

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

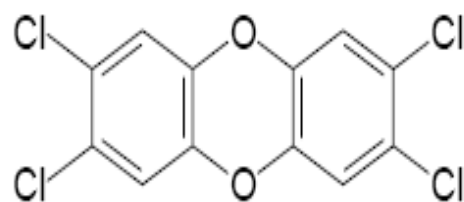
Xenobiotika - látky cizorodé organismu

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

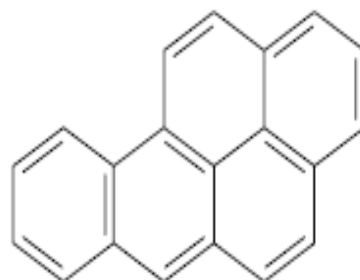
Eobiotika - látky vlastní organismu

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

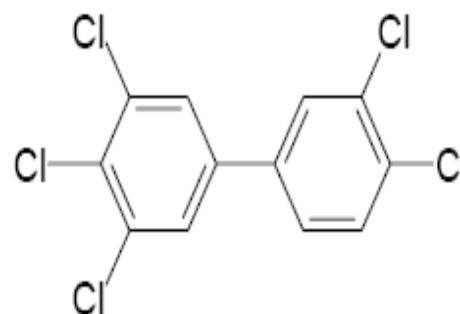
Příklady xenobiotik



TCDD

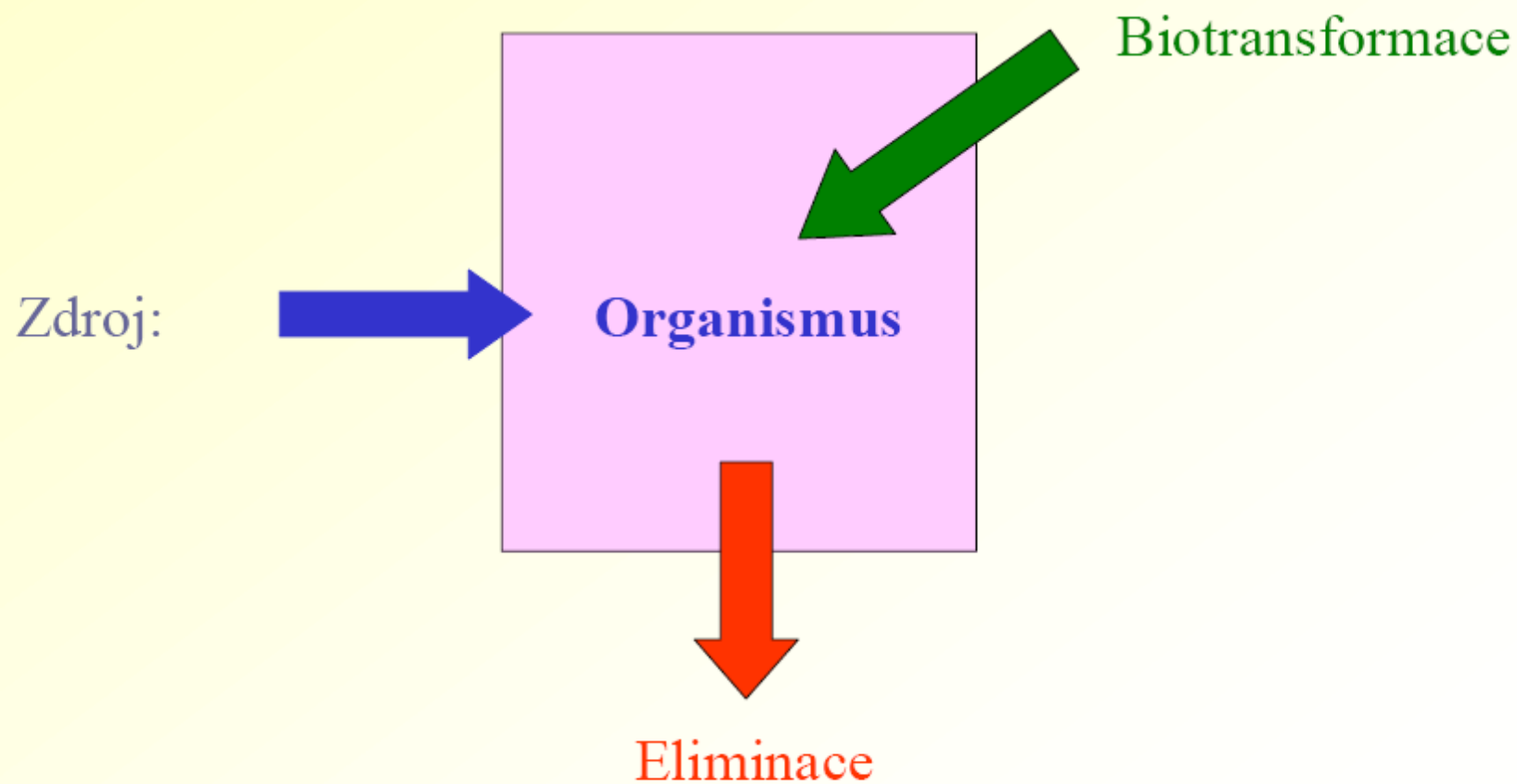


benzo[a]pyren



PCB

Osud xenobiotik:

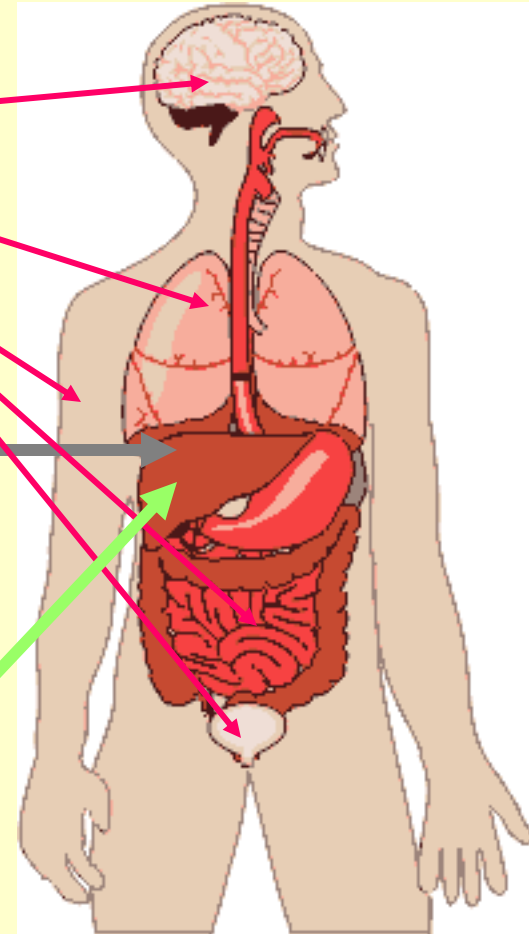


Metabolismus xenobiotik

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

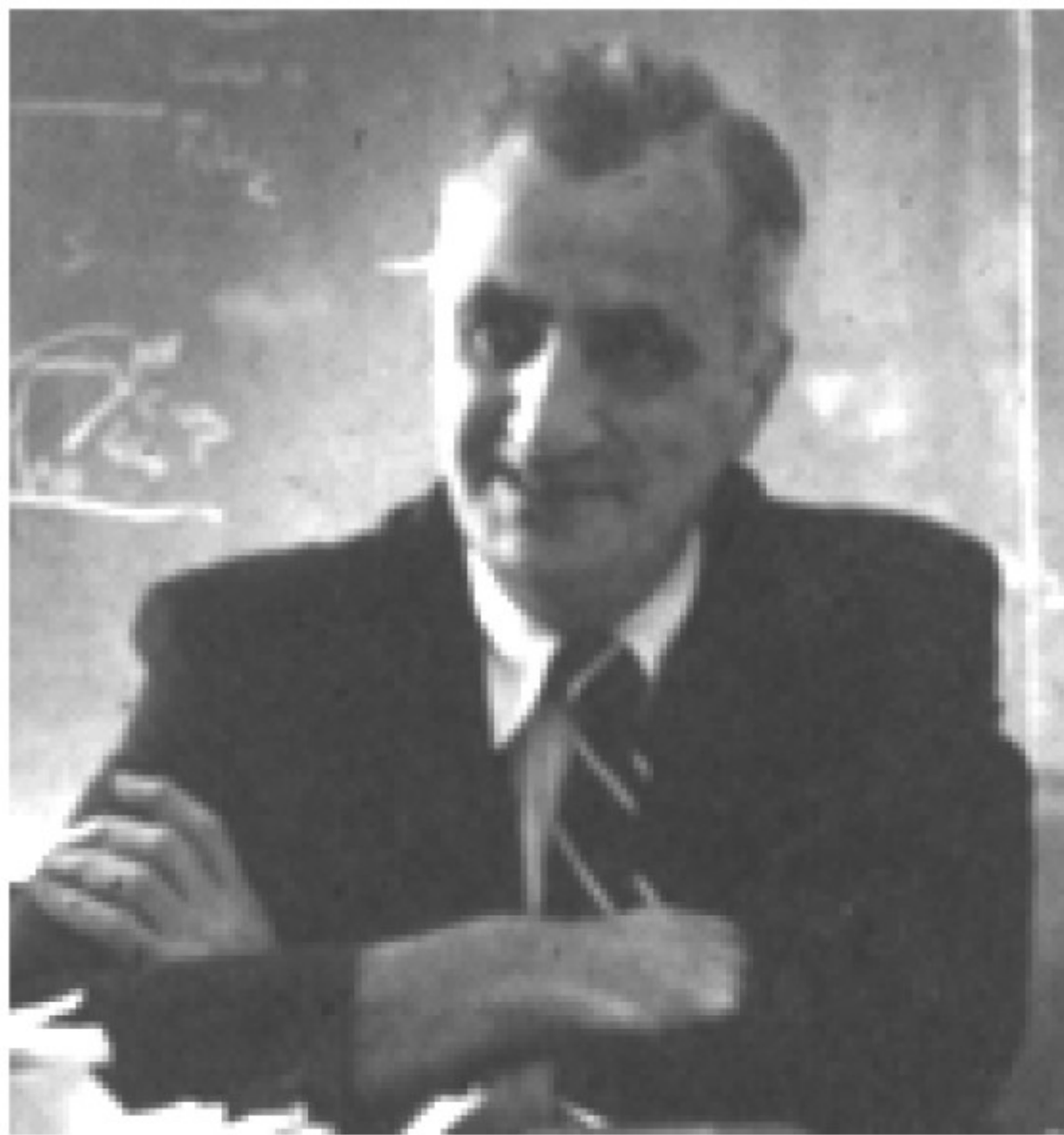
Látky pro zemědělství a průmysl (pesticidy, herbicidy, pigmenty, konzervační látky, polychlorované bifenyly)

Synteticky připravené látky pro použití lidmi, včetně léčiv

Vstup do organismu: zažívací trakt, plíce, kůže

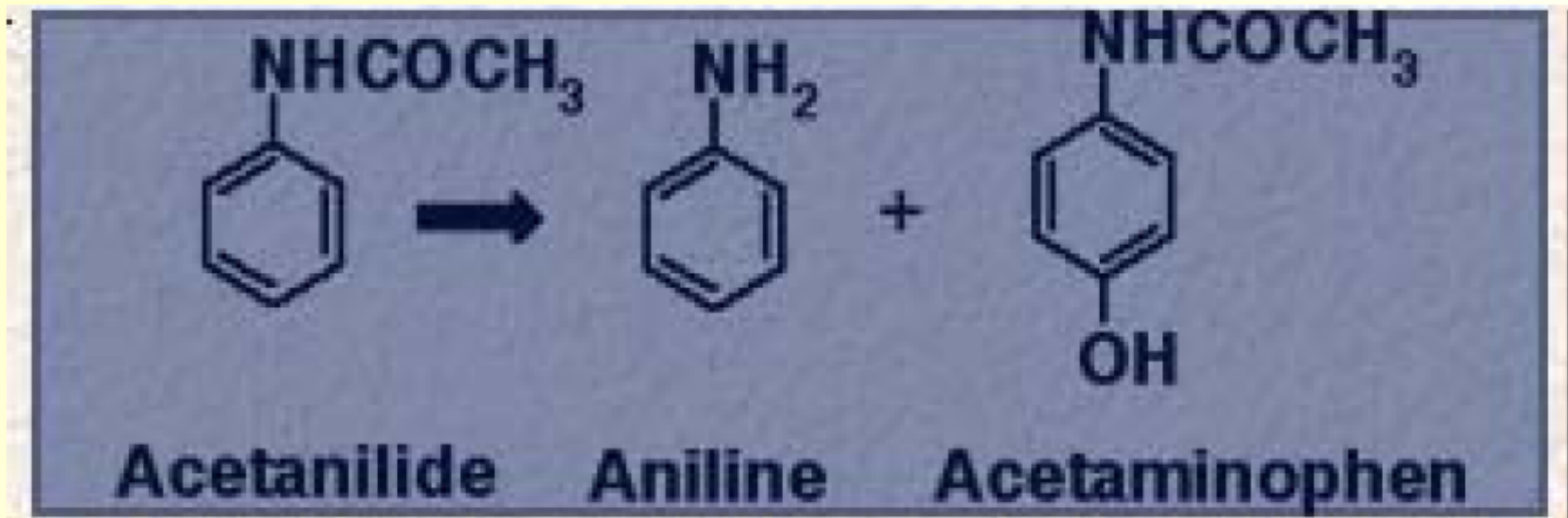
Vyloučení z organismu: močí, stolicí, plícemi, kůží

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



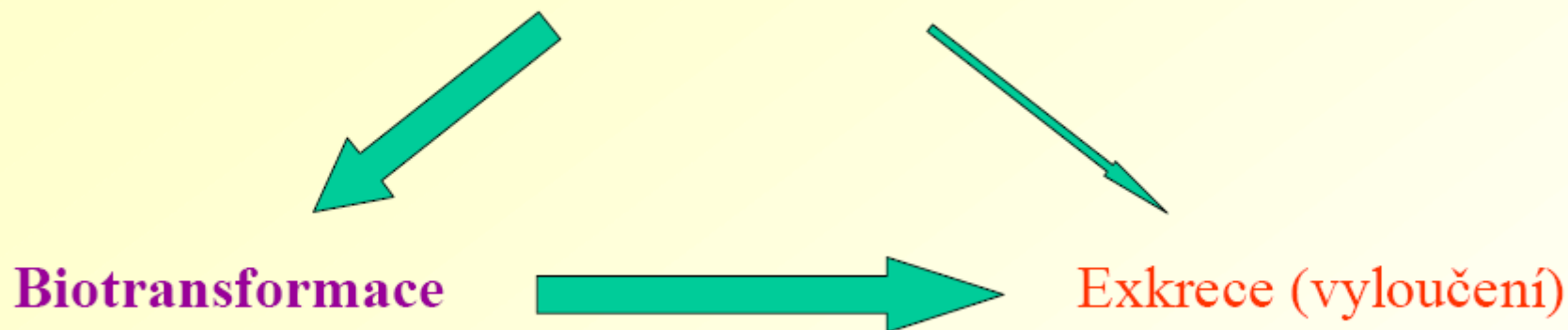
Bernard B. Brodie
„Otec xenobiochemie“

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:

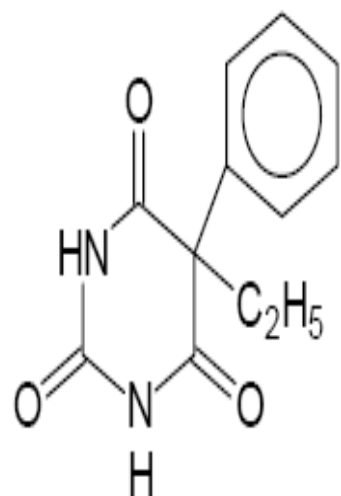


Smysl biotransformace:

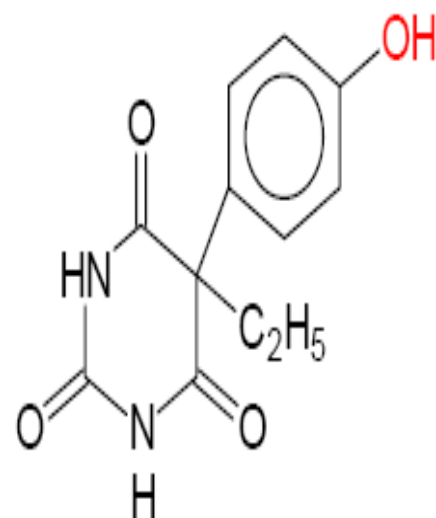
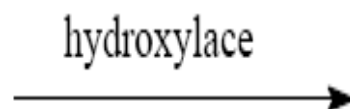
- Detoxikace látek
- Snížení účinku
- Někdy zvýšení účinku (pro-látky → látky)
- Zvýšení rozpustnosti → usnadnění exkrece

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

Deaktivace

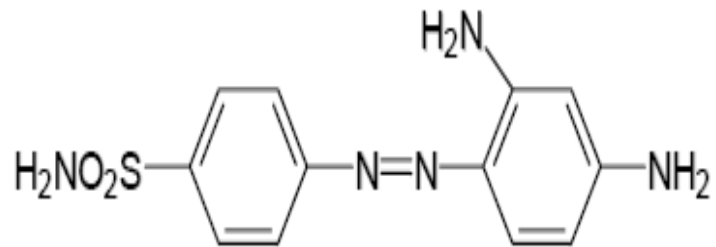


fenobarbital
hypnotický účinek



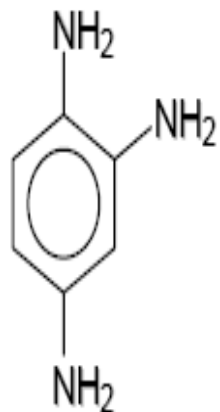
4-hydroxyfenobarbital
ztráta hypnotického účinku

Aktivace

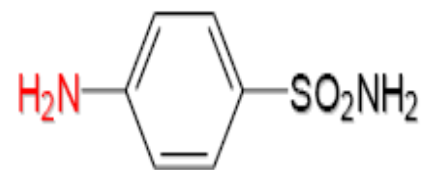


Prontosil

redukce

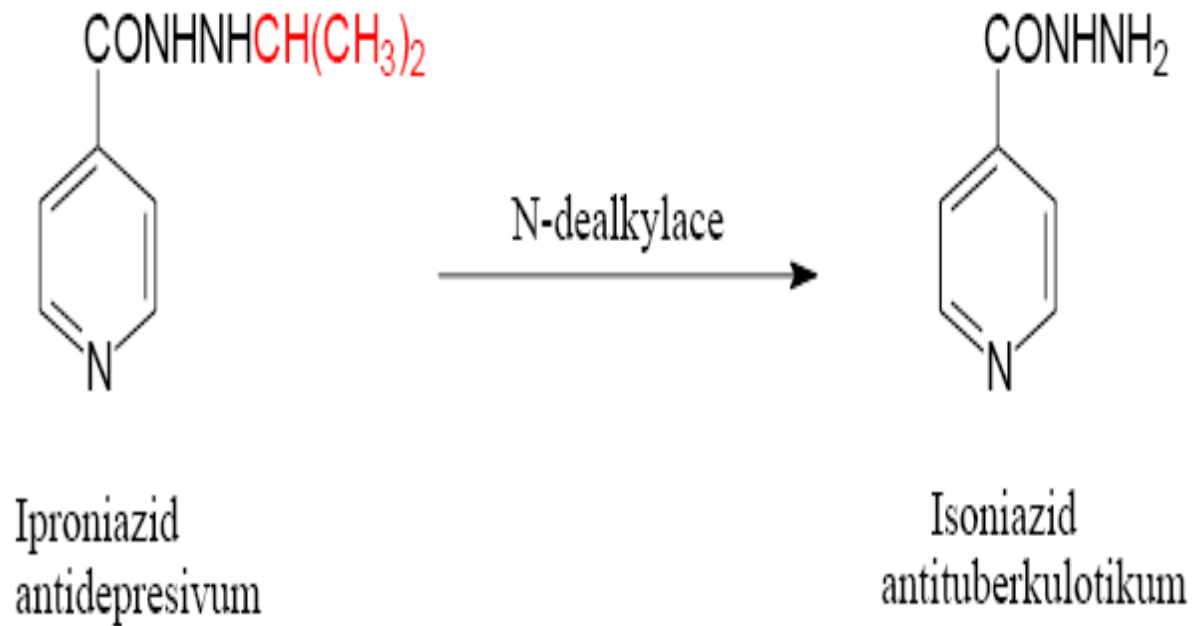


+



Sulfanilamid
antibiotikum

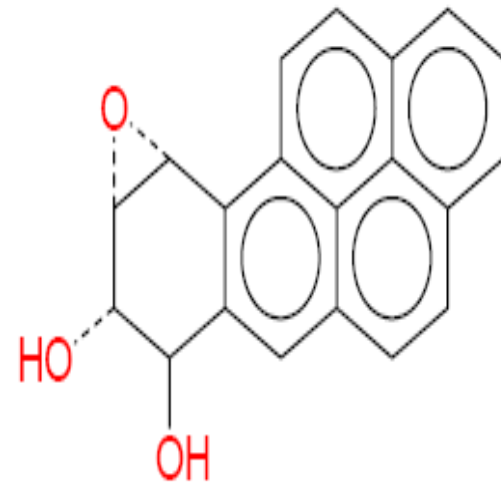
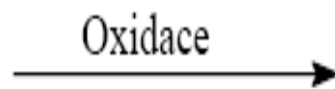
Změna účinku



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,
hydrolýza, 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

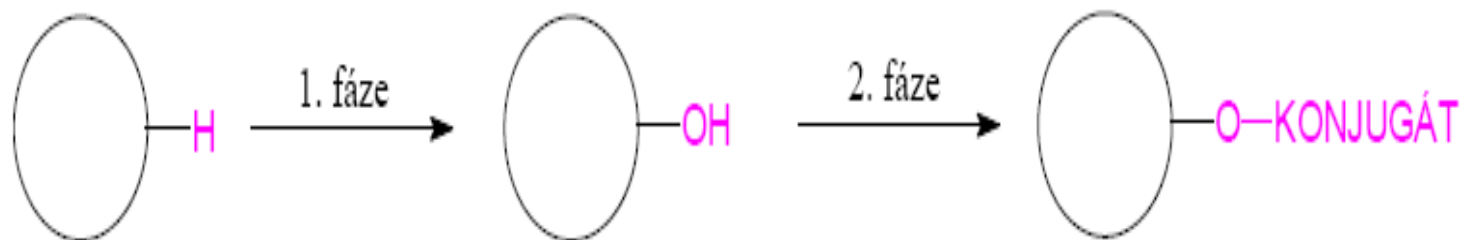
Lipofilita látky:



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. arylesterasy, karboxyesterasy, acetylerasy, cholinesterasy)

