Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Exprese cytochromů P450 v mozku a jejich role v metabolismu endogenních látek

Lucie Mikulíčková

Bakalářská práce

2017

University of Pardubice

Faculty of Chemical Technology

Expression of Cytochromes P450 in the brain and their role in the metabolism of endogenous substances

Lucie Mikulíčková

Bachelor thesis

2017

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: **2015/2016**

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení:	**Lucie Mikulíčková**
Osobní číslo:	**C13355**
Studijní program:	**B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor:	**Zdravotní laborant**
Název tématu:	**Exprese cytochromů P450 v mozku a jejich role v metabolismu endogenních látek**
Zadávající katedra:	**Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování:

1. Studium současné literatury na dané téma, zejména studium odborných článků publikovaných ve vědeckých časopisech .
2. Vypracování rešerše na dané téma v souladu s obecně ustanovenými zásadami Univerzity Pardubice.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Metabolism of drugs and other xenobiotics (2012), editors: P Anzenbacher, U Zanger; published by Wiley, ISBN: 978-3-527-32903-8.

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Michal Šiller, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2015**

Termín odevzdání bakalářské práce: **3. července 2017**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 7. listopadu 2016

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 20. 6. 2017

Lucie Mikulíčková

Poděkování

Chtěla bych poděkovat panu Mgr. Michalovi Šillerovi, Ph.D., za odborné vedení, ochotu a poskytování cenných informací během zpracovávání této bakalářské práce.

Anotace

Bakalářská práce je zaměřena na shrnutí stěžejních informací o cytochromech P450. Teoretická část je rozdělena do tří kapitol. První část se zaměřuje na vymezení pojmu cytochrom P450, dále se snaží objasnit vznik názvosloví a popsat strukturu s charakteristickými znaky. Druhá část poskytuje náhled na konkrétní cytochromy P450, které se nacházejí v mozku a snaží se je blíže specifikovat. Poslední část je věnována metabolismu. Cílem práce je získat základní informace o cytochromech P450, ukázat na jejich dělení a zdůraznit jejich stěžejní role zejména v oblasti mozkové tkáně.

Klíčová slova

Mozek, cytochrom P450, endogenní látka, exogenní látka, protein, metabolismus, rodiny cytochromů P450, podrodiny cytochromů P450.

Annotation

The bachelor thesis is focused on the summary of the key information about the cytochromes P450. The theoretical part is divided into the three chapters. The first part is focused on definition of cytochrome P450, tries to explain the emergence of terminology and describes the structure with the main characteristics. The second part provides insight into specific cytochromes P450, which are located in the brain and tries to specify them. The last part is dedicated to metabolism. The main aim of this work is obtain the main information about cytochromes, show their division and emhasizes their main role especially in brain area.

Keywords

Brain, cytochrome P450, endogenous substance, exogenous substance, protein, metabolism, family cytochromes P450, subfamily cytochromes P450.

Obsah

Úvod 10

1 CYTOCHROMY P450 11

1.1. Charakteristika 11

1.2. Struktura 11

1.3. Názvosloví 13

1.4. Vlastnosti 15

1.5. Funkce a reakce 16

1.6. Reakční cyklus 16

1.7. Regulace exprese 18

2 ROZDĚLENÍ CYTOCHROMŮ P450 20

2.1. Podrodiny cytochromů P450 v mozku 20

2.1.1. CYP 1A 21

2.1.2. CYP 1B 21

2.1.3. CYP 2B 22

2.1.4. CYP 2C 24

2.1.5. CYP 2D 24

2.1.6. CYP 2E 28

2.1.7. CYP 3A 28

3 METABOLISMUS 30

3.1. Metabolismus xenobiotik 32

3.2. Role cytochromů v metabolismu 32

3.3. Role CYP 2D6 v metabolismu 33

ZÁVĚR 35

Použitá literatura 37

Seznam ilustrací a tabulek

Obrázek 1: Krystalová struktura P450 3A4 12
Obrázek 2: Základní nomenklatura P450 a zařazení do rodin a podrodin na základě sekvenční identity 13
Obrázek 3: Rozdílné spektrum P450 15
Obrázek 4: Reakční cyklus cytochromu P450 18
Obrázek 5: Exprese cytochromů v mozku a specifická indukce v CNS 20
Obrázek 6: Rozdělení lidských cytochromů 30

Tabulka 1: Zařazení lidských P450 na základě hlavních tříd substrátu 14
Tabulka 2: Lidské cytochromy P450 podílející se na endogenním metabolismu 31

Seznam zkratek a značek

AhR – arylhydrokarbonový receptor

ARNT – jaderný translokátor

CAR – androstanový receptor

CNS – centrální nervová soustava

CO – oxid uhelnatý

CYP – cytochrom

DNA – deoxyribonukleová kyselina

Fe^{2+} – železnatý kationt

Fe^{3+} – železitý kationt

MPP+ – 1-methyl-4-fenylpyridinium

MPTP – 1-methyl-4-fenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin

NADPH – nikotinamidadenindinukleotidfosfát

O_2 – kyslík

PD – Parkinsonova nemoc

PPARα – receptor aktivovaný proliferátorem peroxizomu

PXR – pregnanový X receptor

RNA – ribonukleová kyselina

RXR – retinoidní X receptor

Thr – treonin

8-MOP – 8-methoxypsoralen

Úvod

Z evolučního stanoviska jsou cytochromy P450 považovány za velmi staré hemoproteiny, které byly objeveny dříve než hemoglobin. Cytochromy P450 jsou enzymy, které se vyvíjely cestou divergentní evoluce. Před více než 1,5 miliardami let se do dnešní doby vyvinulo z jediného genu cytochromu P450 archebakterií velké množství rozdílných genů kódujících cytochromy prokaryontních a eukaryontních organismů. [1]

Zatímco u bakterií bylo stanoveno maximálně 20 forem cytochromů P450, u člověka v dnešní době existuje mnoho isoforem CYP, které jsou děleny do 18 rodin a 57 podrodin. U rostlin se na základě studii genomu druhu Arabidopsis thaliana tento počet odhaduje na 300. [2]

Cytochromy P450 jsou enzymy, které se primárně podílí na metabolismu cizorodých látek v organismu. Zúčastňují se také přeměn endogenních látek, které jsou tělu vlastní (např. přeměna cholesterolu na steroidní hormony a biosyntéza prostaglandinů). [1]

1 CYTOCHROMY P450

1.1. Charakteristika

Cytochromy P450 tvoří velkou skupinu hemoproteinových enzymů, které jsou přítomny u bakterií, hub, rostlin, hmyzu, ryb, savců a primátů s výjimkou enterobakterií (např. Escherichia coli). Zapojují se do různých metabolických a biosyntetických procesů, jak endogenních tak i exogenních látek, což je důležité i z hlediska farmakoterapie. Na aktuální hodnotu metabolické aktivity tohoto enzymu má vliv řada různých faktorů, včetně endogenních. V nedávné době bylo také potvrzeno, že kontrolu nad CYP mají i centrální nervové systémy. Konkrétně bylo prokázáno propojení dopaminergních drah a jaterních CYP. Společným rysem všech cytochromů P450 je jejich struktura a obecný mechanismus účinku. [3,4,5,6]

