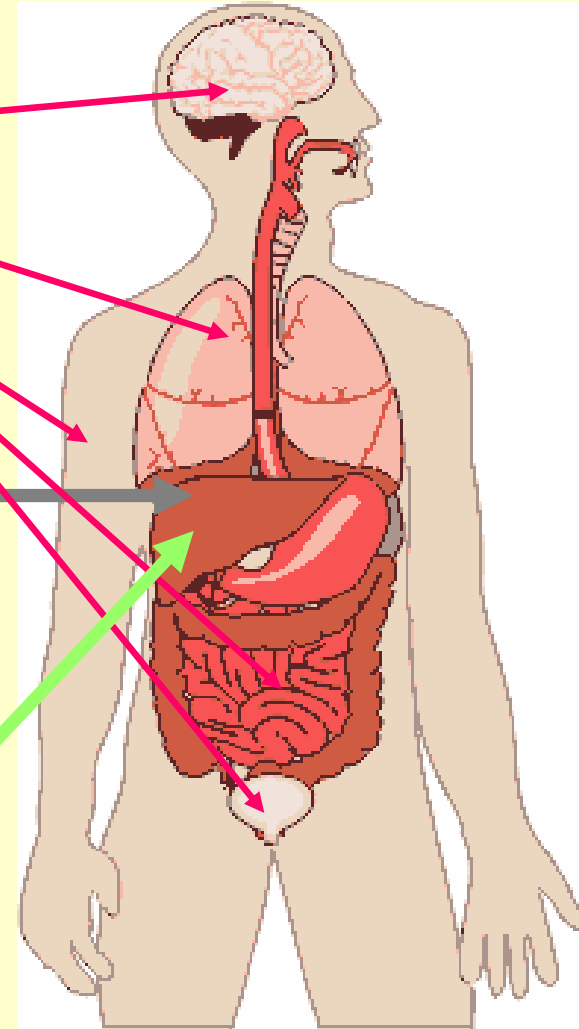


# Metabolismus xenobiotik

**Mimojaterní microsomální enzymy**  
(oxidation, conjugation)

**Jaterní microsomální enzymy**  
(oxidation, conjugation)

**Jaterní nemicrosomální enzymy**  
(acetylation, sulfation, GSH,  
alcohol/aldehyde dehydrogenase,  
hydrolysis, ox/red)



# Zdroj xenobiotik:

Potraviny

Látky v prostředí – přirozené

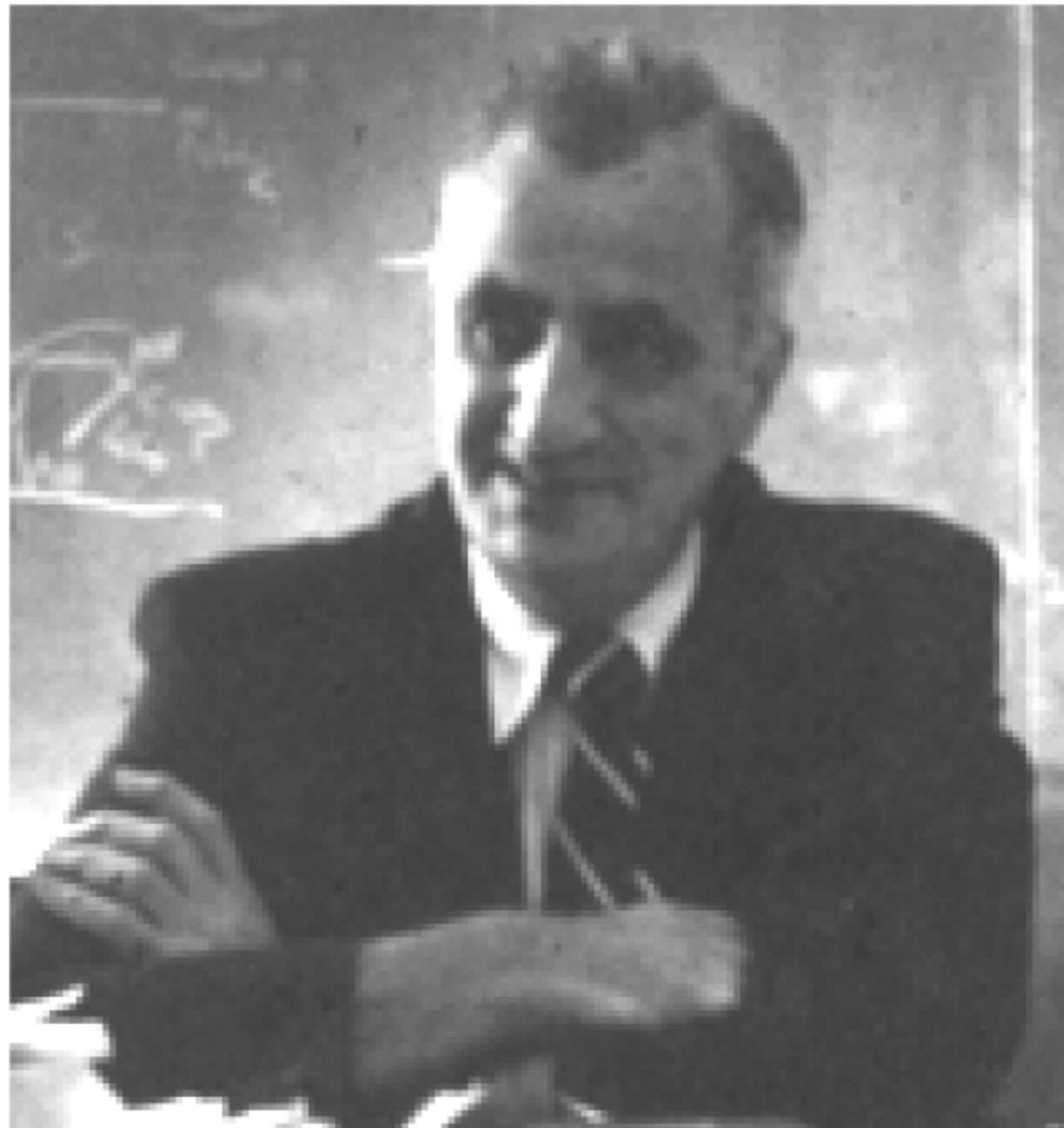
Látky pro zemědělství a průmysl (pesticidy, herbicidy, pigmenty, konzervační látky, polychlorované bifenyly)

Synteticky připravené látky pro použití lidmi, včetně léčiv

**Vstup do organismu:** zažívací trakt, plíce, kůže

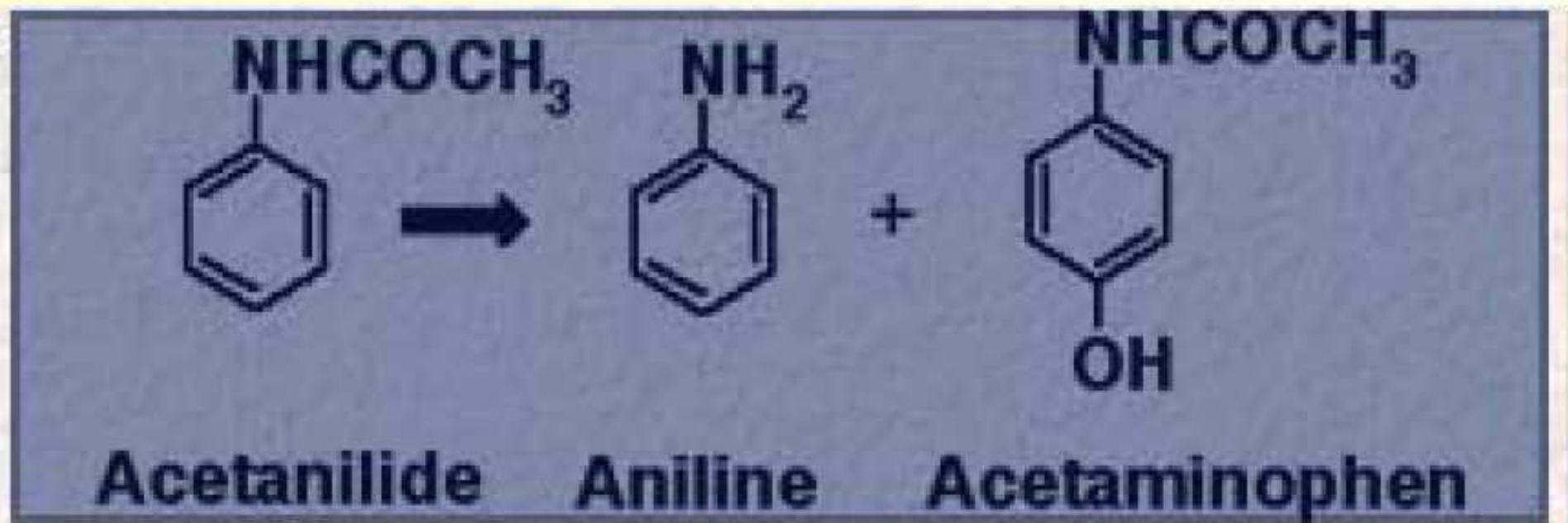
**Vyloučení z organismu:** močí, stolicí, plícemi, kůží

**Na biotransformaci xenobiotik se podílí přes 30 enzymů; uvádíme cytochrom P450 a konjugace, které mají největší význam.**



**Bernard B. Brodie**  
„Otec xenobiochemie“

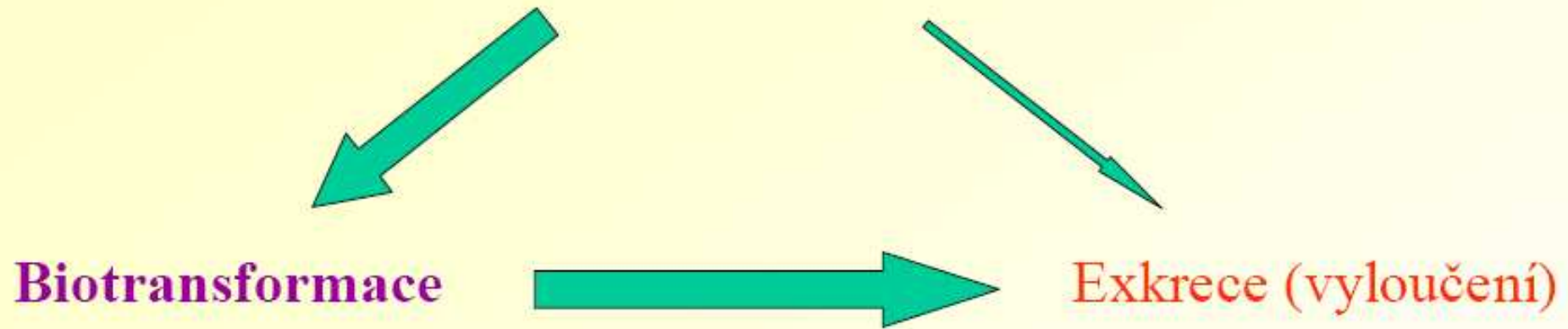
**Identifikace anilinu jako toxického produktu směsných analgetik, který vedl k poškození jater a úmrtí.**



