

# **Stanovení genotypu a aktivity alkohol dehydrogenasy z krve**

## **Xenobiotika (xenos = cizí)**

- normálně se v organismu nevyskytují
- nejsou nutné pro jeho zdravý vývoj
- neslouží pro organismus jako zdroj energie.

## **Primárním zdroje xenobiotik**

- chemický průmysl (PAH, PCB, benzen, fenoly, ....)
- kouření (PAH, aromatické aminy, ....)
- jídlo a alkohol (PAH, arylaminy, heterocyklické a aromatické aminy, ....)
- aflatoxiny

# Xenobiotikum

Silně lipofilní

Lipofilní

Polární

Hydrofilní

Akumulace v  
tukové tkáni

1. Fáze biotransformace  
aktivace/inaktivace  
oxidace, redukce, hydrolýza

2. Fáze biotransformace  
aktivace/inaktivace  
konjugační reakce

Polární

Hydrofilní

Extracelulární tekutiny – exkrece játry, ledvinami

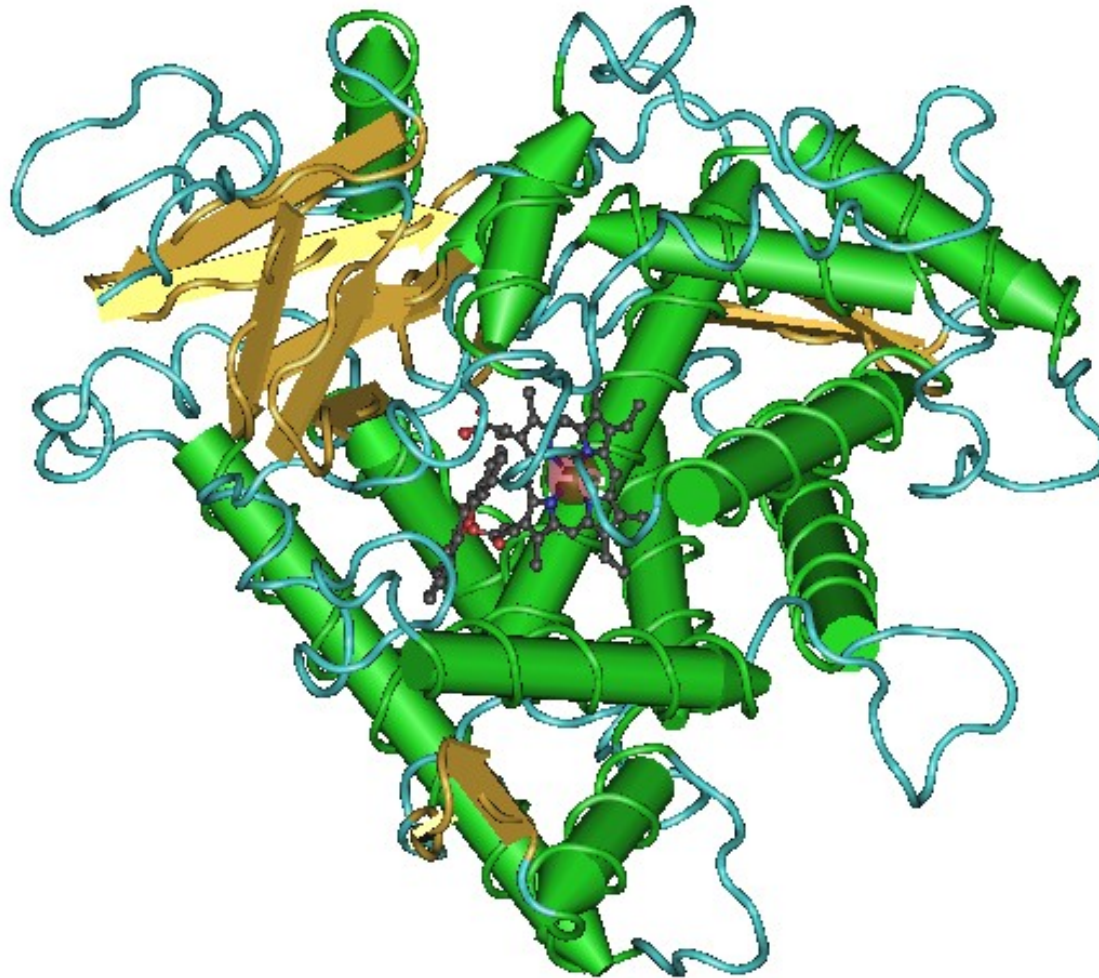
# 1. fáze biotransformace

- zavedení polární funkční skupiny do molekuly lipofilní látky  
- OH, -NH<sub>2</sub>, -SH, = CO, - COOH
- reakce 1. fáze biotransformace: oxidace, redukce, hydrolýza
- během 1. fáze biotransformace může docházet jak ke snížení tak ke zvýšení toxicity

