

# Stanovení genotypu a aktivity alkohol dehydrogenasy z krve

C7195 - Pokročilé praktikum z biochemie

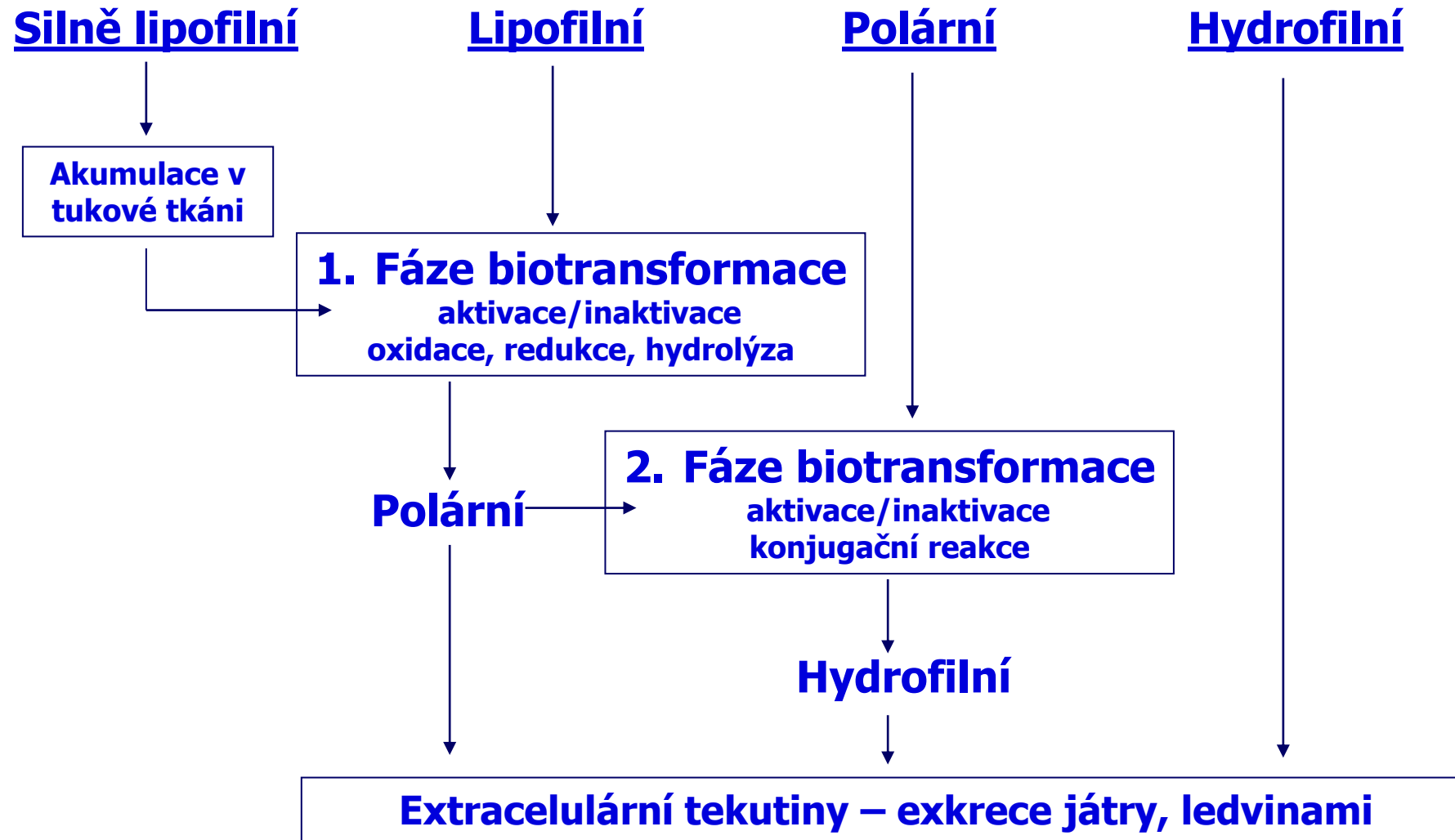
## **Xenobiotika (xenos = cizí)**

- 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



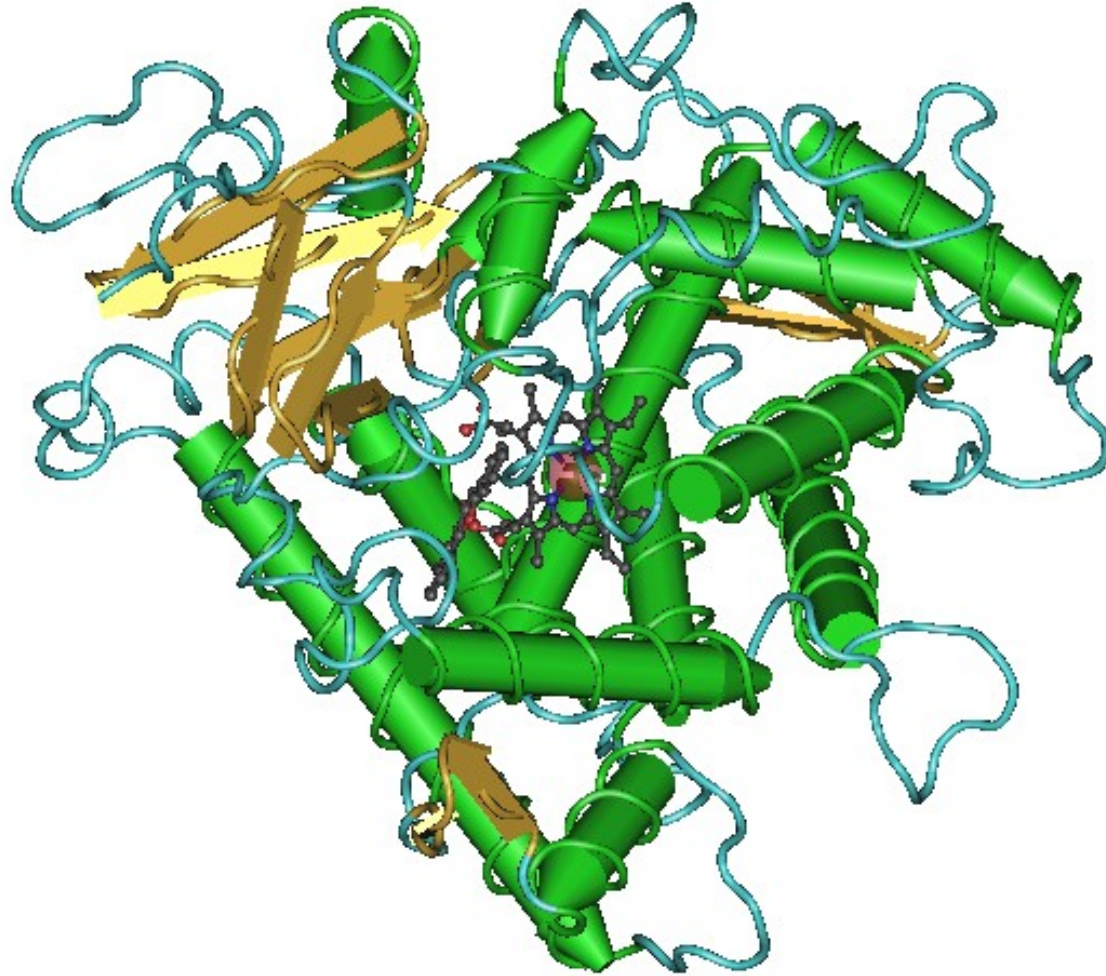
# 1. fáze biotransformace

- 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:**

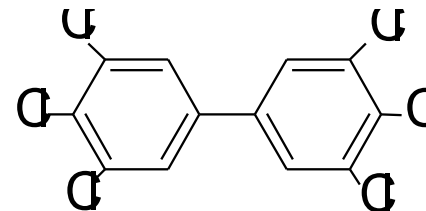
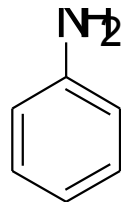
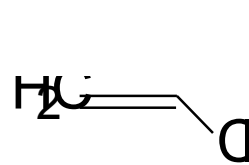
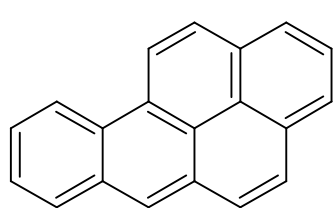
- cytochrom P - 450 (CYP450)
- alkoholdehydrogenáza (ADH)
- monoaminoxidázy a diaminoxidázy (MAO)