**Acetaminofen byl netoxickým produktem, u něhož jsou zachovány analgeticko-antipyretické vlastnosti. V důsledku těchto nálezů byla tato látka zavedena do terapie, a u nás se užívá pod názvem paracetamol.**



## Eliminace xenobiotik:

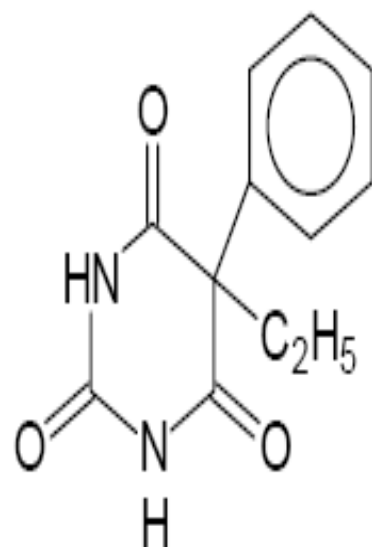


### Smysl biotransformace:

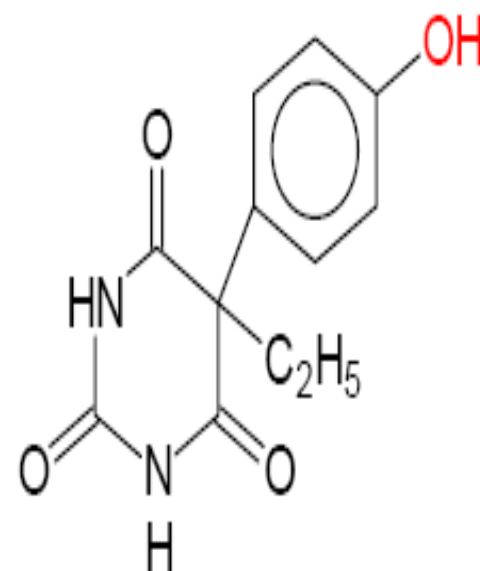
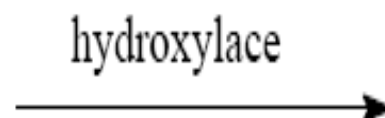
- Detoxikace látek
- Snížení účinku
- Někdy zvýšení účinku (pro-látky → látky)
- Zvýšení rozpustnosti → usnadnění exkrece

**!!!! Enzymy pro biotransformaci jsou stejné jako pro metabolismus endogenních látek !!!!**

# Deaktivace

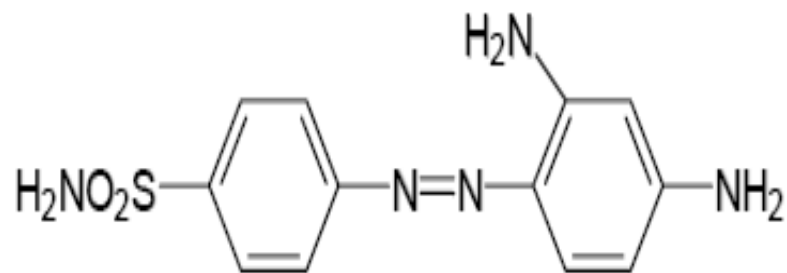


fenobarbital  
hypnotický účinek



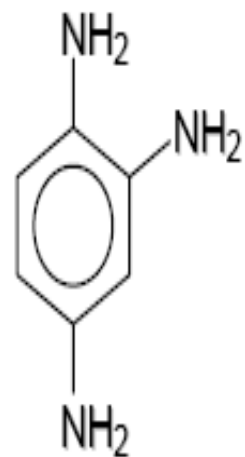
4-hydroxyfenobarbital  
ztráta hypnotického účinku

# Aktivace

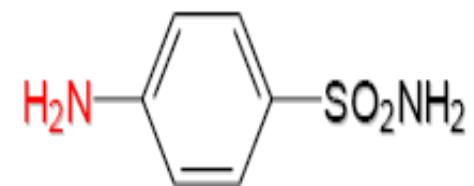


Prontosil

redukcce

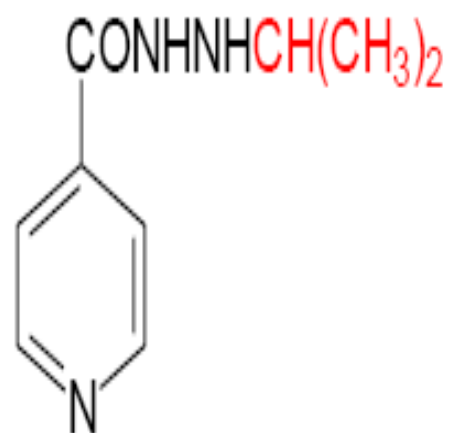


+



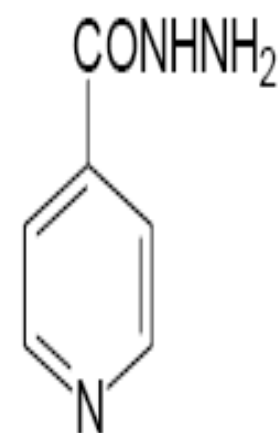
Sulfanilamid  
antibiotikum

## Změna účinku



Iproniazid  
antidepresivum

N-dealkylace

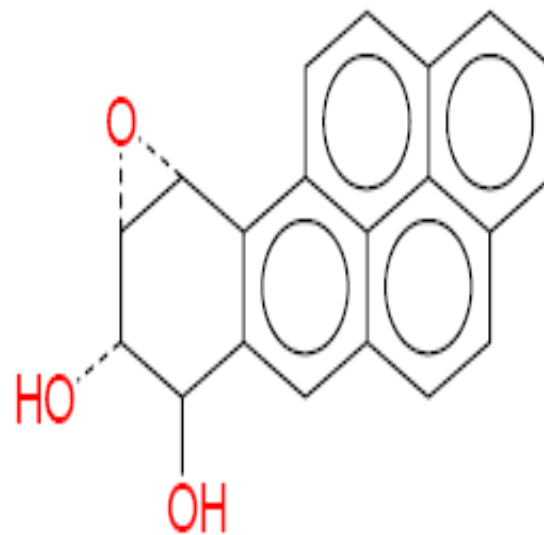
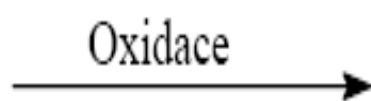


Isoniazid  
antituberkulotikum

Toxikace



Benzpyren



7,8-Diol-9,10-epoxydy benz[a]pyrenu  
silné kancerogeny

Absorpce

Biotransformace

Exkrece

Fáze I. reakce

Fáze II. reakce

Transformace látek:

Konjugace

Látka lipofilní  
(hydrofobní)



Hydroxylace,  
hydrolyza, redukce,  
oxidace, alkylace,  
desulfurace aj.

látek:

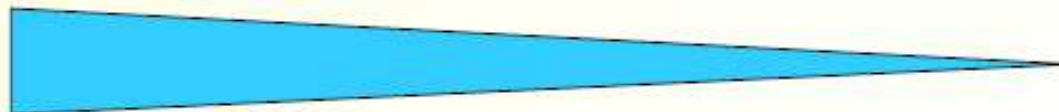
Glukuronidace,  
esterifikace se  
sulfátem aj.

Látka  
hydrofilní

Důsledek je:  
změna účinku,  
změna toxicity  
látky

Důsledek je:  
změna  
rozpustnosti  
látky

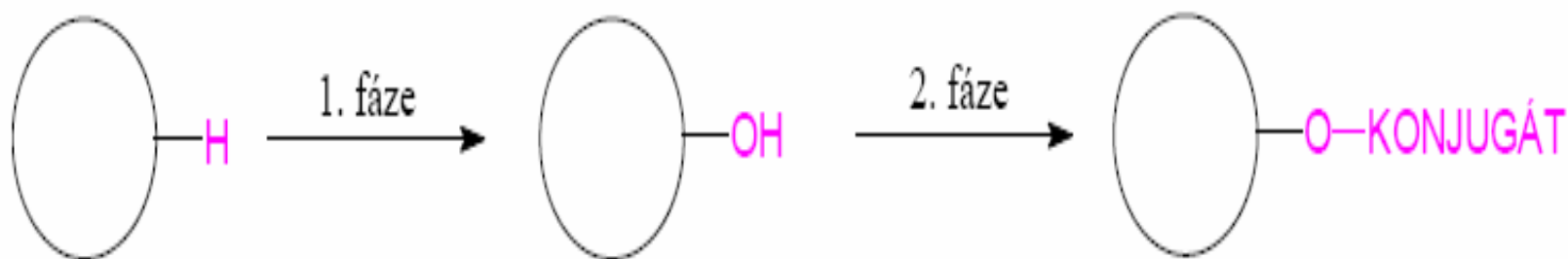
Lipofilita látky:



1. fáze: vznik polárnějšího produktu zavedením nebo odkrytím *skupin schopných konjugační reakce*.

Produkty první fáze přeměny mohou být vylučovány přímo, jsou-li dostatečně polární.

2. fáze: konjugace s velmi polárním, snadno disociovatelným zbytkem (např. sacharidem nebo organickou kyselinou).



# Místo biotransformace

Metabolická konverze xenobiotik je většinou **enzymatická**.