**Nejčastější reakce je oxidace katalyzovaná:**

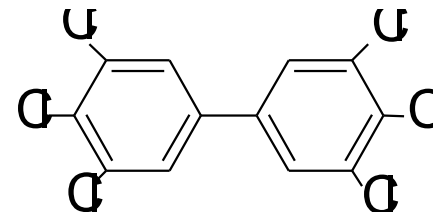
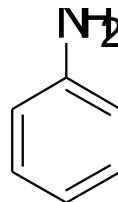
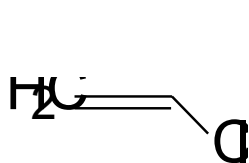
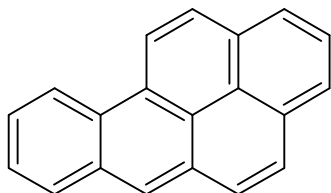
- cytochrom P - 450 (CYP450)
- alkoholdehydrogenáza (ADH)
- monoaminoxidázy a diaminoxidázy (MAO)

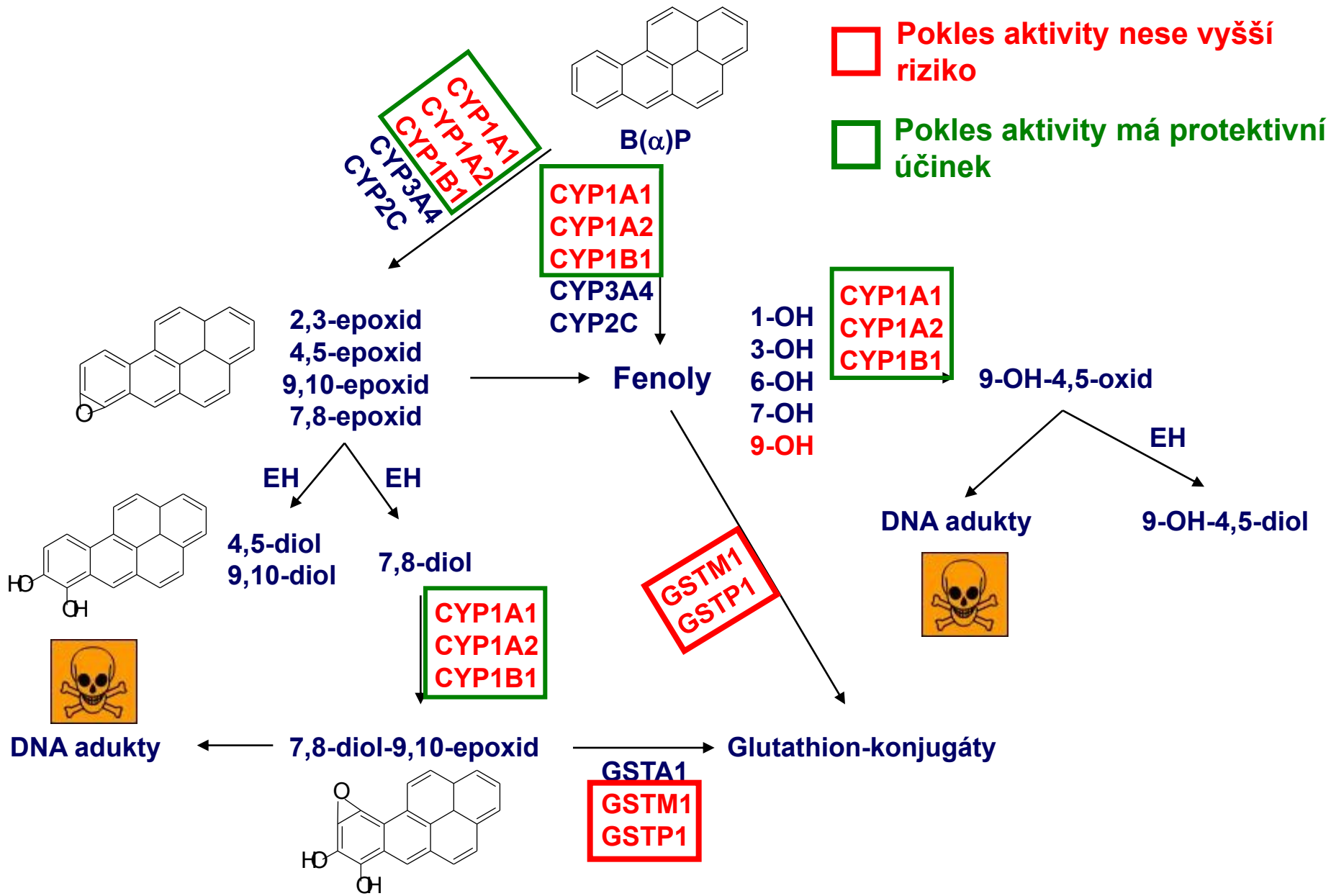
# Cytochrom P450



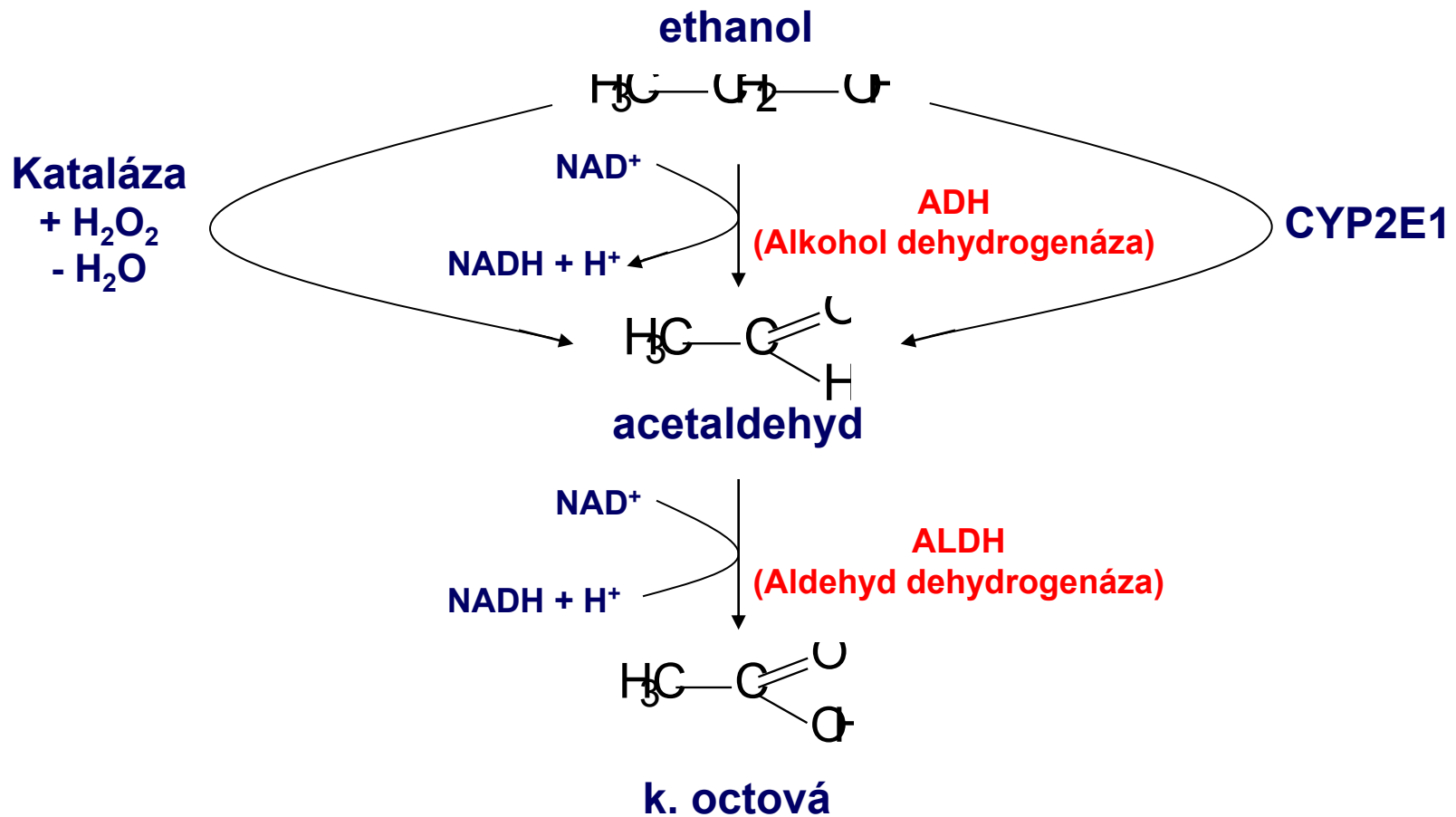
## Oxidace katalyzované CYP450

- Hydroxylace alifatických a aromatických uhlovodíků (benzén a jeho deriváty, PAHs, aflatoxiny, alkany, PCB)
- Epoxidace nenasycené dvojně vazby (styrén, vinylchlorid)
- Hydroxylace aminů (anilin)
- -O, -N a -S dealkylace
- Dehalogenace (PCB, formaldehyd, dibenzodioxiny, dibenzofurany)





# Oxidace alkoholu katalyzovaná enzymy alkohol dehydrogenáza (ADH) a aldehyd dehydrogenáza (ALDH)





# Zkoumané polymorfismy

## **ADH1B (48 R/H)**

Studie ukázaly, že jedinci nesoucí alelu 48 H/H mají silně zvýšenou aktivitu ADH.

## **ADH1C (349 F/I)**

Studie ukázaly, že jedinci nesoucí alelu 350 I/I mají zvýšenou aktivitu ADH.