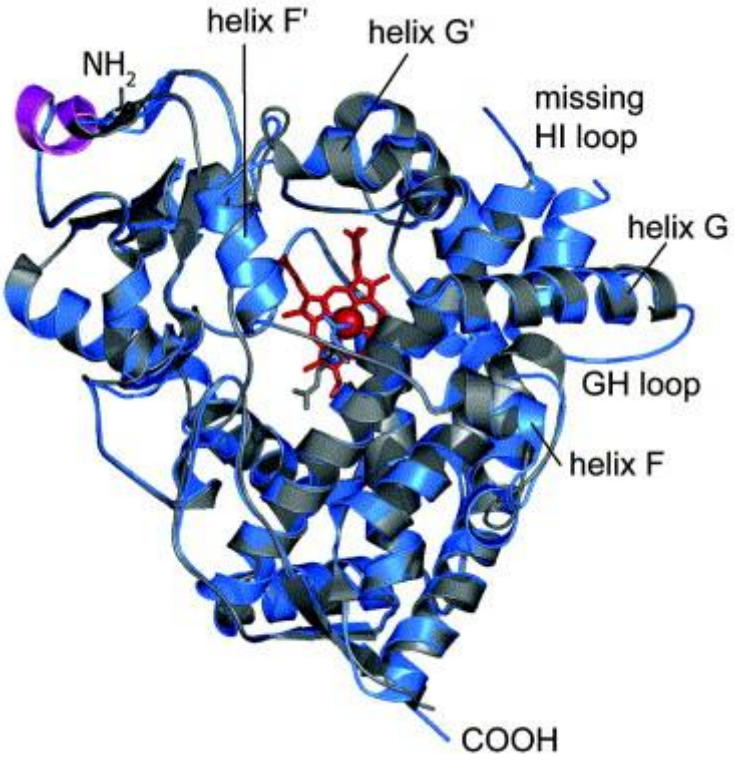
1.2. Struktura

Cytochromy P450 jsou integrální membránové proteiny, které obsahují ve své struktuře hem, který je tvořen protoporfyrinem IX s centrálním atomem železa. Hemové železo cytochromů P450 je schopno tvořit šest vazeb, čtyřmi vazbami je vázáno v tetrapyrolovém kruhu na atomy dusíku a zbylé vazby jsou vázány na dva axiální ligandy. Jedním axiálním (tzv. proximálním) ligandem je thiolová skupina pocházející ze zbytku cysteinu, který se nachází na konci karboxylové molekuly cytochromu P450. Vazebné místo druhého (tzv. distálního) ligandu může být neobsazené nebo obsazené kyslíkem, oxidem uhelnatým, oxidem dusnatým, vodou nebo jiným ligandem. Všechny cytochromy P450 jsou molekuly ve tvaru trojúhelníku. Tato základní stavba je udržována mezi všemi známými cytochromy P450, i když se relativní umístění může lišit a některé menší prvky mohou chybět. Na rozdíl od hemoglobinu koordinačně vázané železo cytochromů mění své oxidační číslo.

V současné době známe trojrozměrnou strukturu několika různých bakteriálních a savčích membránově vázaných cytochromů P450, jež byly získány rentgenografickými metodami spolu s počítačovým modelováním.

Obecně je struktura všech cytochromů P450 dosti podobná, evolučně zachovalá. Apoprotein tvoří helixy značené A – L. Nejkonzervativnější jsou struktury, které obsahuji cystein tvořící thiolátovou vazbu s hemem, smyčka z helixů D, E, I a L a helixy J a K, a místa, jež přicházejí do styku se substrátem, helixy B, I a F. Celkové rozmístění míst rozpoznávajících substrát je

u všech cytochromů P450 hodně podobné. Další vysoce strukturně konzervativní část představuje oblast kolem zbytku threoninu (Thr 252 v bakteriální P450 101A1), který usnadňuje protonaci $Fe^{2+} \cdot O_2$ komplexu v P450. V kontrastu k těmto strukturám jsou helixy A, B´, F, G, a H značně variabilní. U jednotlivých forem cytochromů P450 se může měnit jak jejich aminokyselinová sekvence, tak i délka. [1,3,7,8,9,10,11]



Obrázek 1: Krystalová struktura P450 3A4 [78]

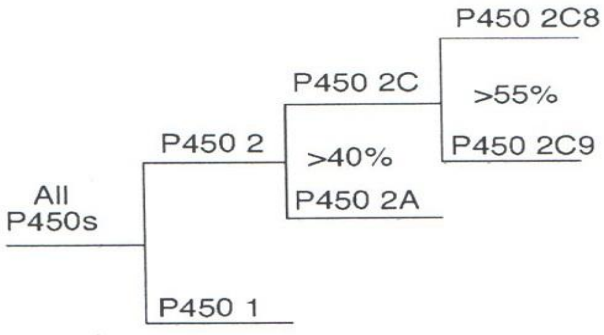
1.3. Názvosloví

Vzhledem k velkému počtu cytochromů P450, které byly identifikovány (více než 7000), byl vytvořen systém klasifikace enzymů, jakmile bylo možné určit nukleotidové sekvence DNA a geny. Tento systém je založen na základě identity sekvence, v závislosti na metodách a algoritmů, nikoliv na sekvenční homologii. Dvě sekvence jsou buď homologní, nebo ne.

Všechny identifikované cytochromy P450 tvoří tzv. superrodinu. Tato superrodina cytochromů P450 je rozdělena do rodin, v nichž identita aminokyselinové sekvence je větší než 40%. Rodiny jsou dále rozděleny do podrodin, v nichž identita aminokyselinové sekvence je vyšší než 55%.

Cytochromy P450 se zkráceně označují „P450“ nebo „CYP“. Zkratka „CYP“ je poněkud problematická, protože tuto zkratku používají také cyklofiliny. Avšak v případě použití zkratky „CYP“, je úmluva, že zápis genů se na rozdíl od proteinů uvádí v kurzívě (např. *CYP* 1A2).

Po předponě „P450*“* následuje označení arabskými čísly (např. P450 1, P450 2, P450 3, atd.). Podrodina je dále identifikována pomocí velkého písmene (např. P450 1A, P450 1B, P450 1C, atd.). Jednotliví členové každé podrodiny jsou očíslováni v pořadí, v němž byli objeveni (např. P450 1A1, P450 1A2, P450 1A3, atd.).



Obrázek 2: Základní nomenklatura P450 a zařazení do rodin a podrodin na základě sekvenční identity [11]

Do jisté míry lze cytochromy P450 klasifikovat z hlediska funkce. Jedním z přístupů rozdělení 57 lidských cytochromů P450 je uveden v tabulce.