- Většina těchto reakcí probíhá v **játrech** (ale i v ledvinách, plicích, kůži a GIT).
- Metabolismus látek v buňkách probíhá většinou ve strukturách zvaných **endoplazmatické retikulum a cytozol**, ale jsou i další místa, jako mitochondrie, plazmatické membrány aj.
- Jako **mikrosomy** označujeme částice, které vznikají při degradaci endoplazmatického retikula; izolujeme je frakcionací.
- **Reakce Fáze I probíhají enzymovými systémy v mikrosomech.**
- **Konjugační reakce Fáze II většinou probíhají v cytozolu.**



## Enzymy 1. fáze

Hydrolasy (např. arylosterasy, karboxyesterasy, acetylosterasy, cholinesterasy)

Oxidoreduktasy (např. monooxygenasy, alkoholreduktasy, aldehydreduktasy, peroxidasy)

## Enzymy 2. fáze

UDP-Glukuronyl transferasa

Sulfotransferasy

N-, O-, S- methyltransferasy

Glutathion-S-transferasy

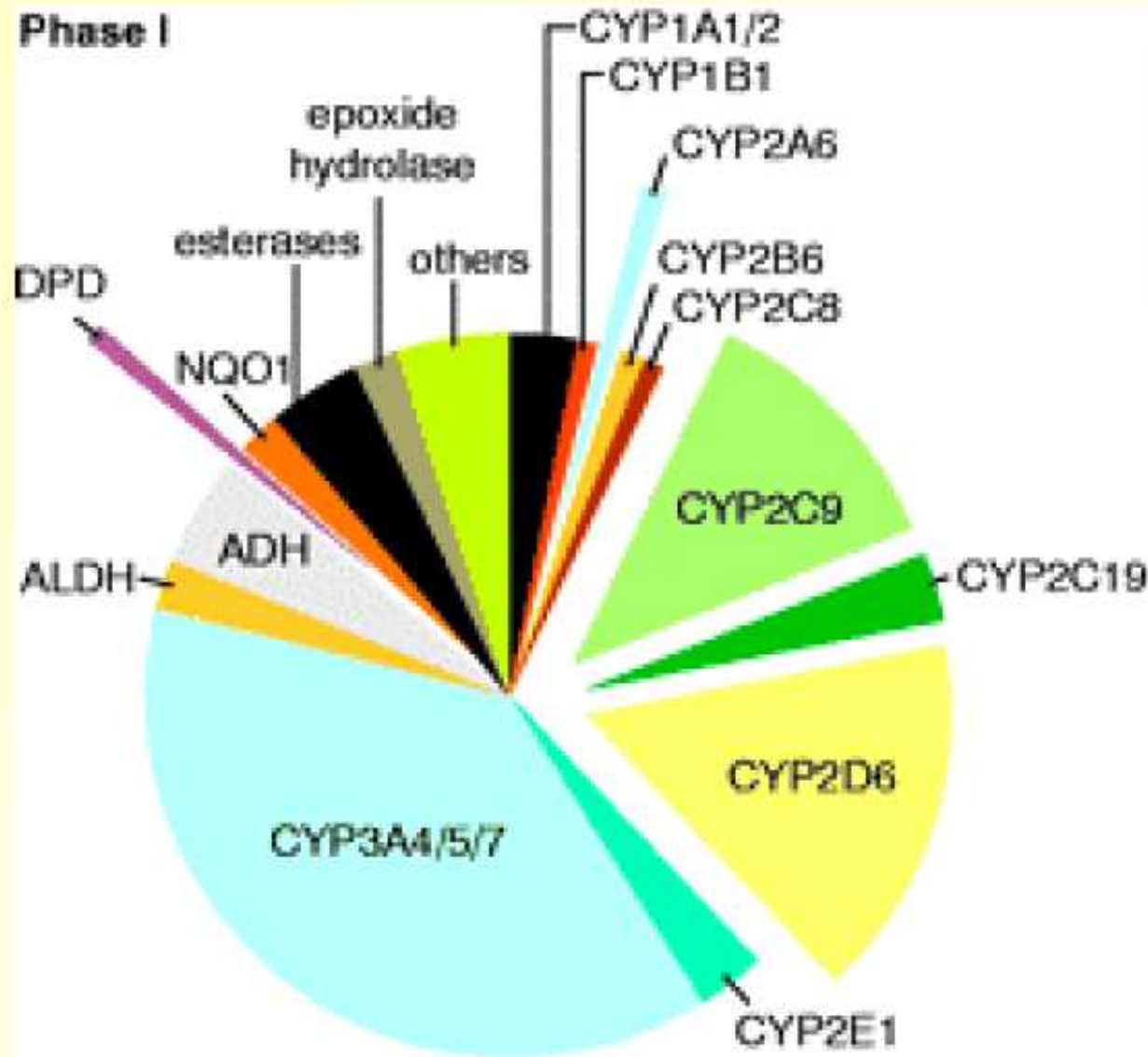
Acyloxytransferasy

Rhodanasa

Thioesterasy, aj.

# PHASE I ENZYMES

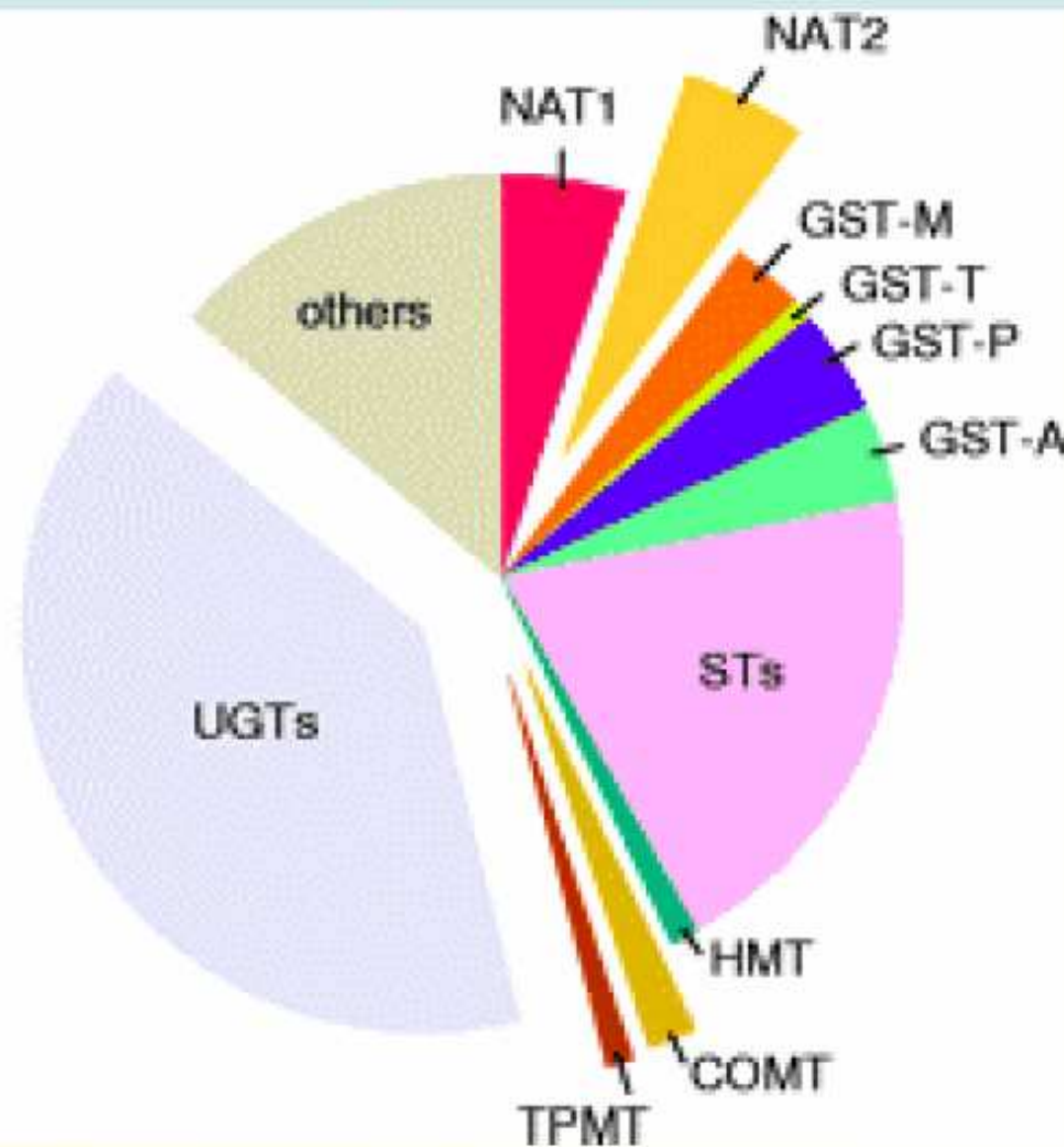
how many compounds do they metabolize?



From: Evans WE, Relling MV. Pharmacogenomics: Translating functional genomics into rational therapeutics. *Science* 286:487-491, 1999.

# PHASE II ENZYMES

how many compounds do they metabolize?



From: Evans WE, Relling MV. Pharmacogenomics: Translating functional genomics into rational therapeutics. *Science* 286:487-491, 1999.

## Cytochrom P450 monooxygenázový systém (CYP)

- Hlavní enzymový systém účastnící se na reakcích Fáze I.
- Obsahuje **hem** jako redox-aktivní koenzym.
- Jméno odvozeno z nálezu, že redukováná forma enzymu váže CO a v tomto komplexu vykazuje největší absorpci při 450 nm.
- Existuje **více než 100 izoform** Cytochrom P450 izozymů.
- Kromě degradace xenobiotik se tyto enzymy podílejí na mnoha metabolických procesech endogenních substancí.
- Nomenklatura izoform bude uvedena níže.
- Specifickým rysem tohoto systému je indukovatelnost aktivity.

## **Funkce Cyt P450 systému**

Hlavní funkcí Cyt P450 je zabudovat atom kyslíku do substrátu lipofilní molekuly (L) a převést ho na polární sloučeninu (lépe rozpustná a schopná eliminace).



Nejdůležitější funkcí skupiny hemu je přeměna molekulárního kyslíku na velice reaktivní atomovou formu.

P450 reduktáza má za úkol dodat elektrony k aktivaci kyslíku (odebírání je z NADPH).