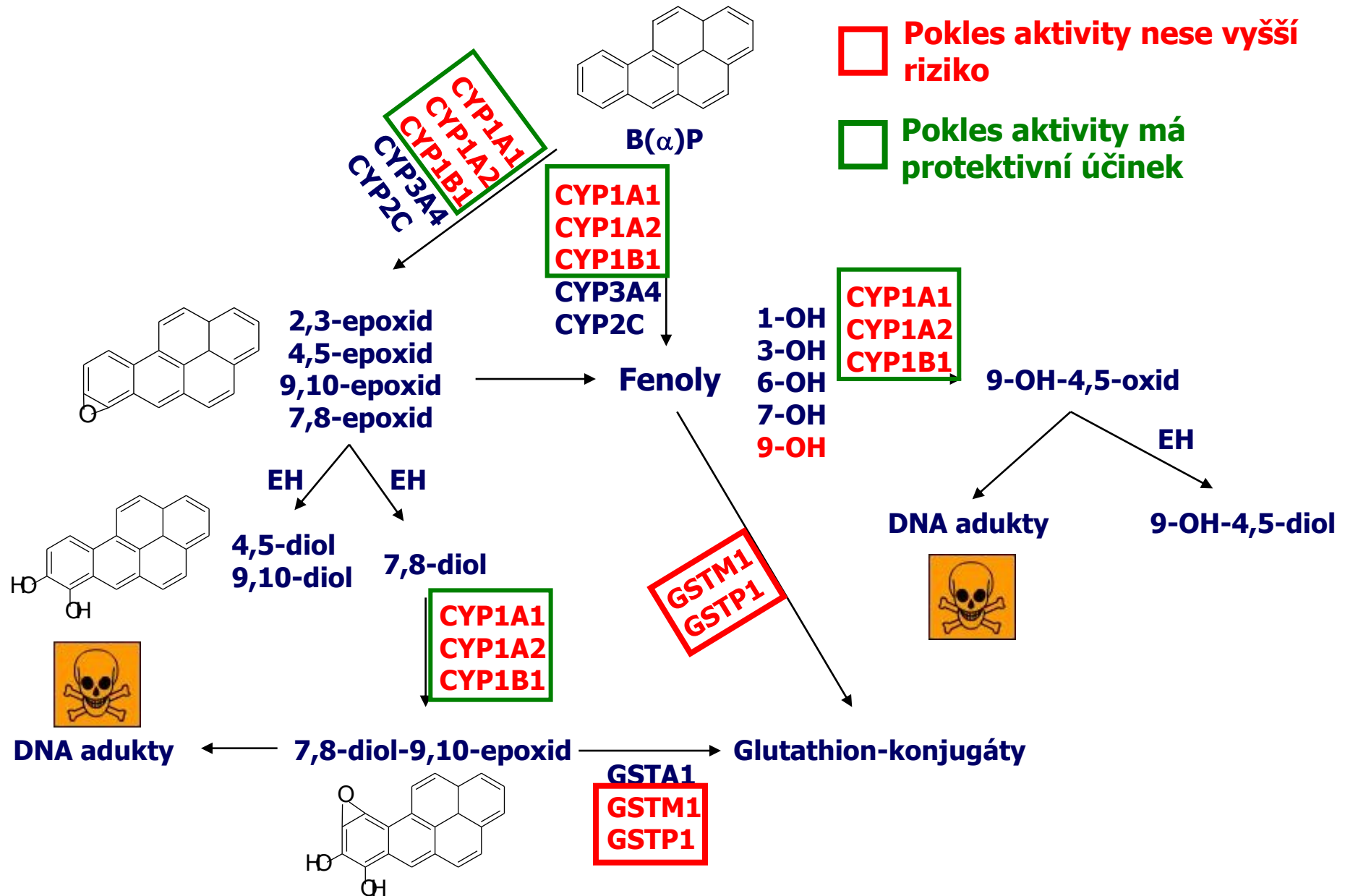
# Cytochrom P450



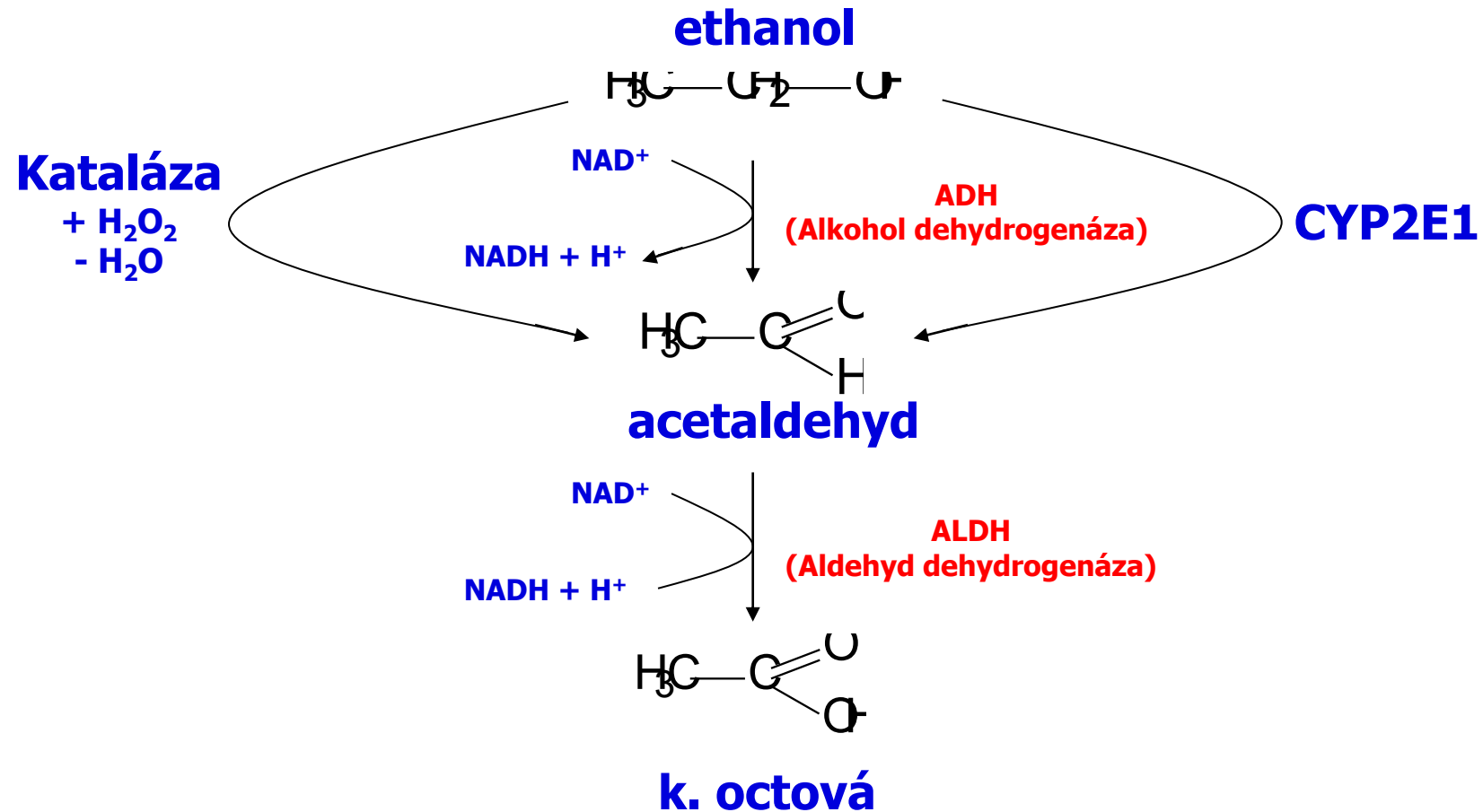
# Oxidace katalyzované CYP450

- Hydroxylace alifatických a aromatických uhlovodíků (benzén a jeho deriváty, PAHs, aflatoxiny, alkany, PCB)
- Epoxidace nenasycené dvojně vazby (styren, 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)





# Zkoumaný polymorfismus

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

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

## **Genotyp analyzován pomocí PCR a restrikční analýzy**

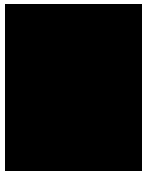
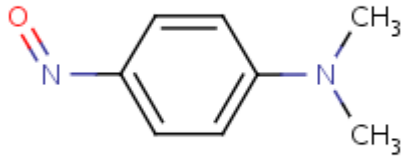
Restriktáza *Ssp*I