Tabulka 1: Zařazení lidských P450 na základě hlavních tříd substrátu [11]

Steroly	Xenobiotika	Mastné kyseliny	Eikosanoidy	Vitamíny	Neznámé
1B1	1A1	2J2	4F2	2R1	2A7
7A1	1A2	2A11	4F3	24A1	2S1
7B1	2A6	4B1	4F8	26A1	2U1
8B1	2A13	4F12	5A1	26B1	2W1
11A1	2B6		8A1	26C1	3A43
11B1	2C8			27B1	4A22
11B2	2C9				4F11
17A1	2C18				4F22
19A1	2C19				4V2
21A2	2D6				4X1
27A1	2E1				4Z1
39A1	2F1				20A1
46A1	3A4				27C1
51A1	3A5				
	3A7				

Asi čtvrtina z cytochromů P450 se podílejí na metabolismu sterolů. Tyto cytochromy P450 regulované, vysoce konzervativní a úroveň mezi jednotlivci se příliš nemění. Studie prováděné na geneticky modifikovaných myších a klinické zkušenosti člověka ukazují důležitost těchto P450 ve fyziologii a v rozmnožování.

Na rozdíl tomu asi čtvrtina P450 se podílí na metabolismu xenobiotik, u kterých se nezdá, že mají rozhodující fyziologické funkce. Některé cytochromy P450 ze skupiny podílející se na metabolismu xenobiotik, můžou také katalyzovat oxidaci endogenních látek, ale není zřejmé, zda je fyziologicky významná (např. P4503A4 testosteron-6β-hydroxy-lace), a úroveň enzymu se může výrazně lišit bez zjevných fyziologických účinků.

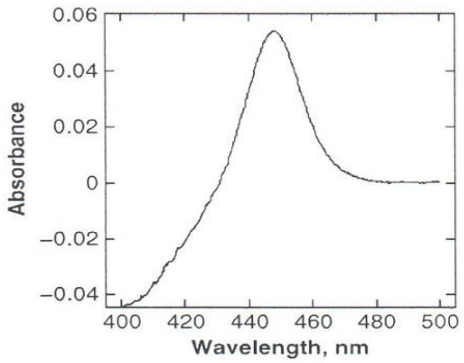
Zejména v podrodině 4F se nacházejí cytochromy P450, které dokážou účinně oxidovat mastné kyseliny. Ačkoliv celkový dílčí přínos není znám, tak oxidace může přispívat k celkové eliminaci. Některé z oxidačních produktů mastných kyselin mají biologickou aktivitu a mohou být důležité při hypertenzi a jiných patologických stavech (např. některé epoxidy a sloučeniny od nich odvozené).

Klasifikace v tabulce 2.1 je nedokonalá, v tom smyslu, že některé P450 můžou být umístěny ve více než jedné skupině. Například, P450 1B1 katalyzuje hydroxylaci estrogenu a jeho nepřítomnost je spojena s glaukomem (zelený zákal), ale také aktivuje celou řadu prokarcinogenů.

Studie prováděné na pokusných zvířatech jsou důležité při vývoji nových léčiv a pro veterinární výzkum jsou klíčová domácí zvířata. [1,3,7,11,12,13,14,15,16]

1.4. Vlastnosti

Cytochromy P450 se tak nazývají vzhledem k jedinečné absorbanci spektra, které se vytváří, když CO je vázán na redukovanou formu hemového železa. Spektrum vykazuje vrchol při přibližně 450 nm, odtud název P450 pro pigment s absorbancí při vlnové délce 450 nm. Toto spektrum je charakteristické pro thiolátový ligand hemoproteinu. CO se váže na hemové železo cytochromů P450 s mnohem vyšší vazebnou afinitou než kyslík, a proto je účinným inhibitorem jeho funkce.



Obrázek 3: Rozdílné spektrum P450 [11]

Je velmi nestabilní a snadno se přeměňuje na neaktivní formu, což se projeví posunem absorpčního maxima komplexu redukované formy s CO ze 450 nm na 420 nm, např. v důsledku nahrazení thiolátové skupiny cysteinu imidazolem, histidinem nebo serinem.

Mezi substráty cytochromu P450 jsou zahrnuty jak endogenně syntetizované sloučeniny (např. cholesterol, steroidní hormony a mastné kyseliny), tak i exogenní sloučeniny, xenobiotika, (např. léčiva, potravinové přísady, složky cigaretového kouře, pesticidy a chemické látky), které jsou přijímány, vstřebávány kůží nebo vdechnuty. Účastní se produkce steroidních hormonů, metabolismu mastných kyselin, prostaglandinů, leukotrienů a retinoidů. Dále jsou zapojeny do deaktivace nebo aktivace léčebných látek, do přeměn chemických látek na vysoce reaktivní molekuly, které mohou způsobit nechtěné poškození

buněk. Také dochází k inhibici nebo indukci enzymu, což má za následek lékové interakce a nežádoucí účinky.

Cytochrom P450 má monooxygenázovou aktivitu, monooxygenáza je enzym, který katalyzuje vstup jednoho atomu molekulárního kyslíku do substrátu, proto častým a nejznámějším typem reakce katalyzované cytochromy P450 jsou právě hydroxylace. [3,7]

1.5. Funkce a reakce

V průběhu vývoje života získávaly cytochromy P450 stále nové funkce, například hydroxylace organických látek u prehistorických mikroorganismů či biosyntéza barviv květů, mastných kyselin a dalších fyziologicky významných sloučenin, jako jsou např. steroidní hormony, vitamín D, prostaglandiny. V současnosti se zkoumá především kvůli jeho funkci během detoxikace cizorodých látek. Člověk tyto látky přijímá cíleně (nejčastěji v podobě léčiv) či nezáměrně jako složky potravy či jako vedlejší produkty lidské aktivity. V některých případech se může jednat o látky karcinogenní. CYP se tak díky schopnosti eliminace toxických látek a aktivace léčiva podílel na důležité adaptaci organismů. Nicméně ve stejné míře se uplatňují i potenciálně nebezpečné reakce, kterými jsou aktivovány protoxikanty a prokarcinogeny, čímž se CYP zúčastňují procesu karcinogenese. [1]

1.6. Reakční cyklus

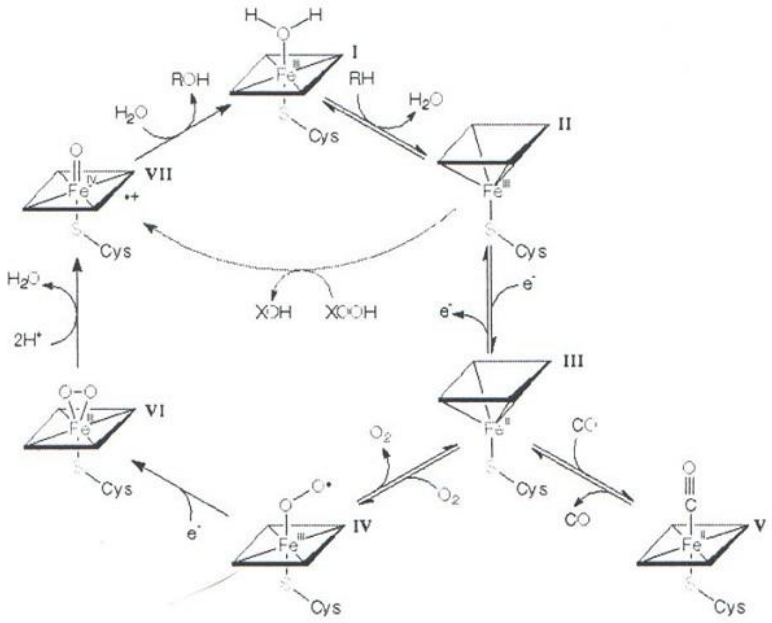
Cytochromy P450 jsou nejznámějšími enzymy metabolizující léčiva. U savců jsou zakotveny v membráně endoplasmatického retikula, mitochondrií a katalyzují obecnou reakci:

$$\mathbf{RH + O_2 + NADPH + H^+ \rightarrow ROH + H_2O + NADP^+}$$

Zdrojem elektronů je kofaktor NADPH, který je dodává hemové prostetické skupině cytochromu P450 přes NADPH:cytochrom P450 reduktasu (či NADH:cytochrom b_5 reduktázu). RH představuje substrát, který může být steroid, mastná kyselina, léčivo nebo jiná chemická látka, která má alkan, alken, aromatický kruh nebo heterocyklický kruh, substituenty, které mohou sloužit jako místo k oxygenaci. ROH je hydroxylační produkt reakce.

Reakční cyklus cytochromů P450 je složen přinejmenším z 8 kroků a probíhá uspořádaným mechanismem. Schematicky je znázorněn na obrázku 4.

V prvním kroku se nachází hemové železo ve ferri formě, tj. v oxidačním stupni Fe^{3+}, jde o stav nízkospinový. Ve druhém kroku po proniknutí substrátu RH do aktivního místa dochází k vytlačení šestého ligandu železa, který je obsazen kyslíkem vody nebo interním (aminokyselinovým) ligandem a jde o vysokospinový stav. V molekule enzymu dochází ke konformační změně, tj. třetí krok, který se projeví posunem absorpčního pásu hemu cytochromu P450. V pátém kroku vazbou substrátu je umožněna jednoelektronová regulace cytochromu P450 vzájemným působením s NADPH: CYP reduktázou, hemové železo se redukuje na Fe^{2+}. Ferrisuperoxidový komplex se tvoří ve čtvrtém kroku po navázání molekulárního kyslíku. V tomto kroku se železo nachází v nízkospinovém stavu. Tento nestabilní komplex je redukován NADPH: CYP reduktázou nebo NADH: cytochrom b_5 reduktázou, čímž dojde k aktivaci kyslíku na peroxidový anion, tato reakce probíhá v šestém kroku. V sedmém kroku dochází k rozpadu komplexu, pokud druhý elektron není doručen v dostatečné rychlosti. Uvolněný superoxidový anionradikál je pomocí superoxiddismutásy přeměněn na peroxid vodíku. Po druhé redukci komplex cytochromu P450 s biatomickou molekulou kyslíku, se nachází již v aktivované formě cytochromu P450 a dochází ke štěpení vazby O-O. Atom kyslíku je redukován, příjme dva protony a dojde k uvolnění vody. Druhý atom kyslíku je vázán na hemové železo a vzniká ferrioxenový komplex. Tento komplex je stabilizován mezomerním posunem elektronu z thiolátové síry na kyslík. Radikál kyslíku vytrhne vodíkový atom z molekuly vhodného substrátu za vzniku hydroxylového radikálu vázaného na železo hemu a radikálu substrátu. Poté dochází k rekombinaci radikálů za vzniku nativní formy cytochromu P450 a hydroxylového produktu reakce (ROH). V osmém kroku může vzniknout z třetí fáze přímo sedmá fáze za přítomnosti oxidačních činidel (např. organické peroxidy). [11,17,18,19]



Obrázek 4: Reakční cyklus cytochromu P450 [17]

1.7. Regulace exprese

Společným rysem některých cytochromů P450 je, že expozicí organismu xenobiotikům dojde ke zvýšení jejich exprese. Tato adaptivní odpověď je známá jako indukce a jedná se o přísně regulovaný proces, který je v první řadě řízen na úrovni transkripce. [19] Exprese CYP je regulována velmi přísně vůči expozici xenobiotik a umožňuje buňce zvýšení obsahu potřebných cytochromů P450 k usnadnění odstranění potenciálně toxické cizorodé látky. Indukce se v buňce uskutečňuje pomocí receptorů, které působí transkripční faktory. Společně jsou schopné rozpoznat velké množství cizorodých látek a v důsledku toho regulovat mnoho enzymů první a druhé fáze biotransformace xenobiotik a transportních proteinů. [20] Mezi tyto intracelulární receptory patří arylhydrokarbonový receptor (AhR), konstitutivní androstanový receptor (CAR), receptor aktivovaný proliferátorem peroxizomu (PPARα), pregnanový X receptor (PXR). [21] AhR je široce exprimován v lidských tkáních, především v placentě, plicích, srdci, slinivce břišní a játrech. Jako ligandy přijímá syntetické organické sloučeniny (např. polyaromatické aminy, polycyklické aromatické uhlovodíky, polychlorované aromatické látky a dioxiny), přírodní látky (např. resveratrol, berberin, flavonoidy), léčiva (např. omeprazol), bilirubin, biliverdin a deriváty kyseliny arachidonové. [11,20,22] AhR primárně reguluje expresi genů v rodině CYP 1 (tj. CYP 1A1, CYP 1A2 a CYP 1B1), ale i některé příslušníky rodiny CYP 2. [20]

Za počátečního stavu buňky bez navázaného ligandu se AhR nachází v cytoplazmě a teprve po vazbě ligandu se přemístí do jádra, kde interaguje s AhR jaderným translokátorem (ARNT), za tvorby heterodimeru. [11,23] Ten se poté váže na specifickou sekvenci DNA a aktivuje transkripci cílových genů. Použitý AhR může být nakonec exportován z jádra a degradován v proteasomu nebo je recyklován v cytoplazmě. [20]