# Cyt P450 monooxygenázový systém

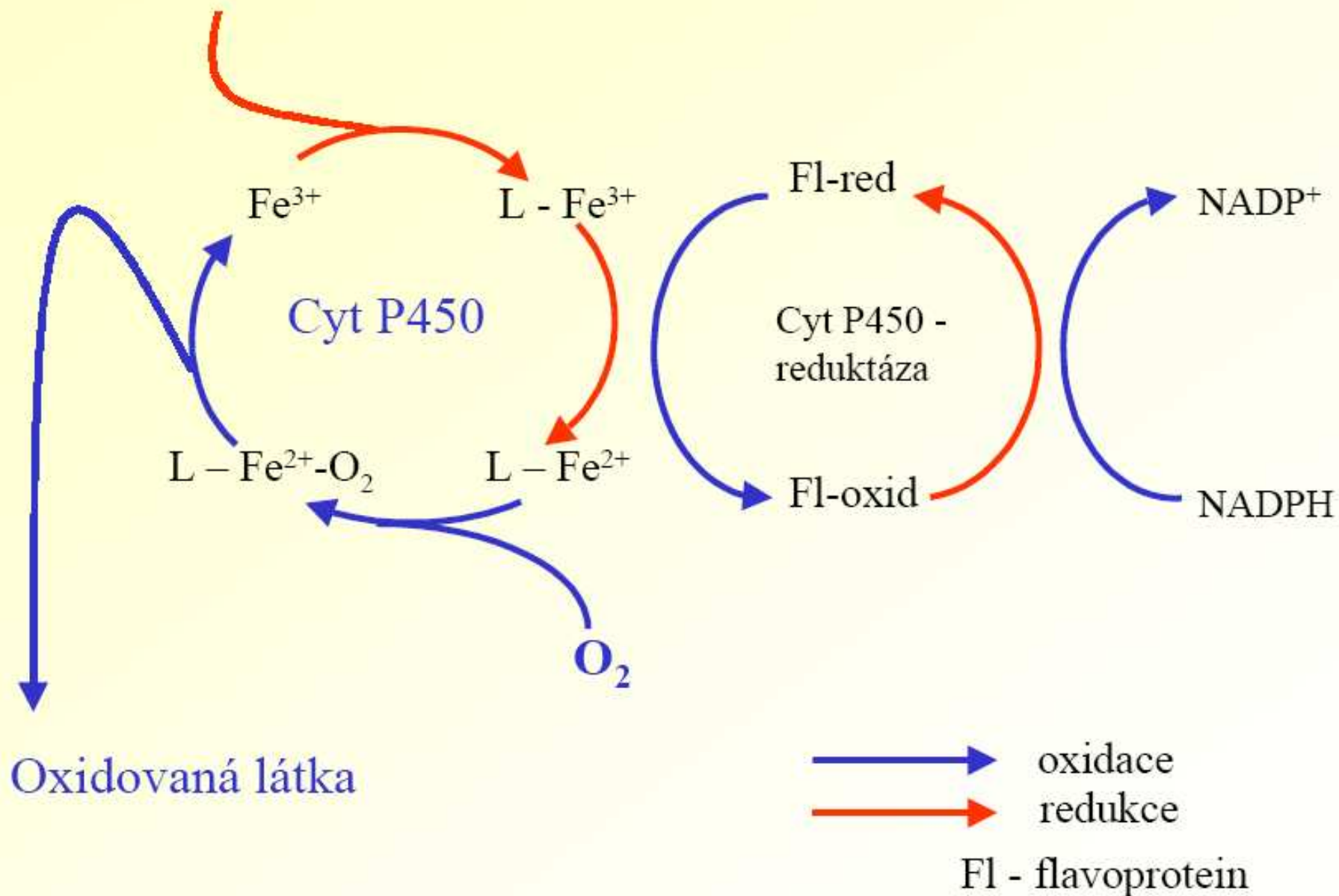
= přenos jednoho atomu kyslíku

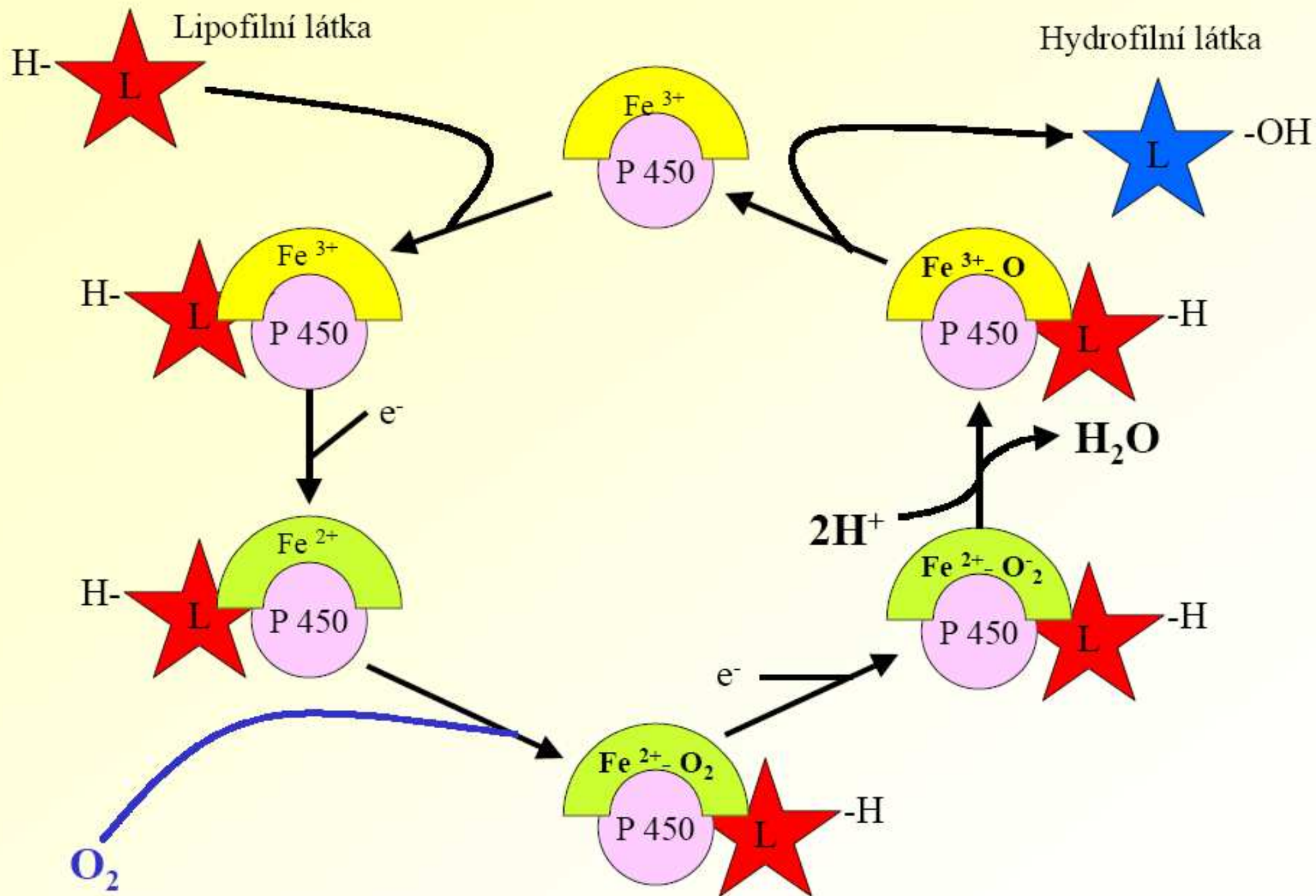
Oxidativní reakce katalyzované tímto systémem vyžadují:

- Cyt P450 hemoprotein
- NADPH-cyt P450 reduktázu
- NADPH
- Molekulární kyslík

# Mikrosomální monooxygenázový systém

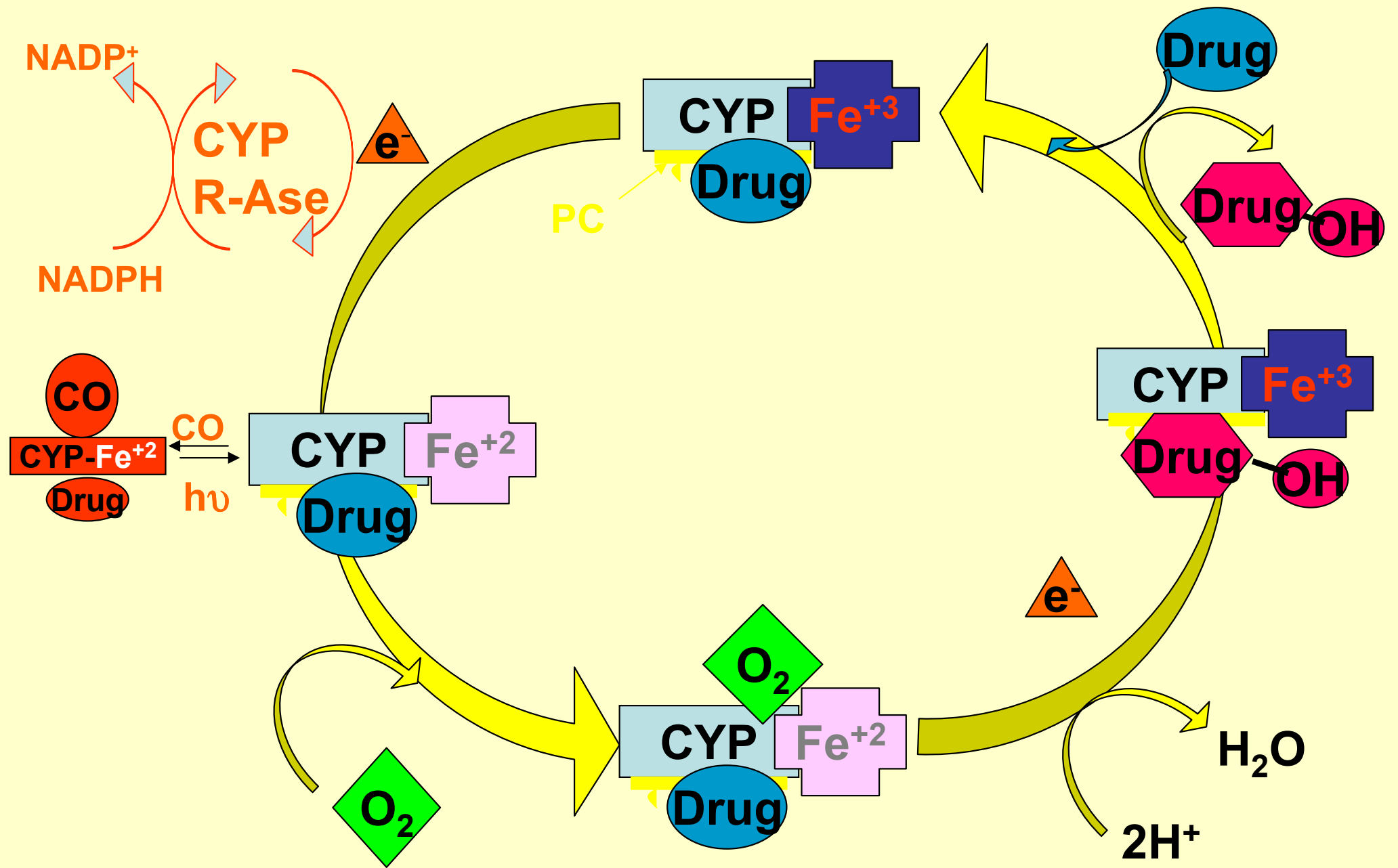
Xenobiotický substrát (látka = L)





Aktivace kyslíku Cytochromem P450 a oxidace látky = změna na rozpustnější látku.