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

Enzymy 2. fáze

UDP-Glukuronyl transferasa

Sulfotransferasy

N-, O-, S- methyltransferasy

Glutathion-S-transferasy

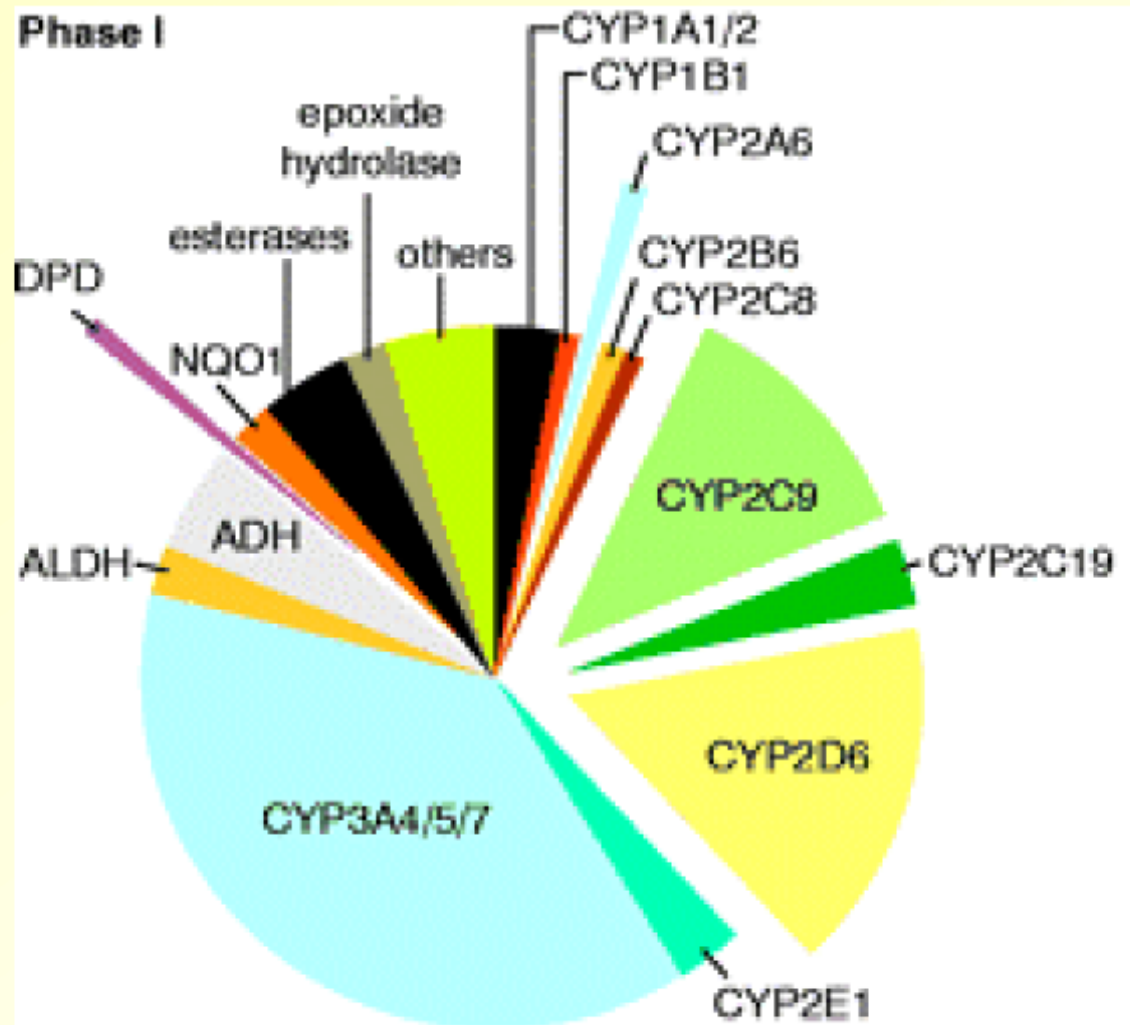
Acytransferasy

Rhodanasa

Thiotransferasy, aj.

PHASE I ENZYMES

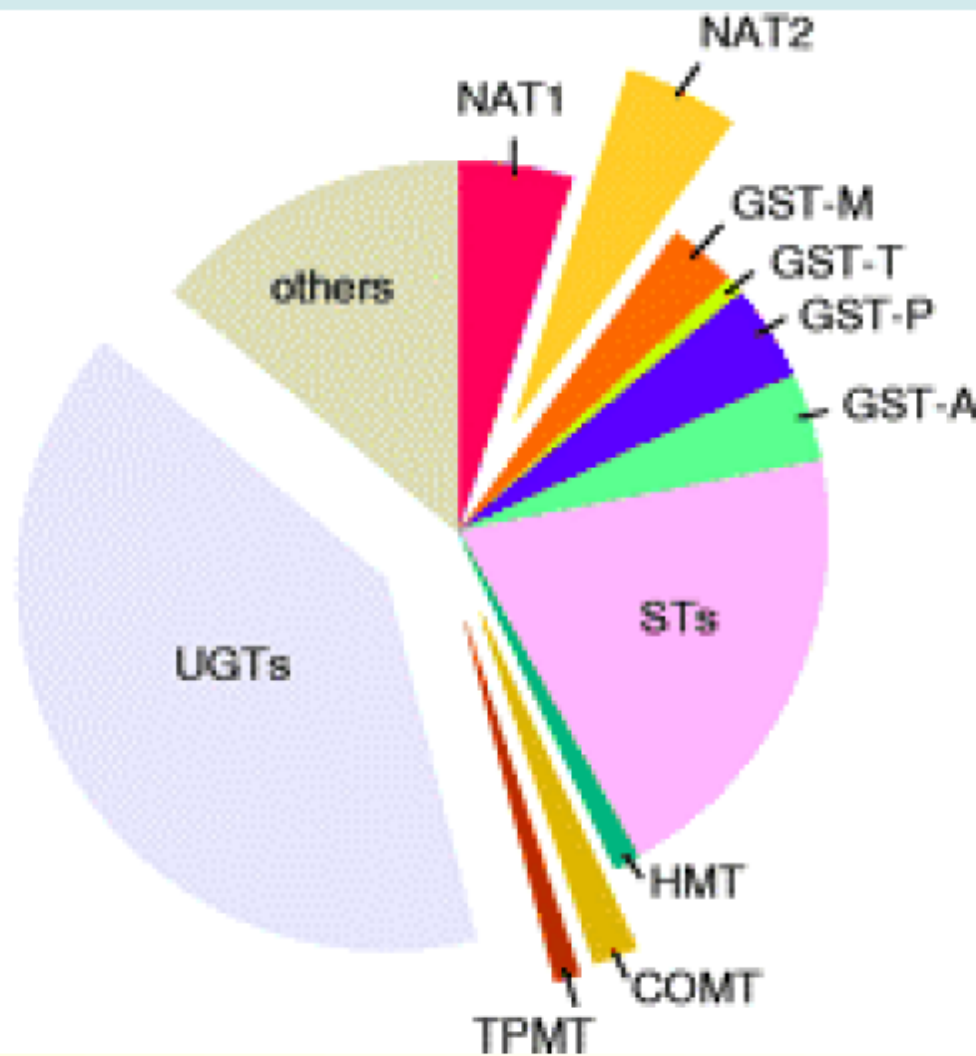
how many compounds do they metabolize?



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?



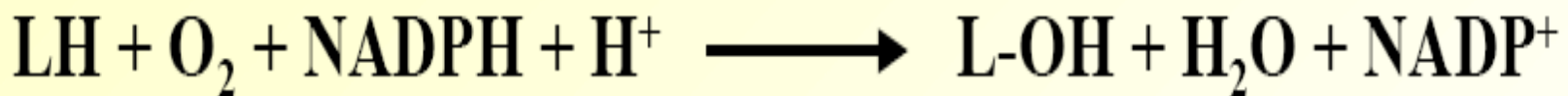
From: Evans WE, Relling MV. Pharmacogenomics: Translating functional genomics into rational therapeutics. *Science* 286:487-491, 1999.

Cytochrom P450 monooxygenázový systém (CYP)

- Hlavní enzymový systém účastnící se na reakcích Fáze I.
- Obsahuje **hem** jako redox-aktivní koenzym.
- Jméno odvozeno z nálezů, že redukovaná 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.