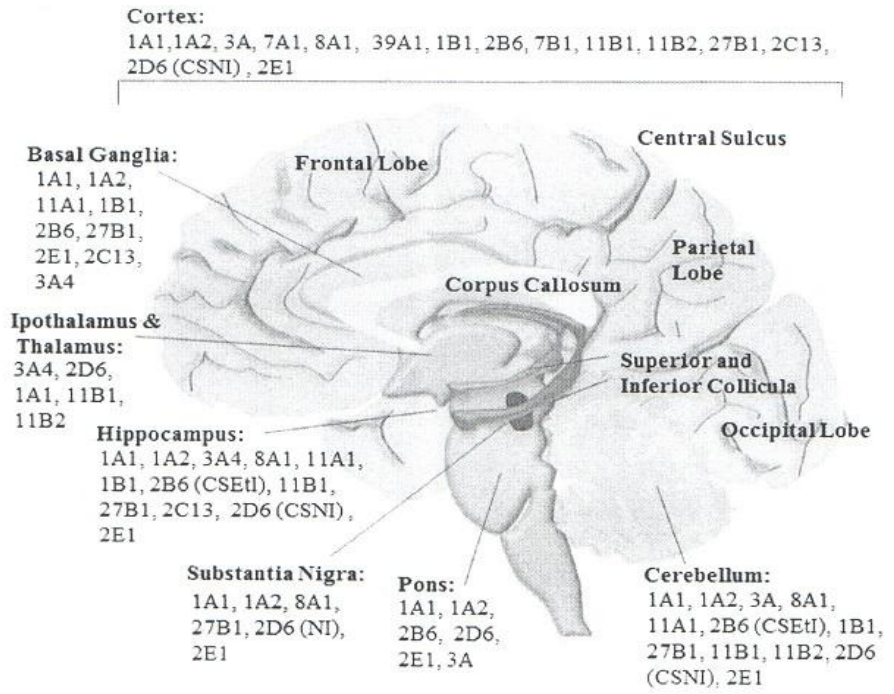
Konstitutivní androstanový receptor (CAR) a pregnanový X receptor (PXR) transkripčně regulují rodiny CYP 2 a CYP 3. Receptor aktivovaný proliferátorem peroxizomu (PPARα] se zaměřuje na CYP 4. Po vazbě ligandu tvoří heterodimer s retinoidním X receptorem (RXR). Heterodimer se poté váže na tzv. rozpoznávací element genu, který kóduje daný CYP. Jsou také zodpovědné za interakce s jinými jadernými receptory a se širokou řadou dalších intracelulárních signálních drah, včetně těch aktivovaných určitými cytokiny a růstovými faktory. Ligandem je např. larnesol (pro CAR), rifampicin (pro PXR) či kyselina klofibrová (pro PPARα). [11,20]

2 ROZDĚLENÍ CYTOCHROMŮ P450

Enzymy cytochromu P450 se nacházejí po celé živočišné a rostlinné říši a jsou zodpovědné za metabolismus endogenních a exogenních látek – xenobiotik. Hodně cytochromů se nachází v játrech, extrahepatálních orgánech, mozku a v menším množství dalších orgánech. Celkové hladiny CYP v mozku jsou mnohem nižší než v játrech. Jsou soustředěny v blízkosti lékových cílů, v určitých oblastech buněčných typů a mohou mít značný dopad na místní metabolismus. Cytochromy v mozku můžou hrát roli v modulaci aktivity mozku, chování, náchylnosti k onemocnění centrální nervové soustavy a výsledku léčby. [6,24,25,26]

2.1. Podrodiny cytochromů P450 v mozku

V mozku se nachází 13 rodin, které se dále dělí na své podrodiny. Tyto podrodiny jsou složeny z jednotlivých členů. Členy cytochromů 1A1, 1A2, 3A4, 7A1, 8A1, 11A1, 19A1, 21A2, 26A1, 39A1, 46A1, 51A1, 1B1, 2B6, 7B1, 11B1, 11B2, 26B1, 27B1, 2C9, 2C11, 2C13, 2C19, 2D6 a 2E1 se vyskytují v mozku. [19,27]



Obrázek 5: Exprese cytochromů v mozku a specifická indukce v CNS [27]

2.1.1. CYP 1A

CYP 1A podrodina se skládá ze dvou členů CYP 1A1 a CYP 1A2. Tyto dva enzymy metabolizují celou řadu látek znečišťující životní prostředí, jako jsou polycyklické aromatické uhlovodíky nebo polycyklické aminy, několik léčiv včetně antidepresiv, kofein, theofylin, klozapin a endogenní látky, jako jsou eikosanoidy a retinoidy. Biotransformace organických znečišťujících látek CYP 1A často vede k metabolické aktivaci prokarcinogenů až ke konečnému karcinogenu. Z tohoto důvodu indukce CYP 1A od cizorodých látek se považuje za rizikový faktor, pokud jde o chemicky vyvolanou karcinogenezi. CYP 1A2 je exprimován výlučně v játrech a plicích. CYP 1A1 je exprimován hlavně v extrahepatálních tkáních, včetně střeva, plic, placenty, kůže, mozku a játrech. Hlavní transkripční regulátor CYP 1A genu je AhR, který je všudypřítomně exprimován v lidských tkáních. Aktivace AhR exogenními ligandy, jako jsou polycyklické aromatické uhlovodíky nebo dioxiny vede k endokrinnímu narušení a toxickým účinkům. Aktivace AhR endogenními ligandy je nezbytné pro mnoho buněčných funkcí, včetně imunitní reakce a diferenciace. [7,11,28,29,30]

2.1.1.1. CYP 1A1

CYP 1A1 se nachází převážně v neuronech, v mozku CYP 1A1 protein byl detekován v endoplazmatickém retikulu, ale také v cytosolu PBGD myší. Funkce extrahepatálního cytochromu P450 CYP 1A1 je závislá na dostupnosti hemu. CYP 1A1 se podílí na aktivaci polyaromatických uhlovodíků. Domnívá se, že onemocnění způsobená relativním nedostatkem hemu, jako je jaterní porfyrie, může mít za následek poškození funkce hemoproteinu v mozku. [3,31,32]

2.1.2. CYP 1B

Tato podrodina byla nedávno identifikována a je členem rodiny CYP 1 genu. V této podrodině se nachází člen CYP 1B1. Zodpovídá za aktivaci heterocyklických aminů a za metabolismus endogenních estrogenů. CYP 1B se objevuje v mozku, kůži, játrech, slezině, ledvinách a placentě. [7,33]

2.1.2.1. CYP 1B1

U lidské populace CYP 1B1 je jedním z hlavních CYP nalezených v mozkových vlásečnicích v hematoencefalickém rozhraní, kde může vystupovat v kombinaci s transportéry. Může docházet k průchodu cizorodých látek do mozku nebo ven. Enzymy mají velký vliv při stanovení rizika vzniku nádorů v tkáních, které jsou citlivé na hormonální změny (např. prostata, děloha, prsní tkáň). CYP 1B1 má významné důsledky pro vývoj

nádoru, progresi a vývoj protinádorových léčiv. CYP 1B1 je také spojen s glaukomem. [6,7,11,33,34,35]

2.1.3. CYP 2B

Podrodina CYP 2B metabolizuje převážnou část farmak, např. antidepresiva a antipsychotika, dále metabolizuje návykové látky, jako jsou amfetamin a etanol, a některé další endogenní neurochemické látky, jako je dopamin a serotonin, které působí na centrální nervový systém. CYP 2B se vyskytuje v astrocytech, oblastech s vysokou hustotou neuronových vláken a v pyramidových neuronech frontální kůry.

V nedávné době byla prokázána enzymatická aktivita CYP 2B v mozku živého zvířete. Mechanismus je založený na inhibitorech, což jsou substráty enzymu, které jsou převedeny na metabolity, které se váží kovalentně na enzym a tím se nevratně inaktivují. Tyto pokusy používají tritiovaného 8-methoxypsoralenu (8-MOP), což je inhibitor mechanismu CYP 2B. CYP 2B enzymaticky přeměňuje tento inhibitor na radioaktivně značený dihydrodiol metabolit. Tento metabolit reaguje kovalentně s CYP 2B apoproteinem, což způsobí, že funkční CYP 2B enzym se stane radioaktivně značený a inaktivní. Je důležité si uvědomit, že CYP 2B bude radioaktivně označen pouze v případě, jestliže bude enzymaticky funkční.