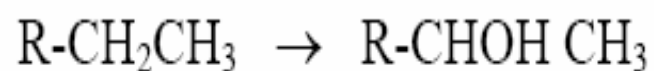
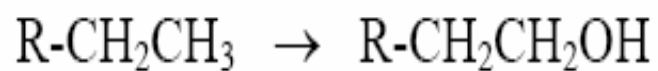


Transport elektronů v mikrosomálním systému

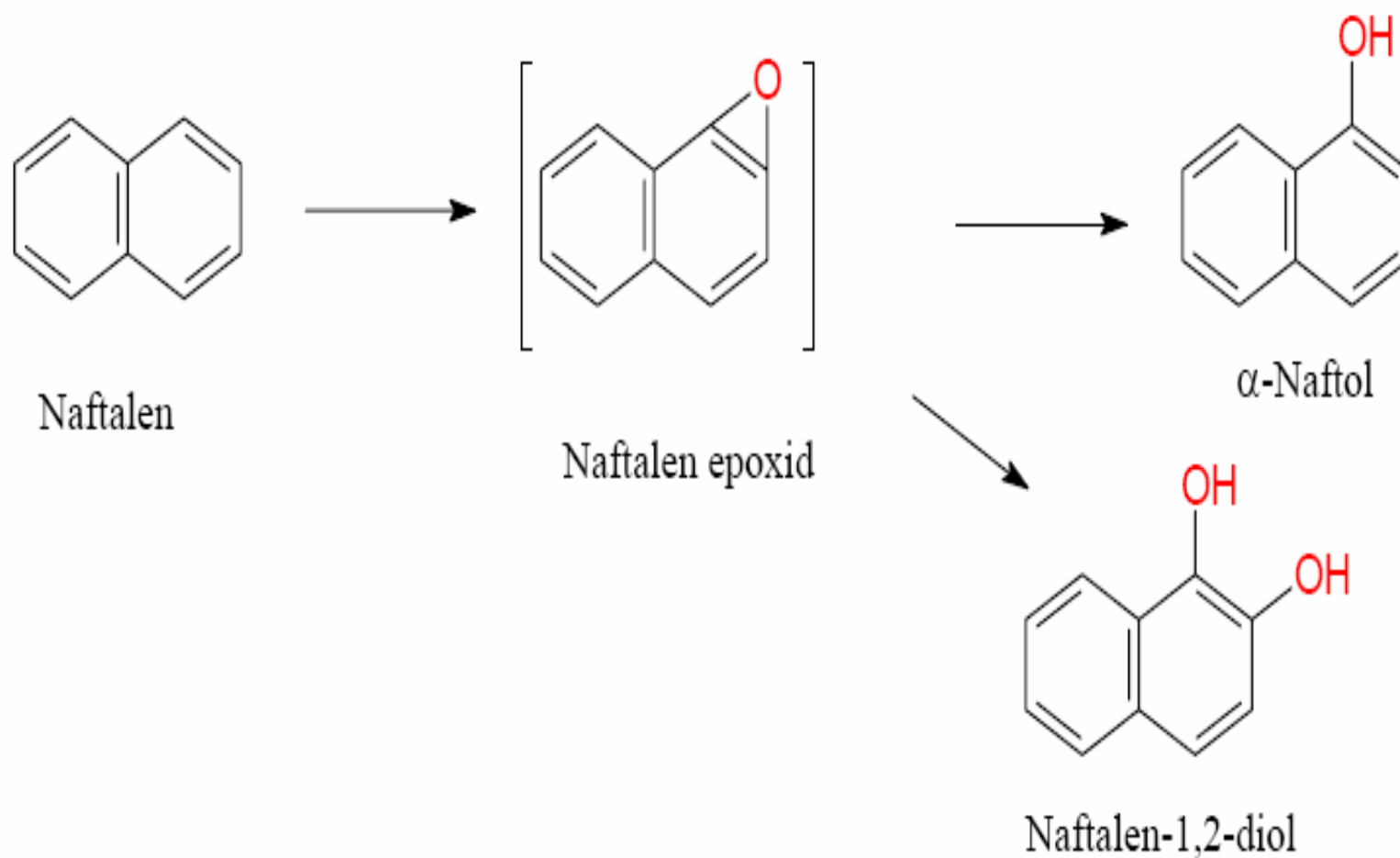
Mezi reakce zprostředkované oxidativní biotransformací monooxygenázou cyt P450 patří:

- N-dealkylace, O-dealkylace
- Alifatická a aromatická hydroxylace
- N- a S-oxidace. Deaminace
- Existuje i řada redukčních reakcí, které jsou katalyzovány cyt P450.

## Alifatická a alicyklická hydroxylace



## Aromatická hydroxylace

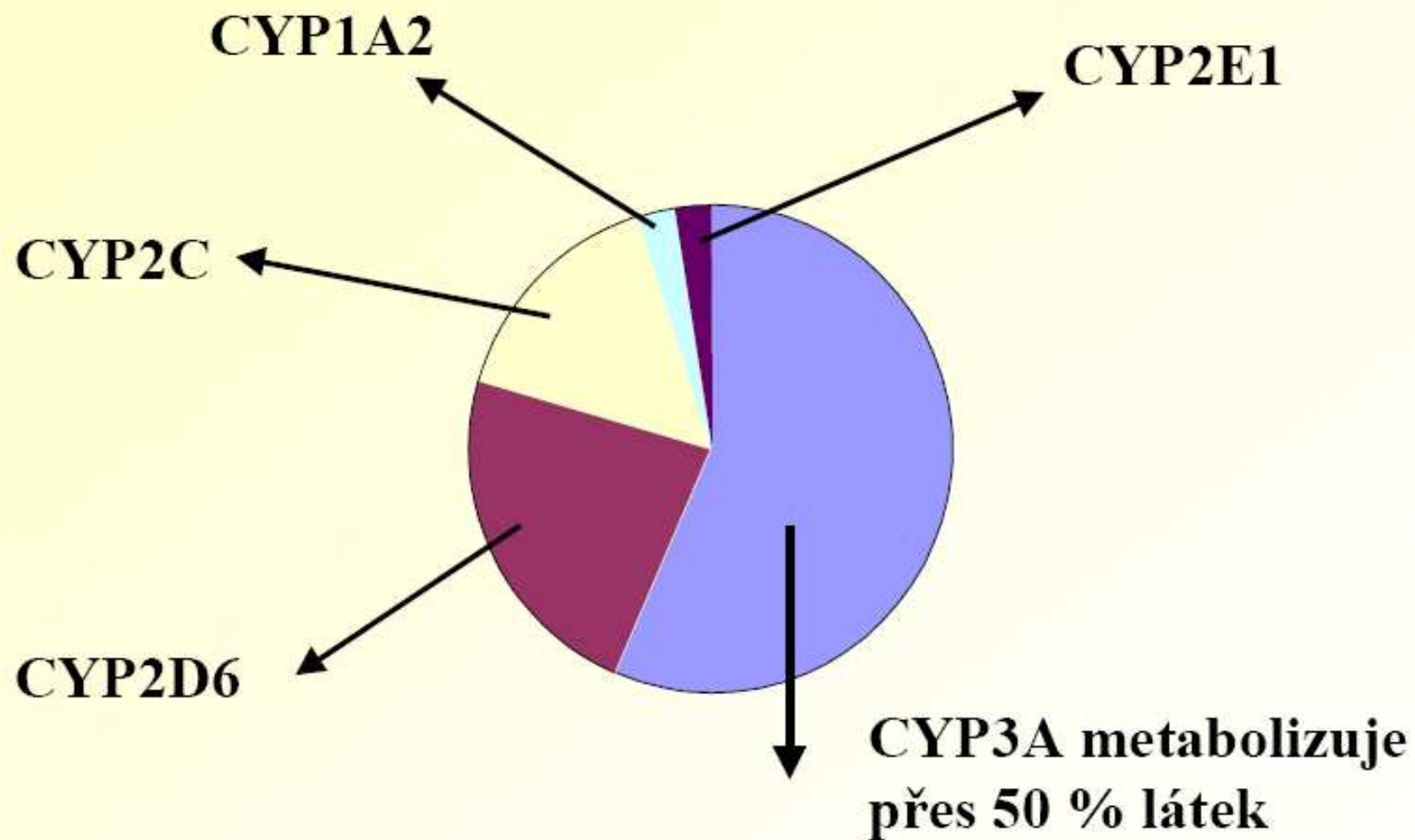


## Klasifikace enzymů patřících mezi cyt P450

Existuje přes 1000 izoformem cyt P450, u 50 z nich prokázána funkčnost u člověka.

Geny pro cyt P450 se dělí do několika **rodin** a **podrodin** podle podobnosti sekvence aminokyselin ve vytvářených enzymech; Označují se zkratkou **CYP**.

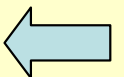




**Proporce xenobiotik metabolizovaných hlavními cyt P450.**

# Lidské jaterní P450

CYP enzyme	Level (%total)	Extent of variability
<b>1A2</b>	<b>~ 13</b>	<b>~40-fold</b>
1B1	<1	
2A6	~4	~30 - 100-fold
2B6	<1	~50-fold
<b>2C</b>	<b>~18</b>	<b>25-100-fold</b>
2D6	Up to 2.5	>1000-fold
2E1	Up to 7	~20-fold
2F1		
2J2		
<b>3A4</b>	<b>Up to 28</b>	<b>~20-fold</b>
4A, 4B		

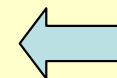


## Faktory ovlivňující aktivitu a hladinu P450

<b>Nutrition</b>	<b>1A1;1A2;2E1; 3A3; 3A4,5</b>
<b>Smoking</b>	<b>1A1;1A2</b>
<b>Alcohol</b>	<b>2E1</b>
<b>Drugs</b>	<b>1A1,1A2; 2A6; 2B6; 2C; 2D6; 3A3, 3A4,5</b>
<b>Environment</b>	<b>1A1,1A2; 2A6; 1B; 2E1; 3A3, 3A4,5</b>
<b>Genetic Polymorphism</b>	<b>1A; 2A6; 2C9,19; 2D6; 2E1</b>

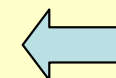
**Červeně** – enzymy důležité v metabolismu léčiv