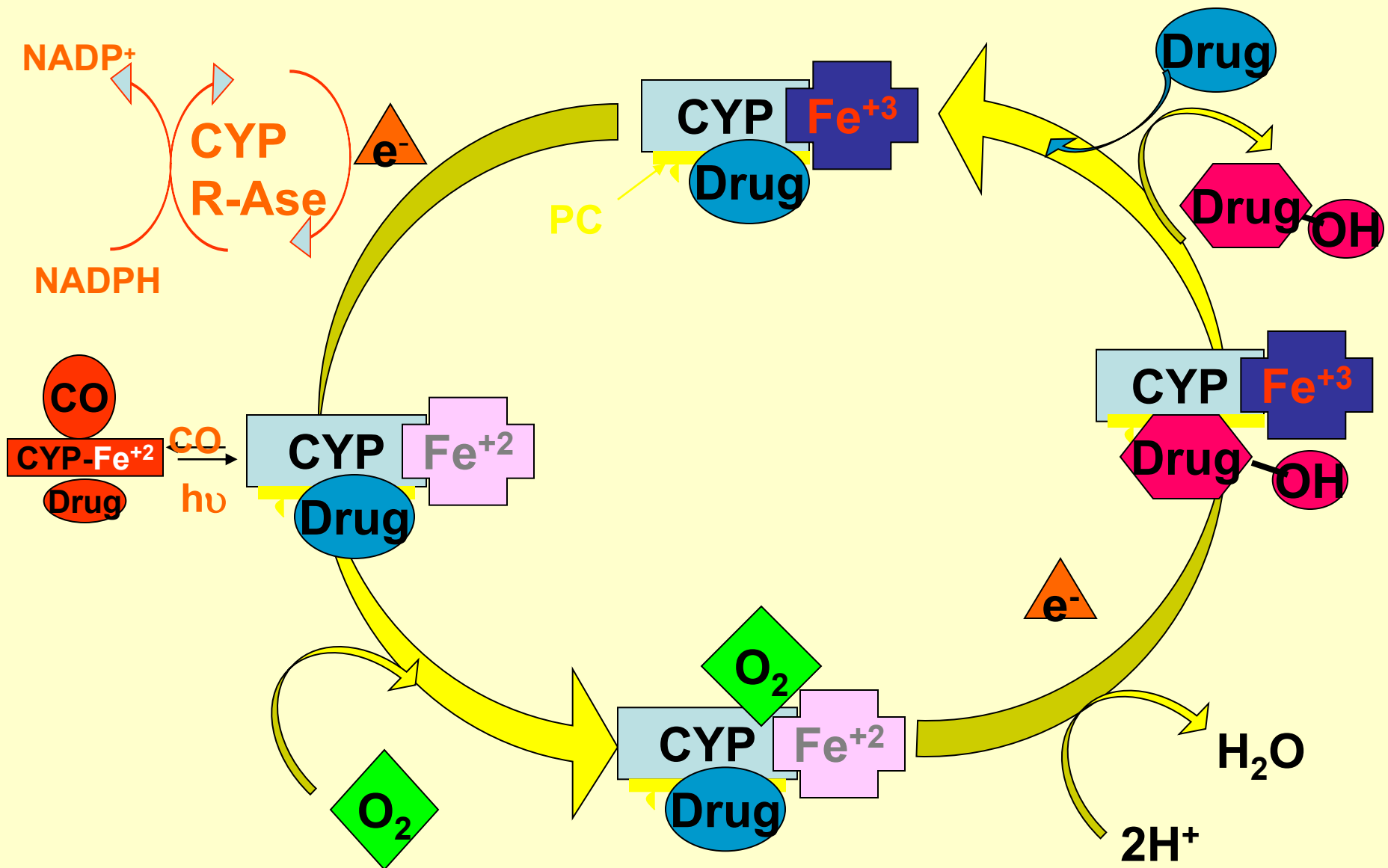
P450 reduktáza má za úkol dodat elektrony k aktivaci kyslíku (odebírání je z NADPH).

Cyt P450 monooxygenázový systém

= přenos jednoho atomu kyslíku

Oxidativní reakce katalyzované tímto systémem vyžadují:

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



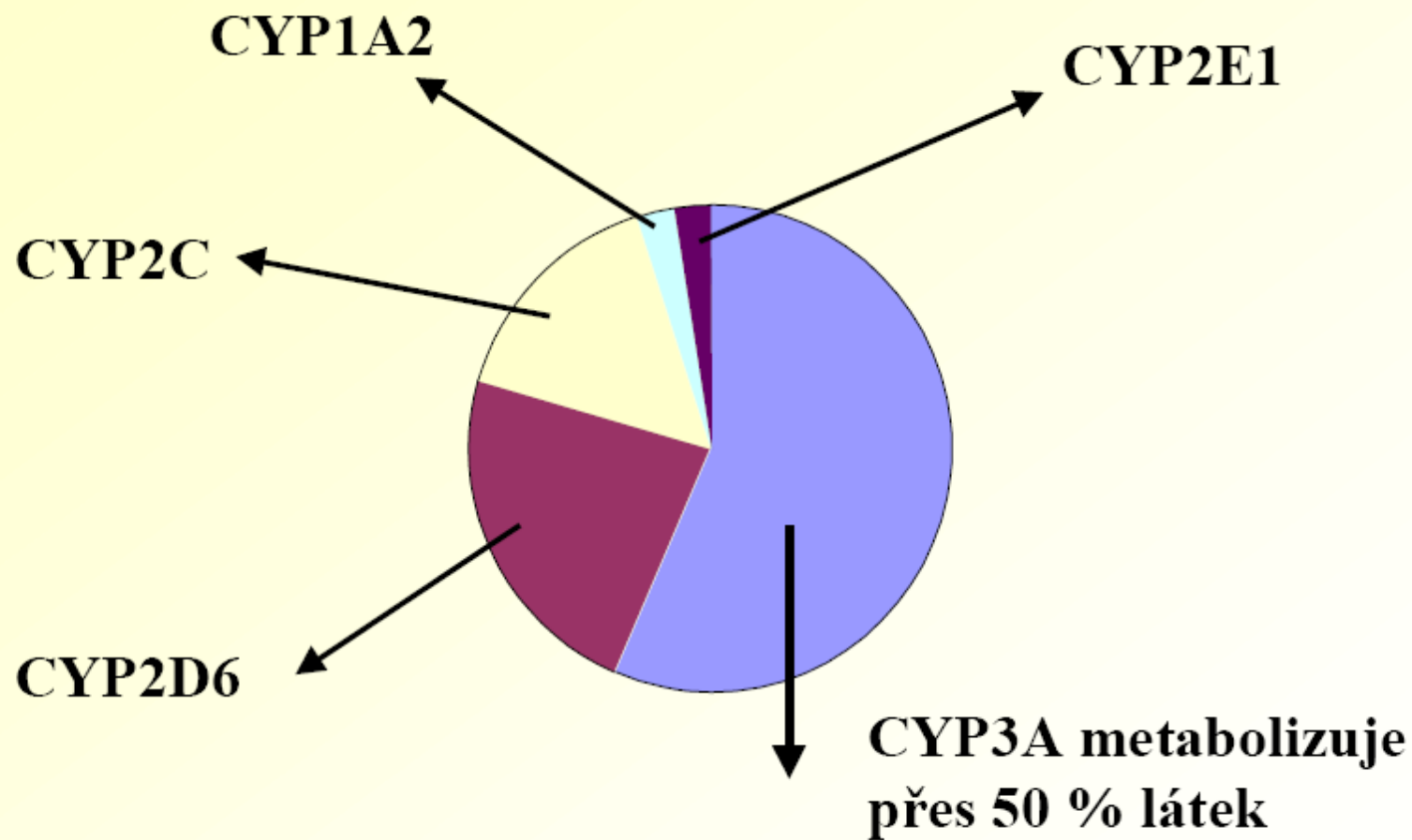
Transport elektronů v mikrosomálním systému

Klasifikace enzymů patřících mezi cyt P450

Existuje přes 1000 izoform 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**.