Do žijící krysy byl v anestezii do levé frontální kůry mikroinjekčně vpraven radioaktivní 8-MOP. CYP 2B byl potom imunoprecipitován specifickou monoklonální protilátkou proti CYP 2B z membrán připravených z tkáně frontální kůry. Bylo posuzováno množství radioaktivně značeného CYP 2B. Dříve již bylo zjištěno u potkanů, že nikotin zvyšuje CYP 2B protein ve frontální kůře přibližně dvojnásobně.

S dalším experimentem, v němž byl intracerebroventrikulárně dodán radioaktivní 8-MOP bylo potvrzeno, že indukované CYP 2B je funkční. Dále bylo prokázáno, že CYP 2B je aktivní v celém mozku. V průběhu času byl radioaktivní CYP 2B detekován ve zvýšeném množství. Bylo potvrzeno, že po intracerebroventrikulární injekci, enzymatická aktivita byla inhibována v celém mozku. Tato inhibice přetrvává po dobu 24 hodin. [6,36,37]

Není vždy jednoduché předvídat podle plazmatických hladin reakce na centrálně působící léčiva. Tato reakce může být variabilní. K této variabilitě mohou přispět interindividuální rozdíly v mozku zprostředkovaným metabolismem cytochromů. Objasnění role zvýšeného CYP 2B v mozku a zároveň snížené hladiny propofolu, neovlivňují

plazmatické hladiny a mozkové hladiny propofolu byly korelovány v době spánku. A tak CYP 2B se významně podílí na metabolismu propofolu v mozku a na výsledné reakci léčiv. To ukazuje, že mozkové CYP můžou mít vliv na odezvu centrálně působící léčiva. Mozkový CYP metabolizuje celou řadu léčiv, které působí na centrální nervovou soustavu a existuje zde možnost dopadu reakce na léčiva a toxiny pro cytochromy v mozku. Mnoho léčiv je omezeno špatnou absorpcí do mozku. Zvýšené dodávání léčiva do mozku, může být dosaženo pomocí proléčiva, které snadněji proniká hematoencefalickou bariérou a je pak metabolizováno na aktivní složky pomocí enzymů přítomných v mozku. K léčbě nádorů CNS se používá např. cyklofosfamid, což je chemoterapeutické proléčivo, které snadno prochází hematoencefalickou bariérou, kde je metabolicky aktivován mozkovým CYP 2B. Kmenové buňky a cílená genová léčba selektivně zvyšující expresi CYP 2B v mozkových nádorech, může zvýšit chemoterapeutický účinek cyklofosfamidu u myší.[26] Metabolická aktivace proléčiva enzymem v mozku se může stát novým terapeutickým přístupem, dochází ke snížení vedlejších nežádoucích účinků. [26,38,39]

Podíváme-li se na některé druhy zvířat, induktor může ovlivnit stejný izoenzym, ale v různých mozkových oblastech. U potkanů, nikotin indukuje CYP 2B v několika mozkových oblastech, včetně frontální kůry, čichového bulbu a hrbolku, striatu a mozkového kmene. U opic byla zaznamenána indukce CYP 2B nikotinem pouze ve frontální kůře. [6]

2.1.3.1. CYP 2B6

CYP 2B6 protein je exprimován v lidských játrech, mozku, střevě, ledvinách a v nižší hladině v plicích. Ve frontální kůře lidského mozku, CYP 2B6 je vysoce exprimován v astrocytech. Kouření může mít vliv na genetickou proměnlivost v CYP 2B6. V mozečku nekuřáků CYP 2B6 se vyskytuje v neutronech molekulární a granulární vrstvy, ale je nezjistitelný v Purkyňových buňkách. U kuřáků CYP 2B6 je vysoce exprimován v Purkyňových buňkách. Mozkové CYP jsou obvykle regulovány zcela rozdílně než jaterní cytochromy. CYP 2B6 v játrech není ovlivněn kouřením, zatímco CYP 2B6 v mozku je kouřením ovlivňován. Vysoká exprese CYP 2B6 na rozhraní hematoencefalické bariéry může pomoci regulovat pronikání léčiv a toxinů do mozku. Tento enzym v mozku může metabolizovat nikotin a další endogenní substráty, jako je serotonin a neurosteroidy. [6,11,26,36,40]

2.1.4. CYP 2C

Podrodina CYP 2C se skládá z těchto členů CYP 2C8, CYP 2C9, CYP 2C11, CYP 2C13, CYP 2C18 a CYP 2C19. Tato podrodina je exprimována v játrech, extrahepatálních tkání a mozku. CYP 2C18 byl použit k imunizaci králíků. [41] CYP 2C9 a CYP 2C19 se nacházejí v mikrosomálních frakcích všech pěti lidských mozkových oblastí, a to ve frontální kůře, hippokampu, bazálních ganglií, amygdalu a mozečku. Tyto enzymy cytochromu P450 mají významnou roli v metabolismu léčiv a jiných environmentálních chemikálií. Rovněž jsou zapojeny do metabolismu kyseliny arachidonové. Předpokládá se, že nejvyšší exprese CYP 2C9 a CYP 2C19 se nachází v hippokampu. Lidské CYP 2C enzymy mohou sehrát podobnou roli při regulaci průtoku krve mozkem. [7,42]

2.1.4.1. CYP 2C9

V několika různých typů mozkových nádorů byl pozorován CYP 2C9. Exprese CYP 2C9 byla vyšší v mikrosomálních frakcích mozkové frontální kůry, u jedinců s nadměrnou konzumací alkoholu. Vážné zdravotní komplikace může způsobit zpomalení některých léčiv. Mezi ně patří např. snížená clearance warfarinu, losartanu či fenytoinu. U lidí užívajících warfarin může docházet ke krvácivým stavům. Po užití losartanu může docházet k hypotenzi. Po fenytoinu může docházet k ataxii, což je porucha hybnosti způsobená onemocněním nervového systému např. mozečku. [19,41,43]

2.1.4.2. CYP 2C11

CYP 2C11 je vyjádřen v astrocytech a perivaskulárních neuronech. Podílí se na regulaci prokrvení mozku u potkanů. [41]

2.1.4.3. CYP 2C13

V lidském mozku se CYP 2C13 vyskytuje ve frontální kůře, bazálních gangliích a hippokampu. [27]

2.1.4.4. CYP 2C19

Mohou metabolizovat serotonin na hydroxylamin, stejně jak pohlavní hormony testosteron, progesteron a estradiol, u nichž je známo, že ovlivňují funkci mozku a osobnostní rysy člověka, např. agrese. [6,44,45]

2.1.5. CYP 2D

CYP 2D se nachází v játrech, neuronech, gliových buňkách a rovněž i v oblastech mozku, které nejsou chráněny hematoencefalickou bariérou, jako je např. choroidní

plexus.[6,46] Z podrodiny CYP 2D je u lidské populace nejvíce popsán člen CYP 2D6. Tato podrodina je složena z členů CYP 2D4, CYP 2D6, CYP 2D7, CYP 2D8 a CYP 2D18. [7] Indukce může být orgánově specifická, s diferenciální regulací jaterních a mozkových cytochromů, např. CYP 2D je podstatně neindukovatelný v játrech, ale v mozku CYP 2D může být vyvolán sloučeninami, jako je nikotin a neuroleptikum klozapin. [26]