**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)**

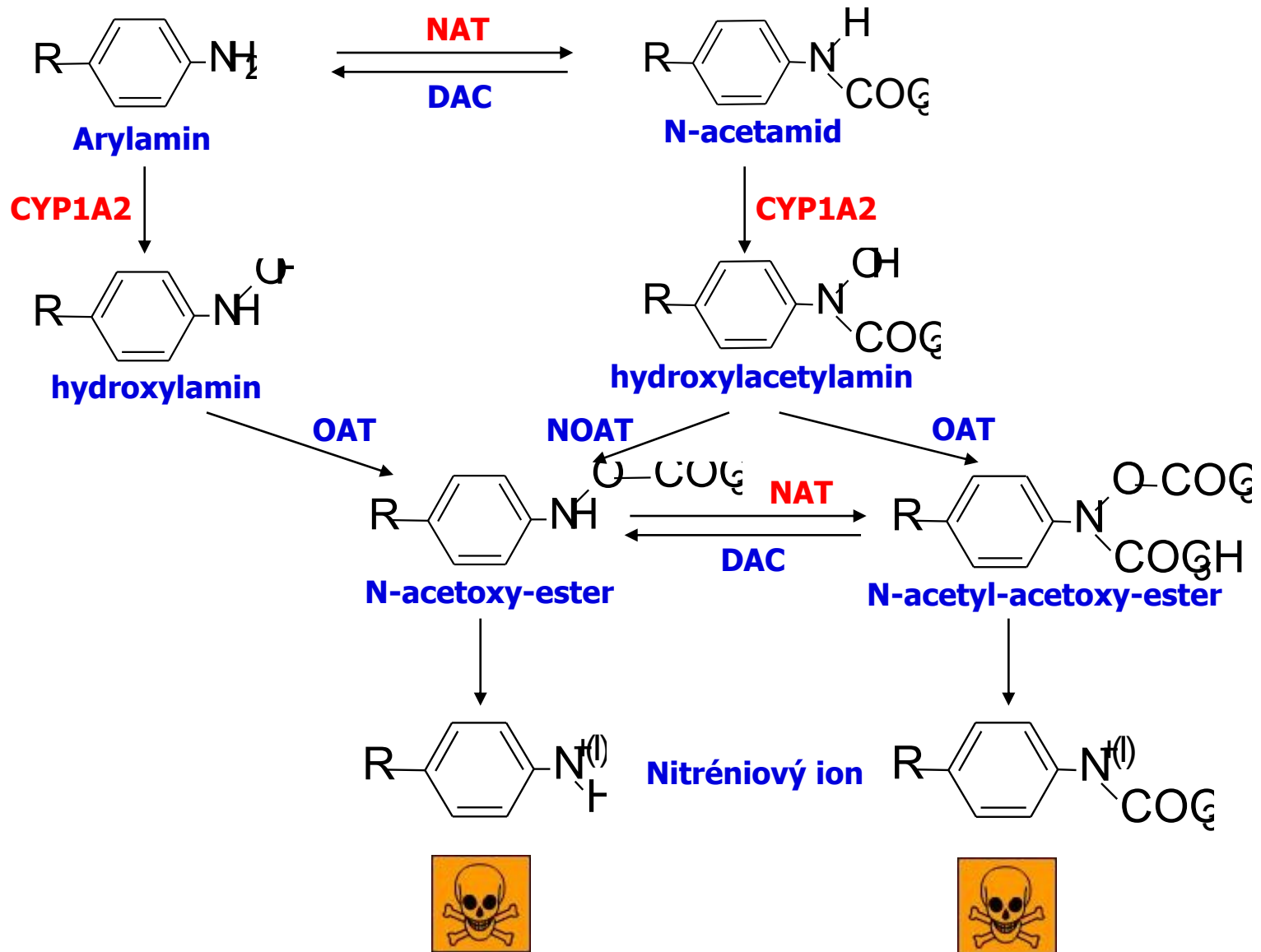
## Obvyklé konjugační reakce:

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

# 2. fáze biotransformace

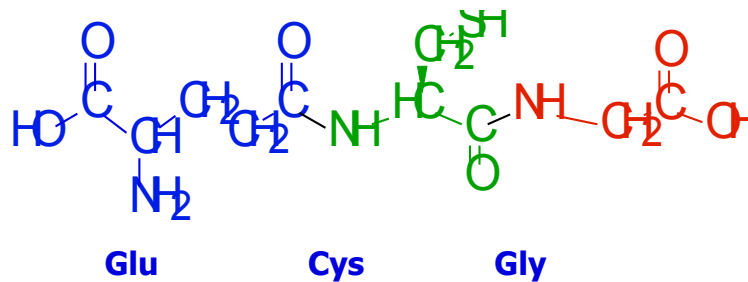
## Acetylace pomocí N-acetyltransferáz (NAT1 a NAT2)

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



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

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



= Glutathion (GSH)