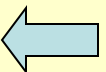




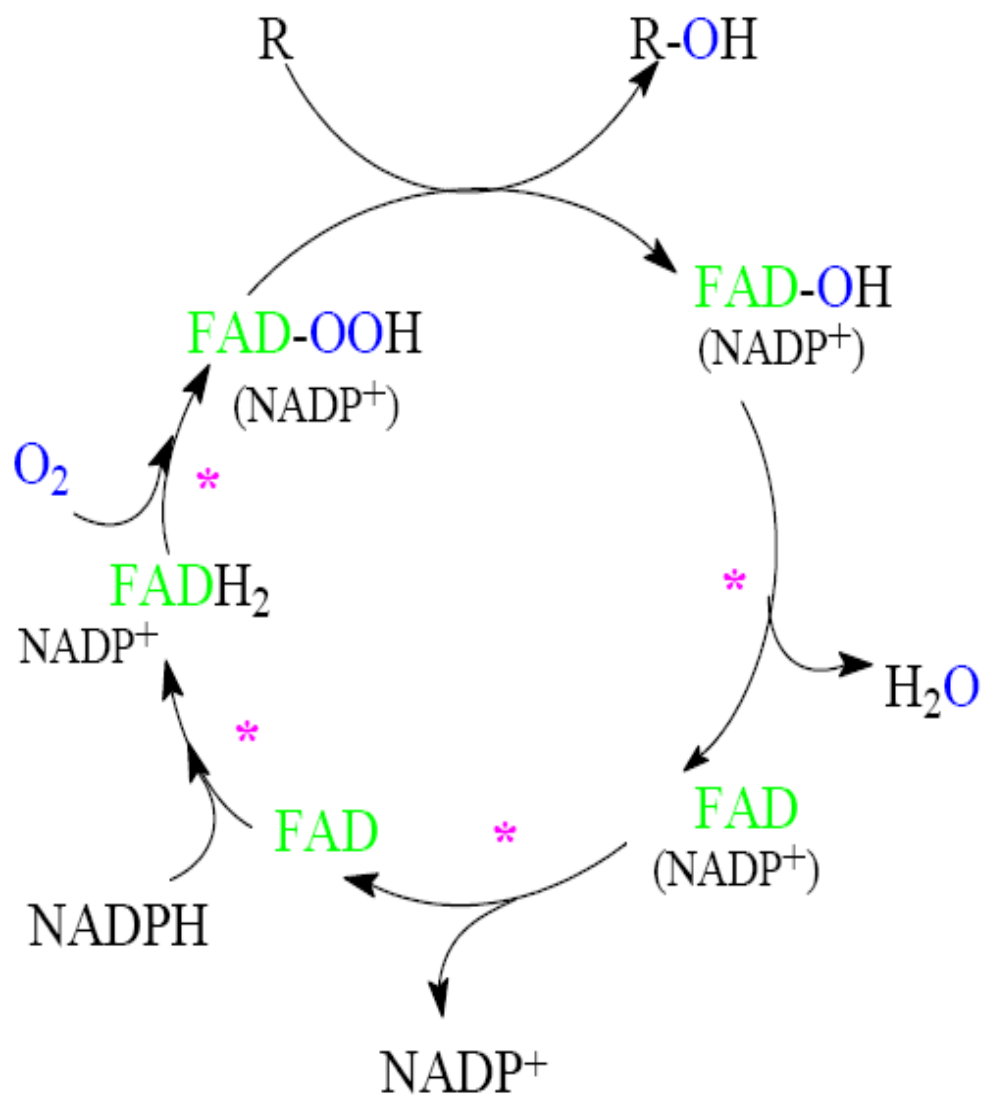
Proporce xenobiotik metabolizovaných hlavními cyt P450.

Účast P450 v metabolismu důležitých léčiv

CYP Enzyme	Participation in Drug Metabolism (%)	Examples of Substrates
2C8, 9	15.8	Tolbutamide, Difenac (S)-Verapamil, Phenyton Hexobarbital
2C18, 19	8.3	Diazepam, Oreprazole (S)-Mephenyton
2D6	18.8	Cocaine, Debrisoquine Dextromethorphan "Ecstasy", Bufuralol, Sparteine
3A4, 5	34.1	Carbamazepine, Cortisol Dapsone, Diazepam Erythromycin, Mibazepam Nifedipine, Oreprazole Testosterone



FLAVINOVÉ MIKROSOMÁLNÍ MONOOXYGENASY

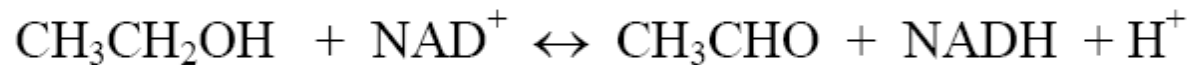


Alkoholdehydrogenasy (ADH)

Koenzymem je 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

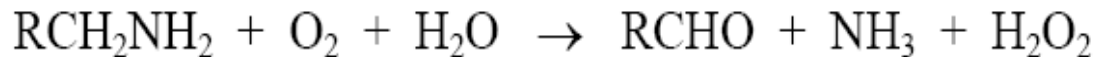


Aldehyddehydrogenasy

- 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).



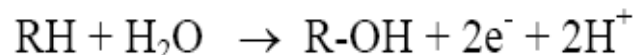
Podílejí se na kontrole hladin některých neurogenních aminů (serotonin).

Diaminoxidasa

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

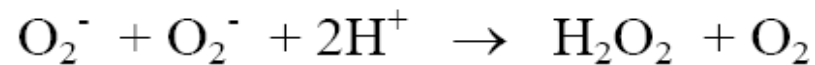
Xantinoxidasa

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.

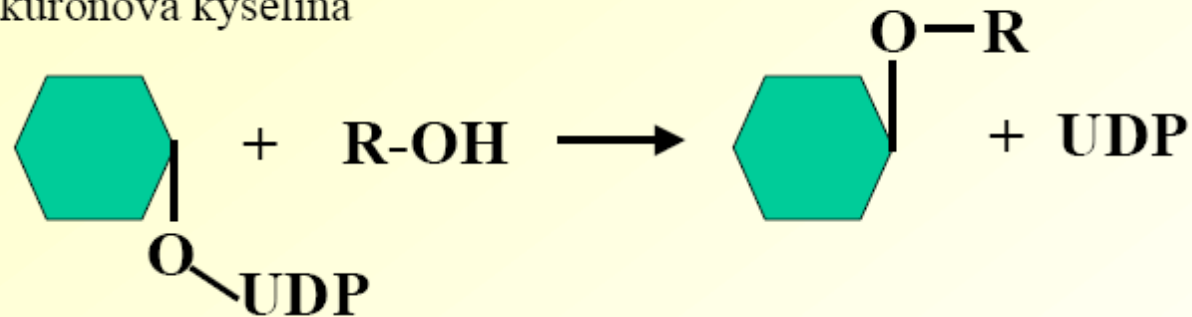
Konjugační reakce:

- **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

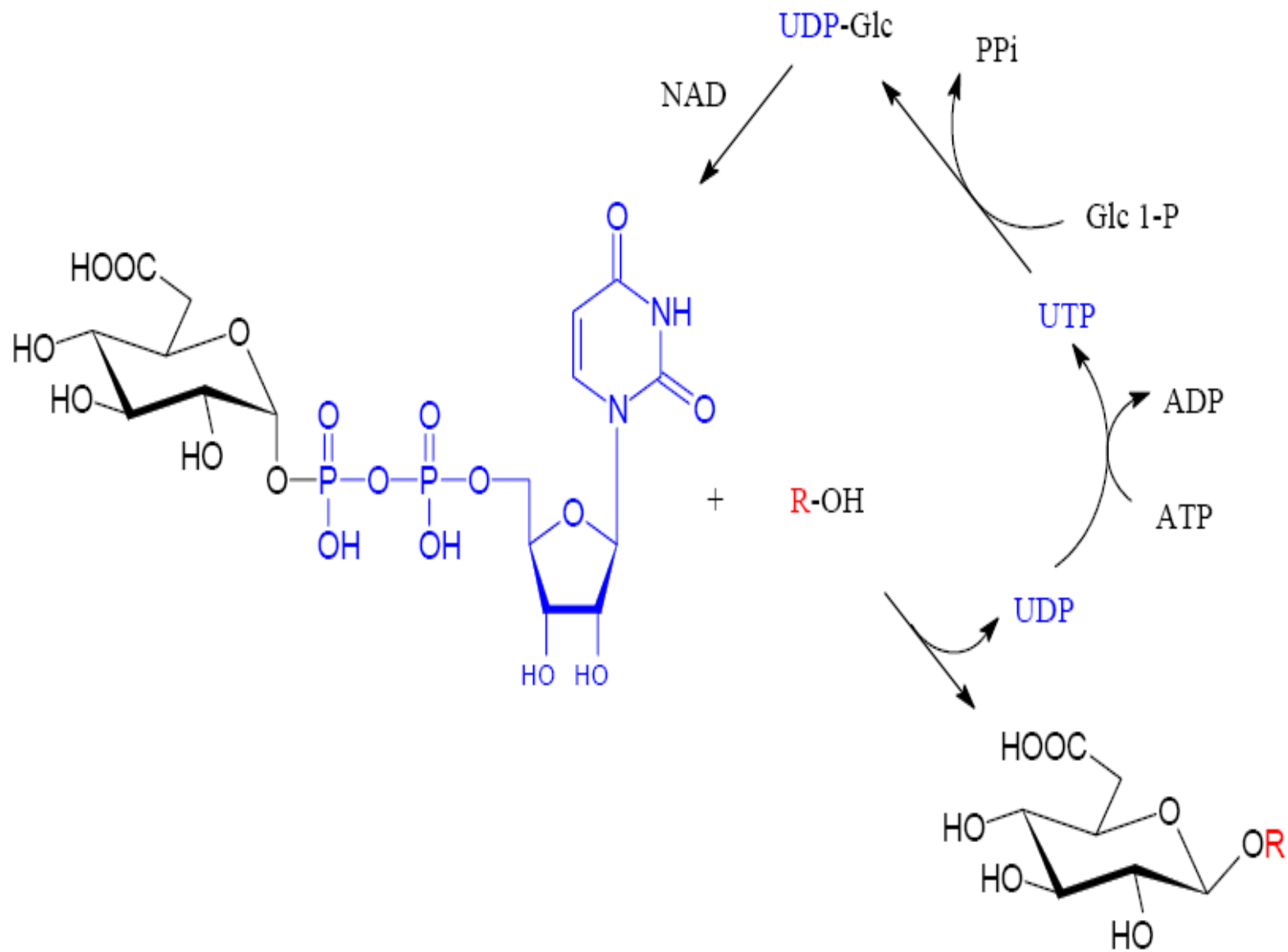


(paracetamol, morfin, diazepam)

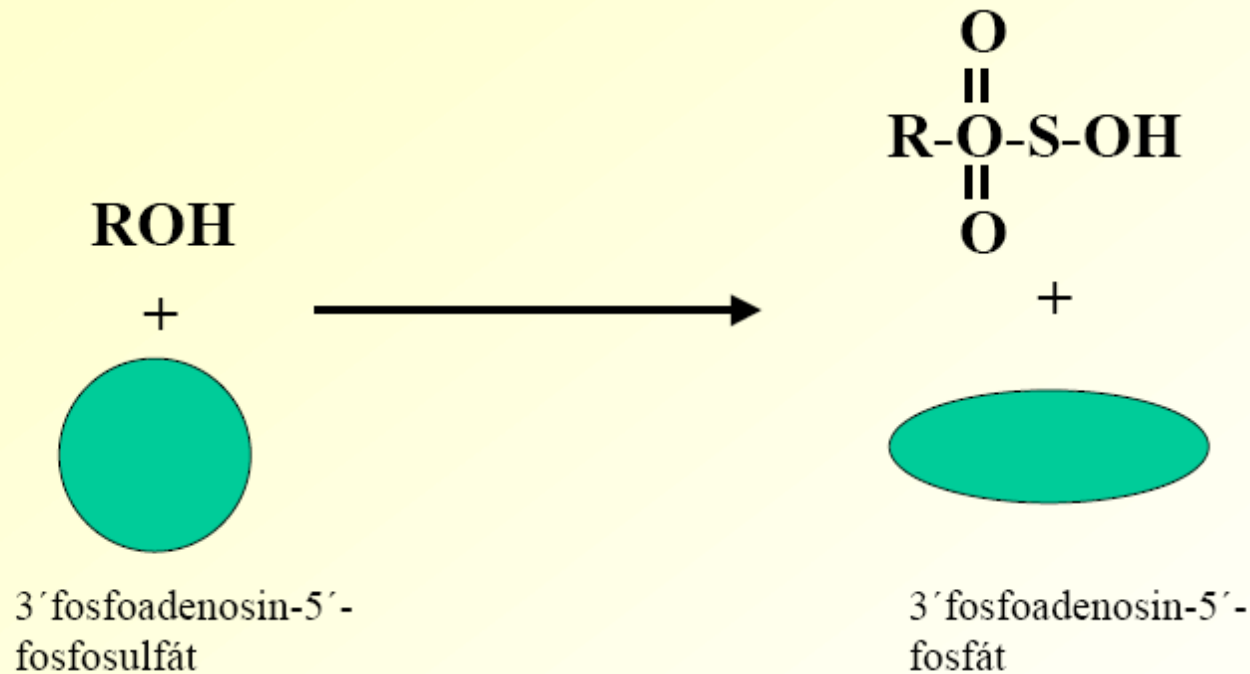
Enzym: UDP-glukuronosyltransferáza

(játra, střevo, ledviny, mozek a kůže)

Tvorba a regenerace UDP-glukuronátu



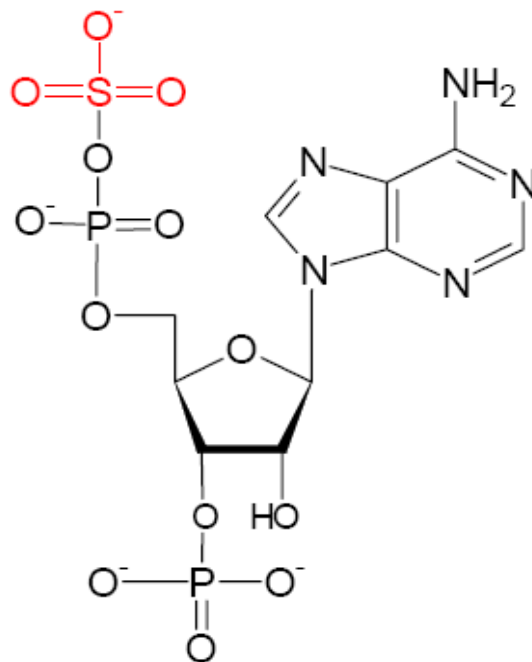
Sulfatace:



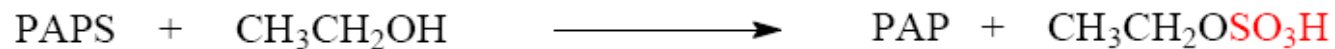
(Přenos sulfátu z donoru na OH skupiny fenolů i alifatických alkoholů, např. u paracetamolu, steroidů, methyldopy.)

Sulfátová konjugace

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

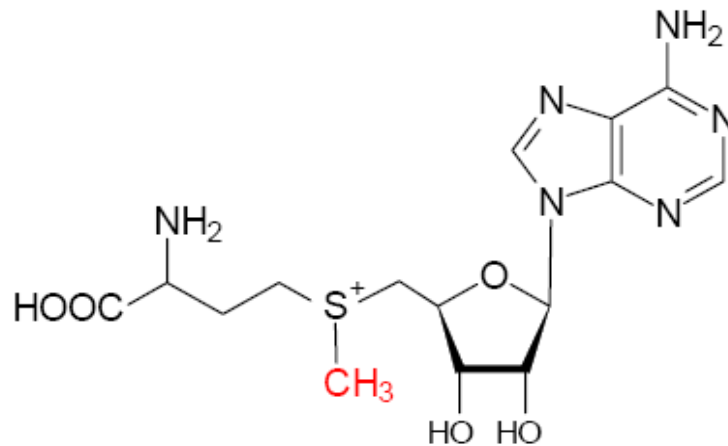


3'-fosfoadenosin 5'-fosfosulfát
(PAPS)