Aktivita CYP 2D v krysím mozku je velmi citlivá na zmrazení. Více než 40 % enzymatické funkce se ztrácí z membrán krysího mozku po 7 dnech zmrazení. Asi 80 % funkce je ztraceno, pokud jsou membrány uloženy v Tris pufru namísto umělé mozkomíšní tekutiny. [6] I navzdory tomu, in vitro studie prokazují, že mozkové membrány mohou metabolizovat celou řadu substrátů, zahrnující léčiva, toxiny a endogenní látky. [6,47] Nová studie s použitím mikrodialýzy zkoumala CYP 2D, který byl zprostředkován tvorbou dopaminu z tyraminu ve striatu žijící krysy, s nebo bez inhibice CYP 2D. Studie prokázala, že existují dostatečné hladiny metabolismu v mozku, které mají být detekovány pomocí mikrodialýzy. Tato metoda může být účinným nástrojem při vyšetřování in vivo mozku. [6,48]

Orgánové specifičnosti jsou vidět u všech druhů, včetně krys, opic a člověka. U krys a opic, nikotin nemění hladinu jaterních CYP 2D proteinu, ale zvýší hladinu CYP 2D proteinu v mozku. Kuřáci ve srovnání s nekuřáky, mají podobné hladiny jaterních cytochromů, ale vyšší hladiny CYP 2D v mozku. [6,46,49]

V krysím mozku klozapin patřící do skupiny antipsychotických léčiv, může indukovat CYP 2D, zejména v neuronech, mozkovém kmenu, čichovém bulbu, v Purkyňových a granulárních buňkách v mozečku. Antipsychotické léčivo thyoridazin zvyšuje aktivitu CYP 2D ve striatu a mozečku, ale přitom snižuje činnost CYP 2D v substantia nigra a nucleus accumbens septi. Některé léčiva mohou vyvolat nebo potlačit svůj vlastní místní metabolismus v mozku. Klozapin je deaktivován CYP 2D enzymem, chronická léčba může mít vliv na centrální hladinu léčiv a na celkovou účinnost léčiva. Mnohé léky jsou podány současně, což může mít za následek lékové interakce. Indukce mozku CYP 2D klozapinem by mohlo vést k rychlejší zprostředkované CYP 2D metabolické inaktivaci některých substrátových antidepresiv nebo zvýšenou aktivaci opiátů kodeinu na morfin. U krys toluen indukuje CYP 2D protein, jak v játrech, tak i v mozku, avšak RNA hladiny jsou zvýšené v játrech, ale v mozku zůstávají nezměněny. To značí dva různé molekulární mechanismy působení chemických látek na stejný izoenzym. [6,50]

2.1.5.1. CYP 2D6

U tohoto historicky důležitého enzymu byly zpozorovány a objasněny lékové interakce, a to na základě působení fluoxetinu, který inhibuje aktivitu CYP 2D6, a tím biotransformaci desipraminu. CYP 2D6 lze také převážně nalézt v pyramidových neuronech ve vrstvách III – V a bílé hmotě.[26,51] CYP 2D6 je převážně exprimován v játrech, mozku a v menším množství v plicích.[19] U tohoto cytochromu byl jako první popsán polymorfismus. Mezi důsledky polymorfismu zahrnujeme parkinsonismus (haloperidol), závislost (opioidy), arytmie (antiarytmika), hepatotoxicitu (perhexilen), kardiotoxicitu (tricyklická antidepresiva). Gen kódující CYP 2D6 je vysoce polymorfní, což má za následek rozsáhlou aktivitu CYP 2D6 mezi jednotlivci. CYP 2D6 aktivuje kodein na morfin, deaktivuje antidepresivum desipramin a převádí účinnou antipsychotickou původní látku risperidon na stejně aktivní metabolit. Aktivitu enzymu dělí populaci na rychlé a pomalé metabolizátory. [7,26,52,53,54,55,56]

Frekvence genetických variant *CYP* se liší mezi etnickými skupinami. Přibližně 10 % bělochů má genové varianty, které vedou k úplnému nedostatku funkčního enzymu a jsou označovány CYP 2D6 pomalí metabolizéři. [6,57]

Další faktory mohou také měnit hladiny CYP v mozku, ale v játrech. U lidí hladina enzymu CYP 2D6 v mozku je při narození nízká, postupně se zvyšuje s věkem a nejvyšší je u dospělých nad 65 let. Zatímco jaterní cytochrom se rychle zvýší po porodu, v dospělosti hladina zůstává konstantní s věkem. To značí, že starší lidé mohou reagovat na některé centrálně působící léčiva rozdílně než mladší populace. Tyto rozdíly přispívají ke zjištění, že osoby starší 75 let reagují méně než mladší jedinci na desipramin, toto léčivo je inaktivováno CYP 2D6. Tento cytochrom může metabolizovat endogenní látky, jako je tyramin na dopamin. [6,58]

Mozkové cytochromy můžou mít významné neurologické endogenní funkce, pocházející z testování osobnosti, kde u jedinců s CYP 2D6 s pomalým metabolismem byly pozorovány různé osobnostní vlastnosti než u osob s normálním CYP 2D6 metabolismem. U několika studií byl prokázán vliv genetické různorodosti CYP 2D6 na osobnosti.

CYP 2D6 se může zúčastnit metabolismu neurochemických látek, které ovlivňují psychický stav, jako např. tvorba dopaminu z tyraminu a serotoninu z 5-methoxytriptaminu. Studie in vitro ukazují, že CYP 2D6 se asi podílí na biosyntéze důležitých endogenních signálních molekul v mozku, jako je dopamin a 5-hydroxytriptamin. [6,48]

Jaterní a mozkové hladiny CYP 2D6 jsou sníženy v genetických CYP 2D6 pomalým metabolismem. CYP 2D6 pomalý metabolismus mohou být pozorovatelné odlišnosti ve funkci mozku a chování, které mohou být v důsledku změněné produkce endogenních signálních molekul. Zvýšená úzkost a impulzivnost jsou spojeny S CYP 2D6 pomalým metabolismem.