## **Genotypy budou analyzovány pomocí PCR a restrikční analýzy**

Restriktáza *HhaI*

**rs1229984** - ADH1B\*48His

rs1229984F: GGTGGCTGTAGGAATCTGGC

rs1229984R: TTGACTGTAGTCACCCCTTCT

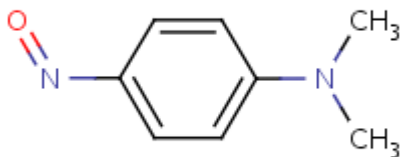
Restriktáza *SspI*

**rs698** - ADH1C\*349Ile

rs698F: GGCTAAGAAGTTTTCACTGGA

rs698R: GCCGCTACTGTAGAATACAAAG

## Měření aktivity



Pyrazol – inhibitor reakce

## 2. fáze biotransformace

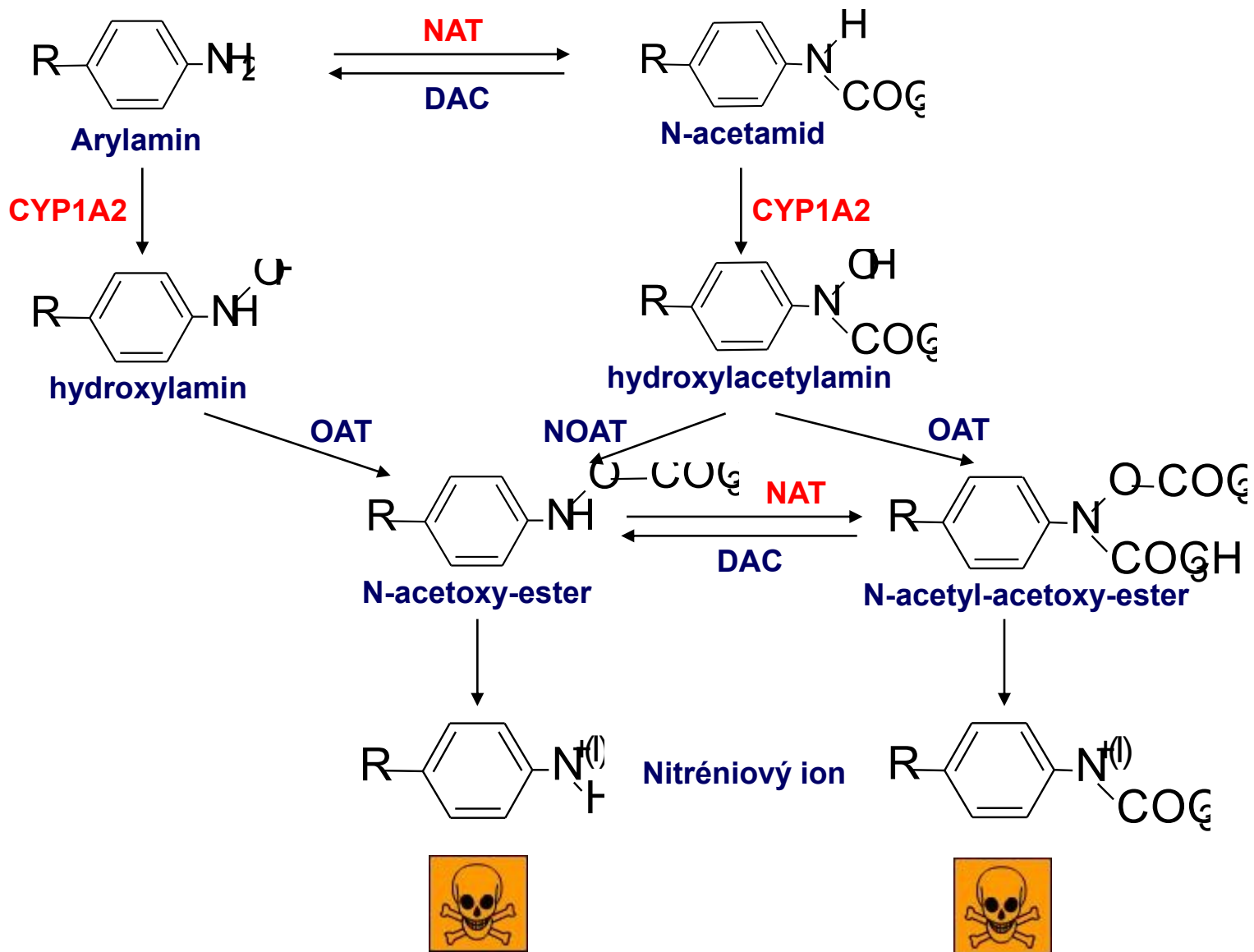
- Xenobiotikum se přes polární funkční skupinu navázanou v první fázi váže na vysokomolekulární endogenní konjugační činidlo
- Konjugát má obvykle menší biologickou aktivitu, vyšší rozpustnost ve vodě a vyšší molekulovou hmotnost než původní látka (metabolit z 1. fáze)

### Obvyklé konjugační reakce:

- konjugace s k. glukuronovou