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

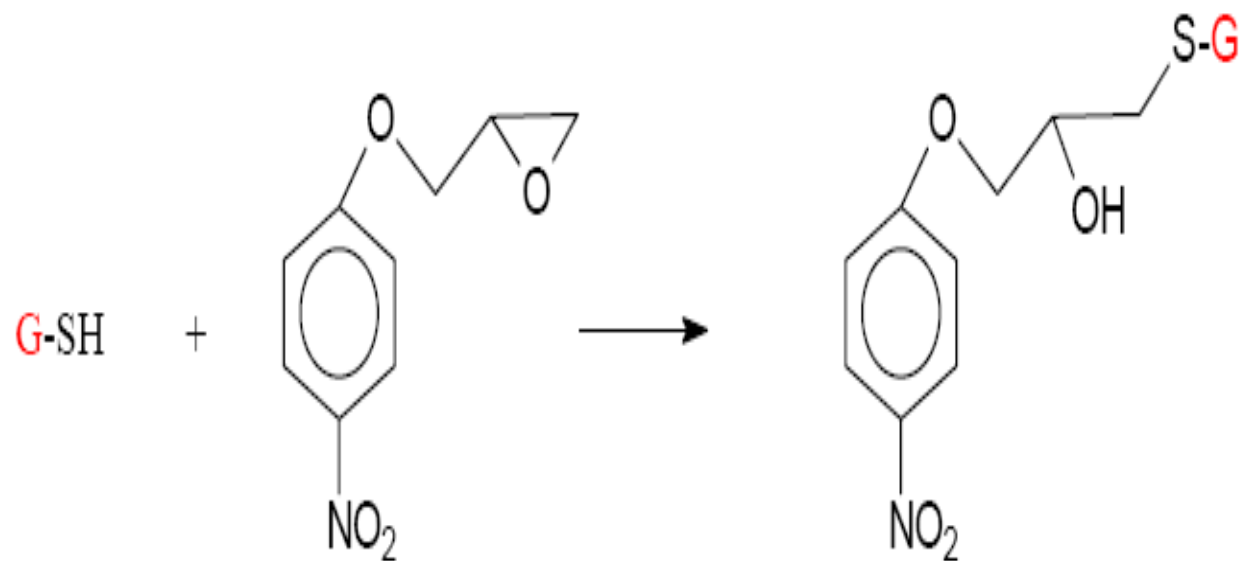
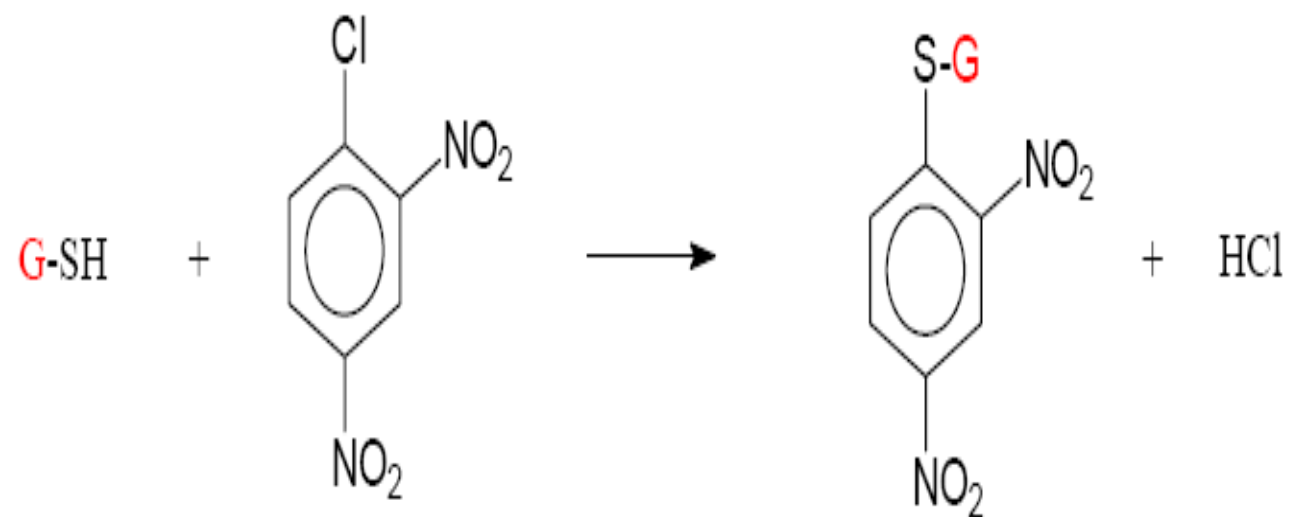
Konjugace s glutathionem:

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.

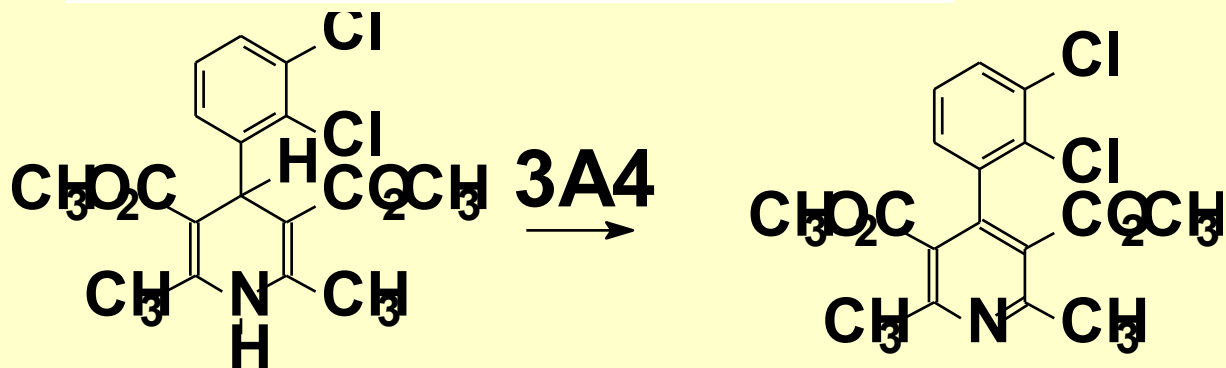
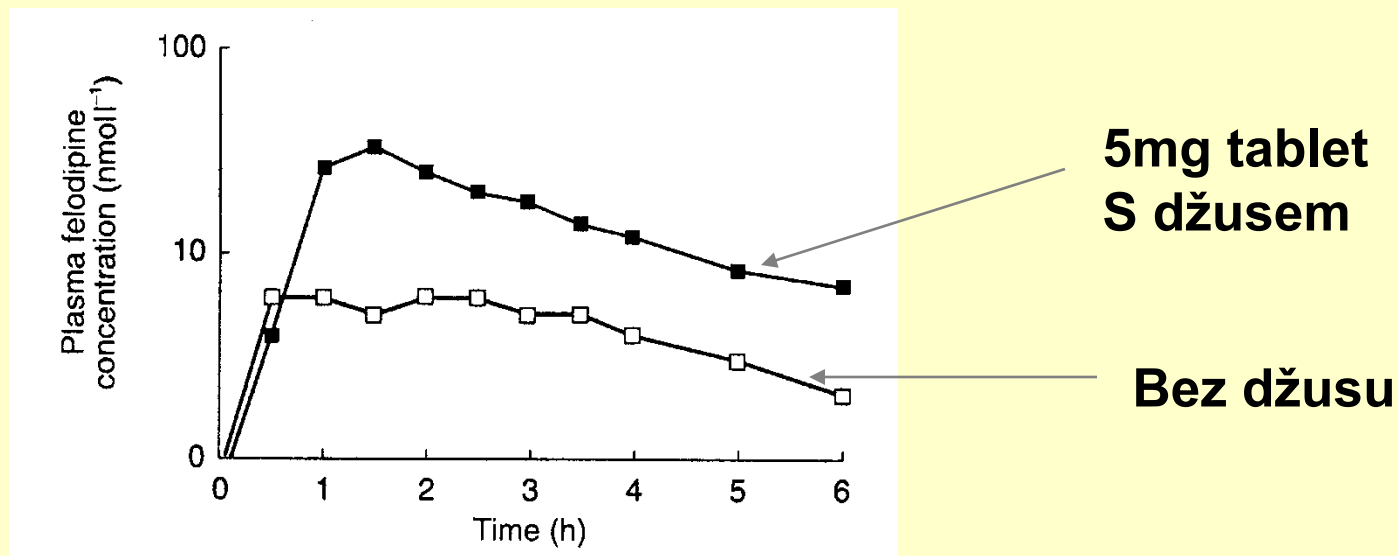
Zvýšená syntéza Cyt P450 \longrightarrow zvýšená biotransformace.

(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)**

Vliv grapefruitového džusu na koncentraci Felodipine v plasmě



Biotransformace xenobiotik a možné poškození buněk