*S. Rendic & F. J. Di Carlo Drug Metab Rev 29: 413-580, 1997*



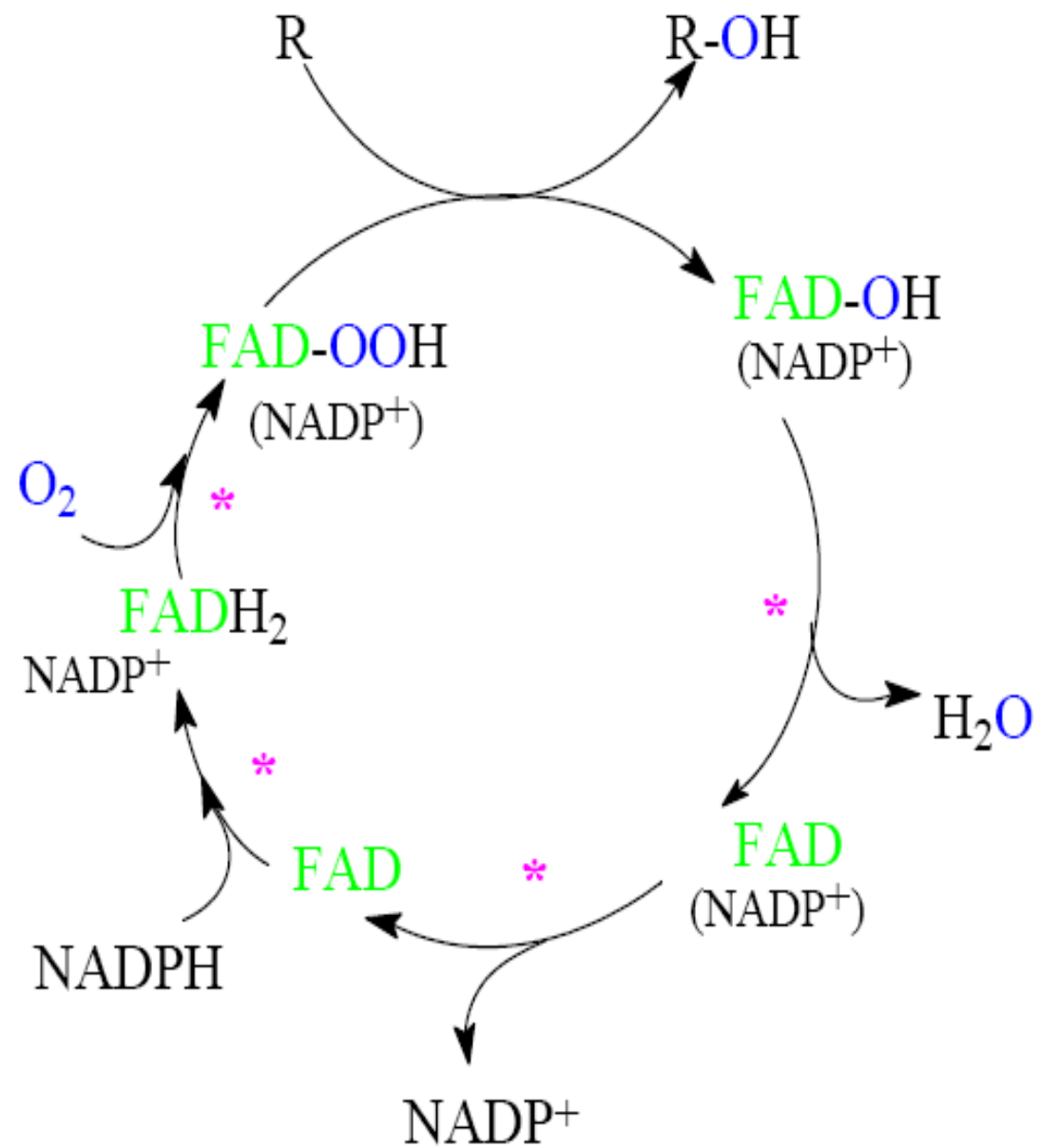
# Účast P450 v metabolismu důležitých léčiv

CYP Enzyme	Participation in Drug Metabolism (%)	Examples of Substrates
2C8,9	15.8	Tolbutamide, Diclofenac (S) –Warfarin, Phenytoin Hexobarbital
2C18, 19	8.3	Diazepam, Omeprazole (S) –Mephenytoin
2D6	18.8	Codeine, Debrisoquine Dextromethorphan “Ecstasy”, Bufuralol, Sparteine
3A4,5	34.1	Carbamazepine, Cortisol Dapsone, Diazepam Erythromycin, Midazolam Nifedipine, Omeprazole Testosterone





# FLAVINOVÉ MIKROSOMÁLNÍ MONOOXYGENASY

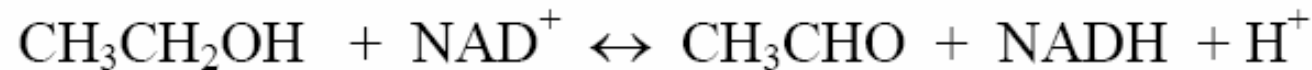


## Alkoholdehydrogenasy (ADH)

Koenzymem je  $\text{NAD}^+$

- Alkoholy se oxidují přes aldehydy na karboxykyseliny nebo vstupují přímo do konjugačních reakcí.
- ADH jsou lokalizovány hlavně v játrech, žaludku, ledvinách, střevě a plicích.

Příklad: metabolismus ethanolu

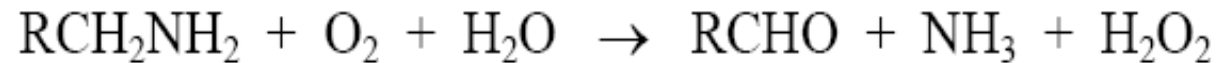


## Aldehyddehydrogenasy

- Mají flavinové nebo nikotinamidové kofaktory.
- Mechanismus oxidace: vytvoří se thiohemiacetal, který se dále oxiduje.
- Formaldehyd tvoří addukt s glutathionem, který se dále oxiduje na formylthioester.

## Monoaminoxidasa

Katalyzují oxitativní deaminace aminů na aldehydy (kyseliny).



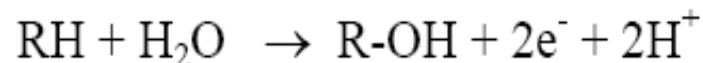
Podílejí se na kontrole hladin některých neurogenních aminů (serotonin).

## Diaminoxidasa

oxiduje diaminy na monoaldehyd (např. putrescin), obsahují pyridoxal fosfát.

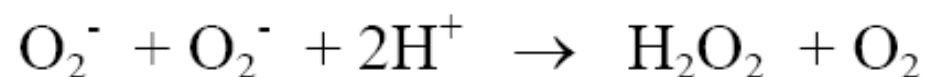
## Xantinoxidasa

Metaloflavoprotein - inkorporuje do substrátu atom kyslíku z molekuly vody.



## Superoxiddismutasa

- Důležitý enzym, který chrání organismus před poškozením velmi reaktivním superoxidovým radikálem ( $O_2^-$ ):
- Tento radikál vzniká v organismu při některých oxidacích molekulárním kyslíkem neenzymových i enzymových (XO, aldehydoxidas).



## Glutathion peroxidasa

- Spolu se katalasami a superoxid dismutasou deaktivuje hydroperoxydy.
- Výskyt: hlavně v erythrocytech (chrání hemoglobin).

## Konjugační enzymy (2. fáze)

Druhá fáze metabolismu xenobiotik - enzymy syntetické

Konjugační činidla jsou přirozené metabolity buňky.

Energie dodána pro průběh kondenzační reakce:

- aktivace činidla: Xenobiotikum + aktivované konjugační činidlo → konjugát
- aktivace substrátu: Aktivované xenobiotikum + konjugační činidlo → konjugát
- bez aktivace: Reaktivní xenobiotikum + konjugační činidlo → konjugát

Konjugát je ionizován a snadno se vylučuje.

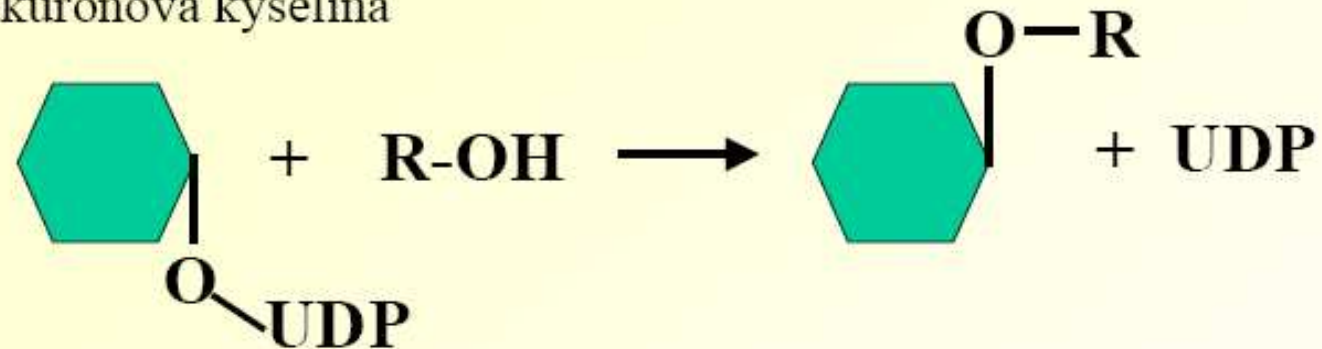
# Konjugační reakce:

- **Konjugační reakce (Fáze II biotransformace) vyžadují dodávku energie.**
- **Glukuronidace je nejdůležitější reakcí (co se týká kvantity) - působením mikrosomálních enzymů.**
- **Další konjugační reakce:**
  - Konjugace s kys. sírovou (sulfatace)**
  - Acetylace**
  - Konjugace s glycinem**
  - Konjugace s glutathionem**
  - Methylace**