- sulfátová konjugace
- glycinová konjugace
- acetylace (N-acetyltransferáza)
- metylace
- glutathionová konjugace (Glutathion-S-transferáza)

## **Acetylace pomocí N-acetyltransferáz (NAT1 a NAT2)**

- **důležitá metabolická cesta pro látky obsahující aminoskupinu ve své molekule**
- **arylaminy, heterocyklické a aromatické aminy, atd.**

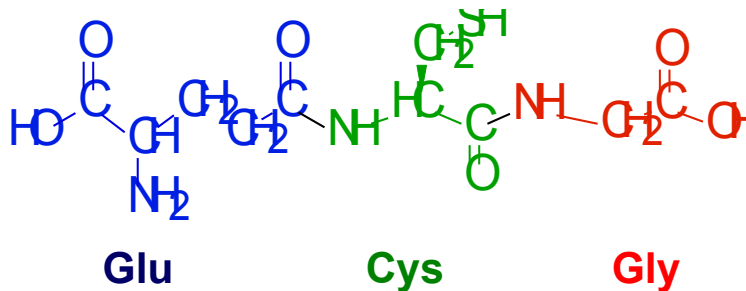


- pomalý „acetylátoři“ jsou především pozorováni v oblastech, kde se objevilo prvně zemědělství
- přechod k zemědělství zřejmě ovlivnil expozici ke xenobiotikům a následný selekční tlak zvýhodnil tzv. pomalé „acetylátory“



# Konjugační reakce s glutathionem katalyzovaná Glutathion-S-transferázou (GST)

- největší význam má membránově vázaná GST, protože se vyskytuje v blízkosti CYP450



= Glutathion (GSH)