# Příklady konjugačních reakcí:

## Glukuronidace:

UDP-glukuronová kyselina

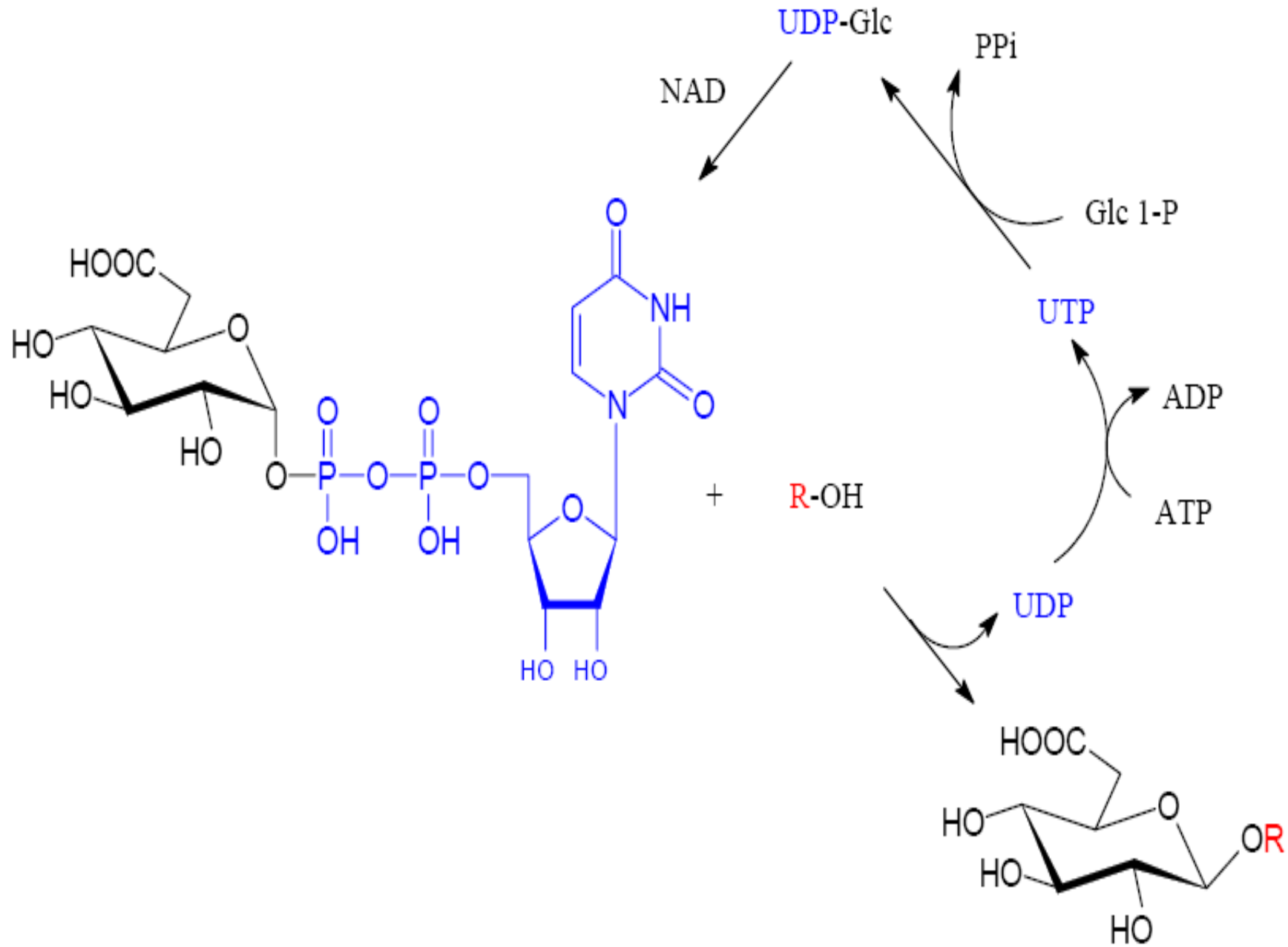


(paracetamol, morfin, diazepam)

**Enzym: UDP-glukuronosyltransferáza**

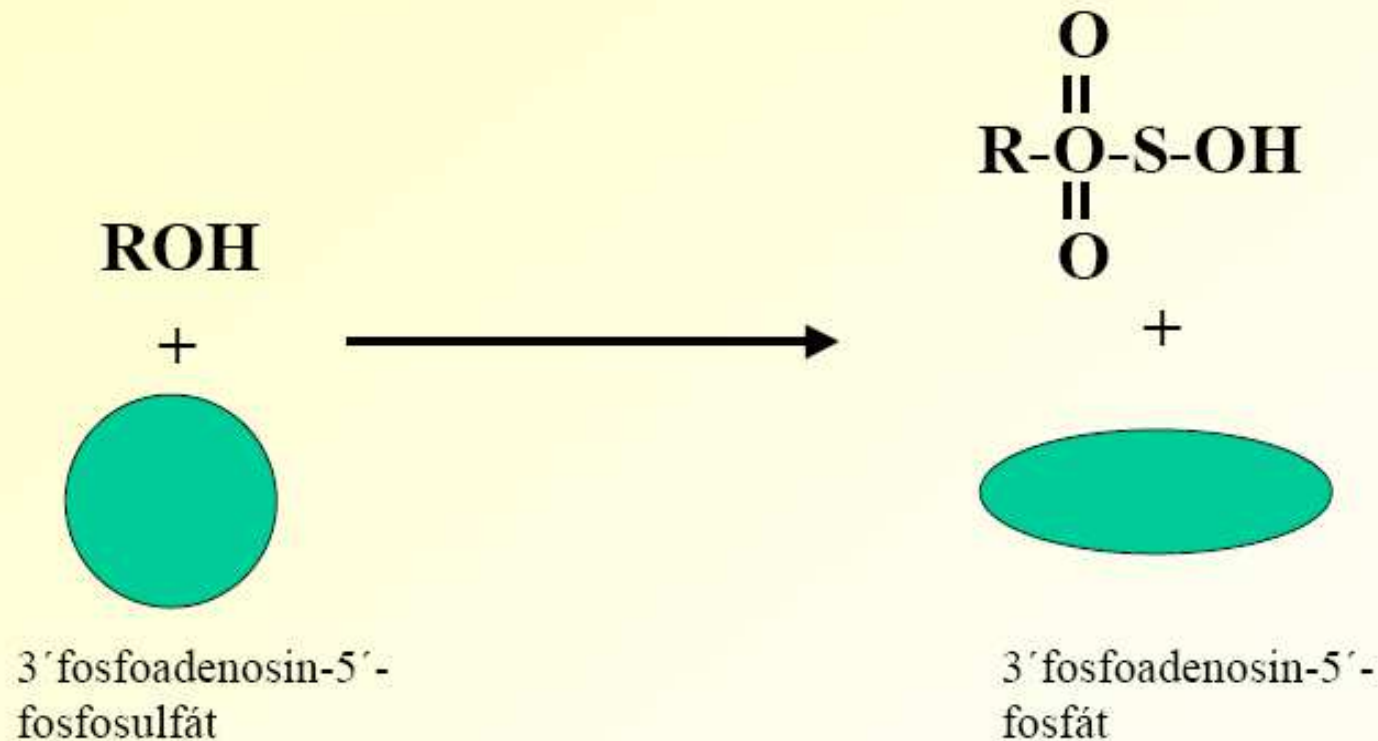
(játra, střevo, ledviny, mozek a kůže)

# Tvorba a regenerace UDP-glukuronátu



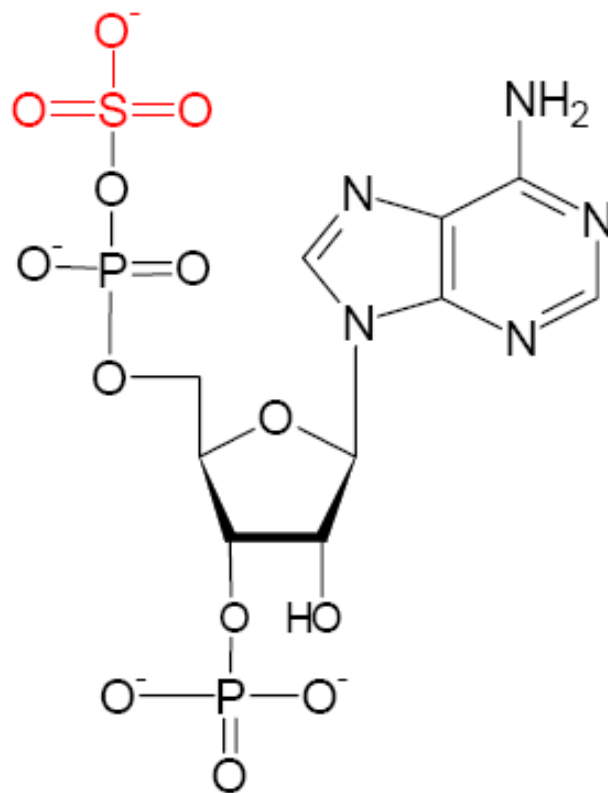


## Sulfatace:



(Přenos sulfátu z donoru na OH skupiny fenolů i alifatických alkoholů, např. u paracetamolu, steroidů, methyldopy.)

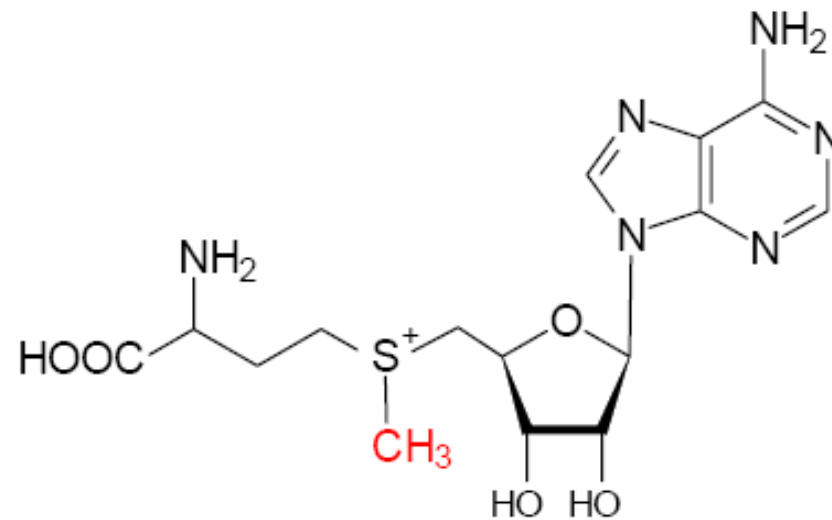
PAPS je tvořen v cytosolu dvoustupňovou reakcí za účasti 2 ATP.



3'-fosfoadenosin 5'-fosfosulfát  
(PAPS)

# Methylace

- Methyltransferasy katalyzují *N*-, *O*- a *S*- methylace.
- *N*- a *O*- methyltransferasy jsou lokalizovány v cytosolu jaterních a nervových buněk.
- Donorem methylu je *S*-adenosylmethionin.



*S*-adenosylmethionin

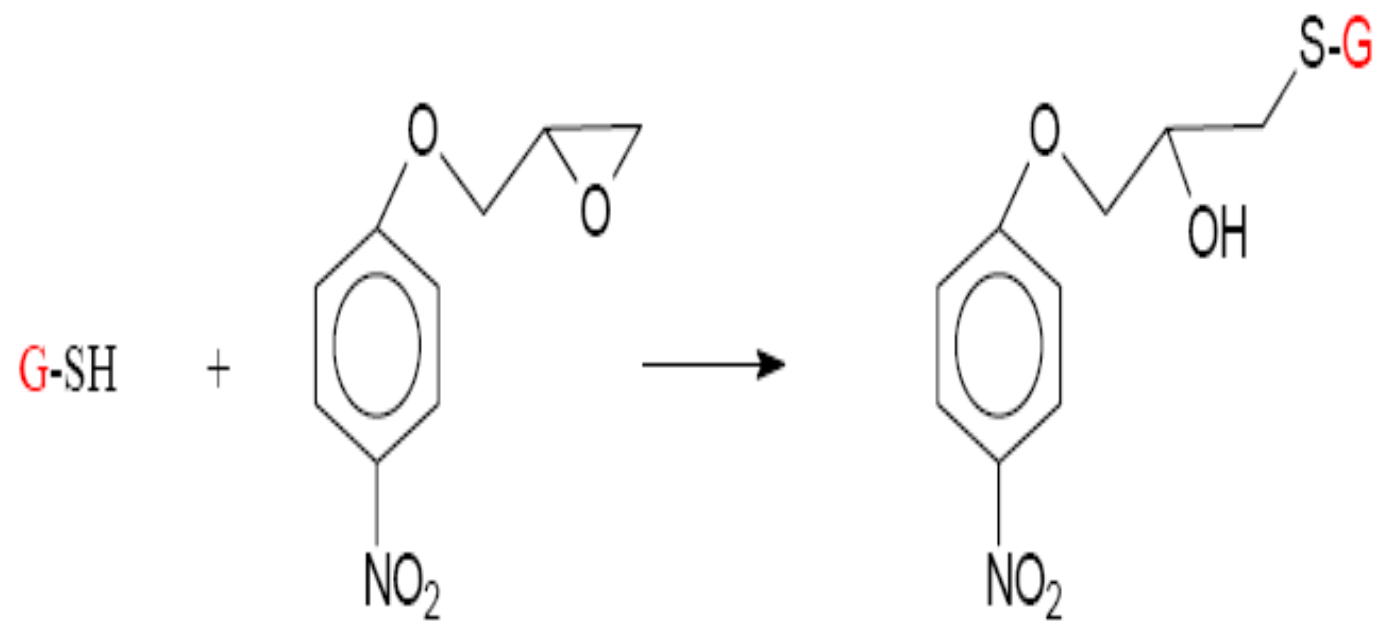
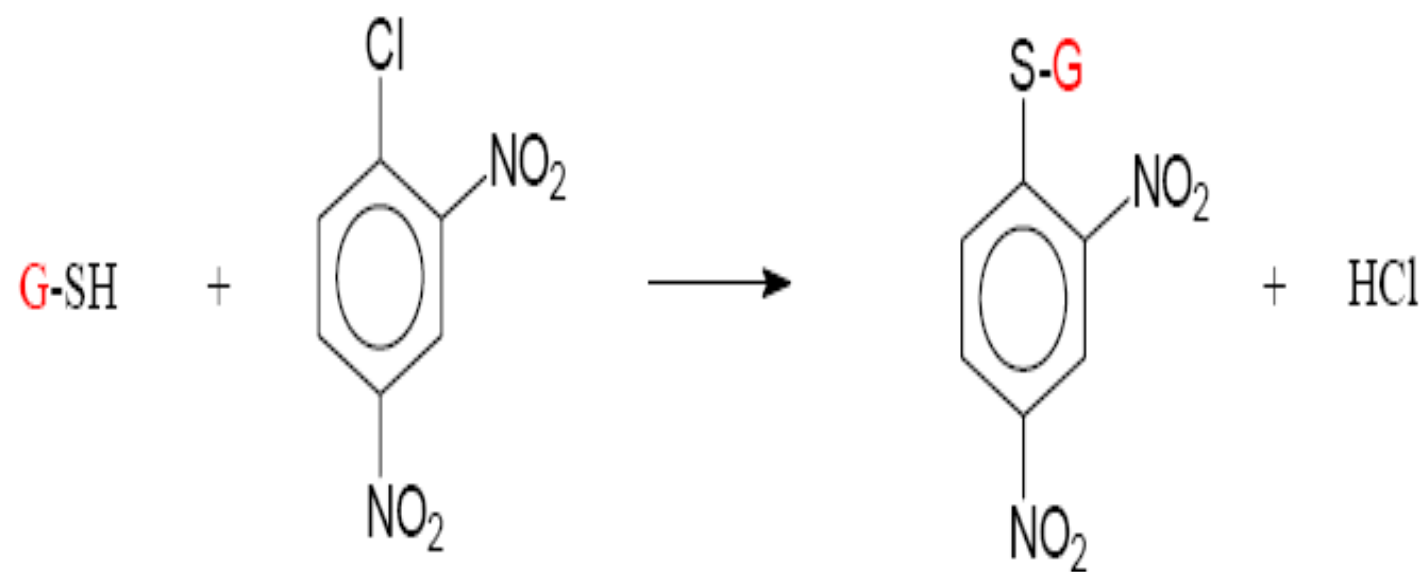
## Konjugace s glutathionem:

Konjugace elektrofilních metabolitů xenobiotik s tripeptidovým glutathionem představuje hlavní detoxikační cestu xenobiotik a karcinogenů.

**Enzym: glutathion-S-transferáza** (ve všech tkáních)

**Další osud látek:**

Konjugáty s glutathionem jsou rozloženy na cysteinové deriváty a poté jsou acetylovány v ledvinách; poskytují N-acetylcysteinové konjugáty.



## **Faktory ovlivňující biotransformaci xenobiotik:**

- Polymorfismus oxidačních a konjugačních reakcí
- Environmentální faktory (inhibice grapefruitovou šťávou)
- Nemoci, stav organismu, léčiva

### **Indukce:**

**Indukce bývá specifická pro určitý typ CYP.**

Zvýšená syntéza Cyt P450  $\longrightarrow$  zvýšená biotransformace.

**(U látek, kde metabolismus vede ke zvýšené tvorbě reaktivních radikálů dochází ke zvýšení toxicity látek.)**

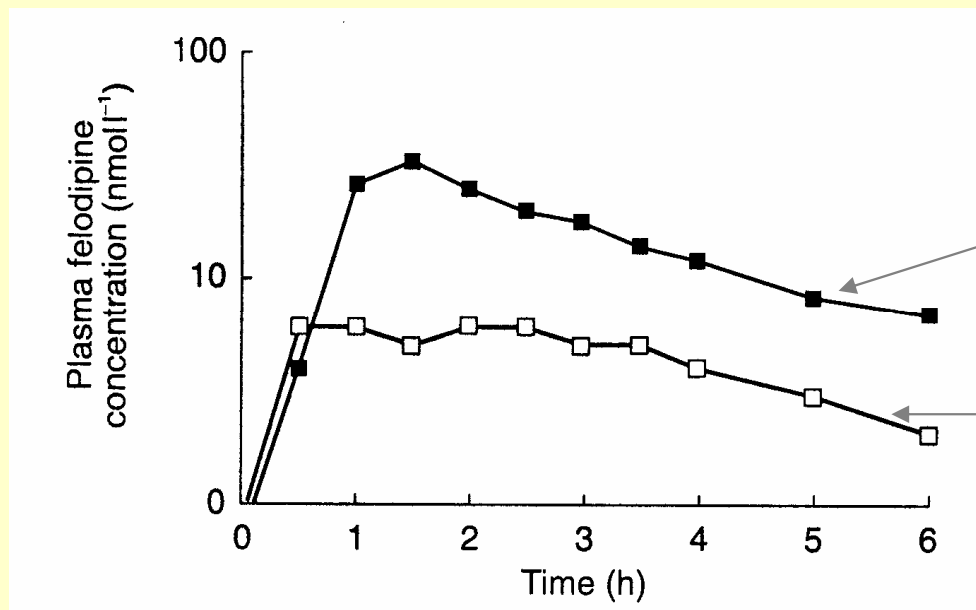
### **Hlavní induktory:**

- barbituráty, warfarin, chlorpromazin, karbamazepin  
glukokortikoidy (CYP3A4)
- isoniazid, chronický ethanol (CYP2E1)
- kouř tabáku
- polycyklické aromatické hydrokarbony (CYP1A)

## **Inhibitory biotransformace:**

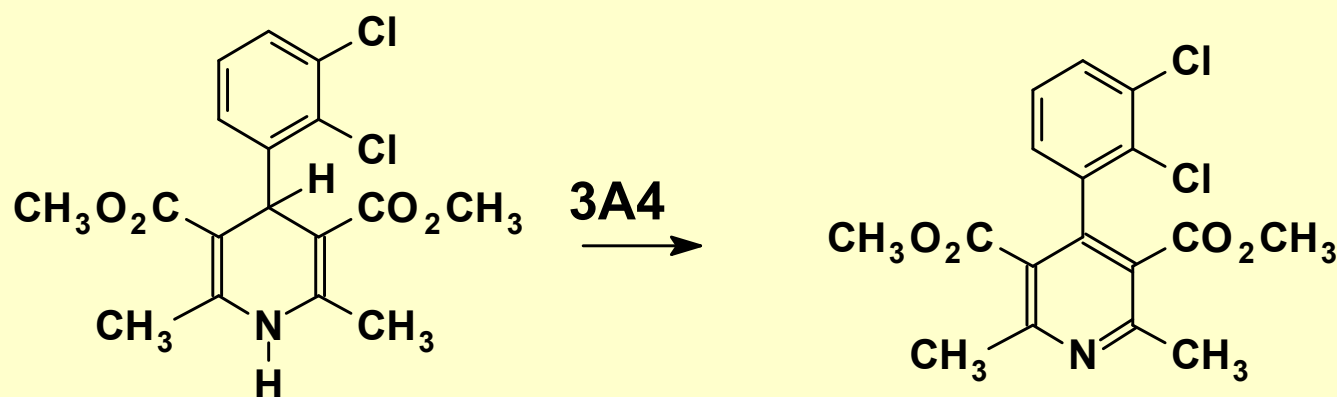
- Inhibice biotransformace zvyšuje mateřské látky a jejich účinek.
- Zvyšuje se také toxicita.
- Kompetitivní účinky několika látek mění účinek jedné látky.
- Cymetidin a ketokonazol inhibují oxidativní metabolismus tvorbou pevného komplexu s hemem v Cyt P450.
- Vazba některých látek může destruovat hem (např. syntetické steroidy).

## Vliv grapefruitového džusu na koncentraci Felodipine v plasmě



5mg tablet  
S džusem

Bez džusu





# Genetický polymorfismus:

- Rozdíly v biotransformaci xenobiotik jsou dány geneticky.
- Rozdíly mohou být tak výrazné, že došlo k dělení populace, např. na rychlé a pomalé acetylátory.
- U pomalu metabolizujících jedinců dochází k častějším nežádoucím reakcím.
- Odchytky v biotransformačních schopnostech lze testovat podáním vzorových látek a sledováním jejich biotransformace.
- Molekulárně-biologické metody jsou schopny odhalit stupeň exprese daného genu.

# Biotransformace xenobiotik a možné poškození buněk