Kuřáci a alkoholici mají vyšší koncentraci CYP 2D6 v určitých mozkových oblastech a typů buněk. To může představovat důležité přizpůsobení, které přispívá k rozvoji a udržování nikotinu nebo závislosti na alkoholu. Dále kuřáci a alkoholici můžou odlišně reagovat na některé léčiva a toxické látky v důsledku zvýšené koncentrace cytochromu v mozku. Nikotin je hlavní psychoaktivní složkou cigaretového kouře. V mozečku nekuřáků CYP 2D6 je vyjádřen v neuronech molekulární a granulární vrstvy, ale není detekovatelný v Purkyňových buňkách. U kuřáků CYP 2D6 je vysoce exprimován v Purkyňových buňkách. [26,36,46]

Parkinsonova nemoc (PD) je progresivní neurodegenerativní onemocnění charakterizované ztrátou dopamin produkujících pigmentových neuronů v substantia nigra. Riziko vzniku PD ovlivňují genetické odchylky a také toxiny např. pesticidy působící na životní prostředí. CYP 2D6 pomalý metabolizéři mají vyšší riziko vzniku PD, dále se toto riziko zvyšuje, když jsou tyto jedinci vystaveny pesticidům. Z toho plyne, že CYP 2D6 rychlejší metabolizéři můžou mít ochranný účinek proti PD a zejména snížení rizika PD spojeného s expozicí pesticidů. Nižší koncentrace CYP 2D6 v mozku může ohroženého jedince postavit před to, že není schopen aktivovat tyto toxiny. Tato hypotéza byla podpořena nedávnou studií, ve které osoby mající PD, měli přibližně 40 % nižší hladiny CYP 2D6 proteinu v různých oblastech mozku, ve srovnání se zdravými kontrolními osobami, a to při kontrole genetických změn v CYP 2D6. CYP 2D6 metabolicky inaktivuje několik neurotoxinů, včetně PD-indukující 1-methyl-4-fenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin (MPTP) a jeho toxický metabolit 1-methyl-4-fenylpyridinium (MPP+). CYP 2D6 je vyjádřen v PD - postižených oblastech mozku např. v pigmentovaných neuronech substantia nigra, a je proto ideální k účasti místní inaktivaci PD-působící neurotoxinů. Naproti tomu, inhibice CYP 2D6 v lidských buňkách neuroblastomu zvýšila neurotoxické účinky MPP+. Pro srovnání s nekuřáky, kuřáci mají o 50 % nižší pravděpodobnost vzniku PD a mají vyšší hladinu CYP 2D6 v mozku, včetně 3,5 násobně vyšší hladiny v substantia nigra. Jaterní CYP 2D6 je beze změny. V mozku opice nikotin indukuje CYP 2D6, ale ne v játrech, a proto je považován za původce vyšší hladiny CYP 2D6 v mozku kuřáků. Zvýšené hladiny CYP 2D6

v mozku, v důsledku genetiky nebo indukce nikotinem může snížit citlivost k neurotoxicitě z toxinů inaktivované tímto enzymem. Některé studie prokazují na inverzní vztah mezi příjmem kofeinu a rizikem PD. [26,27,59] Narušená schopnost CYP 2D6 pomalým metabolismem k inaktivaci těchto nebo podobně strukturované sloučeniny může přispívat k jejich zvýšenému riziku výskytu PD. Na rozdíl od CYP 2D6 pomalým metabolismem, kuřáci mají nižší riziko PD, a nikotin je neuroprotektivní v několika neurotoxinech. [60]

2.1.6. CYP 2E

V lidském organismu byl popsán pouze jeden člen podrodiny CYP 2E, a to CYP 2E1. Lokalizace CYP 2E metodou fluorescenční in situ hybridizace prokázala konstitutivní expresi CYP 2E přednostně v neuronových buňkách u potkanů a v lidském mozku. CYP 2E exprese byla zaznamenána v neuronech mozkové kůry, Purkyňových buňkách, granulární vrstvě buněk mozečku a pyramidových neuronech. Přítomnost funkčně aktivního CYP 2E byla také pozorována v lidských mozkových oblastech získaných při pitvě z obětí dopravních nehod. [7,61]

2.1.6.1. CYP 2E1

Exprese CYP 2E1 byla zjištěna v lidských oblastech mozku, včetně hippokampu, dřeně a substantia nigra, také byla zaznamenána v různých oblastech krysího mozku (např. čichové laloky) a astrocytech. [61] V prenatálním lidském mozku byl nalezen CYP 2E1, což naznačuje možnou roli v neurofyziologii. [62] Tento cytochrom bioaktivuje několik prokarcinogenů (např. tabákové specifické nitrosaminy a benzen), cytotoxinů (např. tetrachlormetan). CYP 2E1 má zřejmě úlohu při vzniku reaktivních kyslíkových radikálů, které zahrnují peroxidaci lipidů a oxidaci DNA, a tím vyvolávají poškození buněk.

Na mozkové CYP 2E1 mají nikotin a etanol rozdílné účinky. V krysím mozku je CYP 2E1 indukován nikotinem a etanolem v čichovém bulbu, frontální kůře a mozečku. Na buněčné úrovni etanol indukuje CYP 2E1 v cerebrální granulární buněčné vrstvě. Nikotin indukuje tento cytochrom v gliových buňkách mozečku bílé hmoty. [51] Tento cytochrom metabolizuje kyselinu arachidonovou, která je hojně zastoupena v mozku a je nezbytná pro zdraví neurologického systému. [6]

2.1.7. CYP 3A

Podrodina CYP 3A se skládá z několika členů CYP 3A4, CYP 3A5, CYP 3A7 a CYP 3A43. Tato podrodina se podílí na biotransformačních procesech xenobiotik a endogenních látek. CYP 3A4 CYP 3A5 se vyskytují v játrech, gastrointestinálním traktu,

ledvinách, plicích a centrálním nervovém systému. CYP 3A7 se nachází v placentě. Podrodina chrání živé organismy před škodlivými látkami, které se dostávají do těla potravou. Účastní se metabolismu mnoha užívaných léčiv, např. antiarytmika, analgetika, antibiotika, antidepresiva, opioidy a řadu dalších. [7]

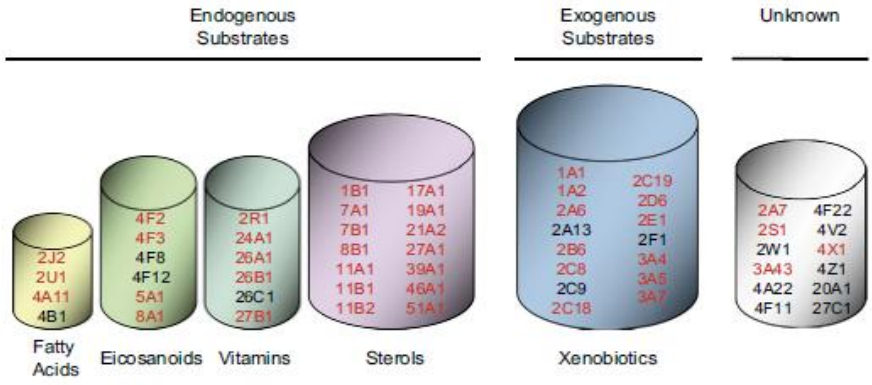
2.1.7.1. CYP 3A4

V lidském těle je CYP 3A4 nejrozšířenějším cytochromem a má dominantní roli v metabolismu léčiv. Dále se podílí na metabolismu steroidů. [26,63] Nachází se v játrech, tenkém střevě, plicích, žaludku, tlustém střevě, bazálních ganglií, thalamu, mozečku a v některých nádorech. [19,27,64] Exprese CYP 3A4 se rychle zvyšuje po narození, ve věku mezi 6 až 12 měsícem dosahuje 50 % hladiny dospělého člověka. [65]

3 METABOLISMUS

Cytochromy jsou zapojeny do metabolismu endogenních látek, např. cholesterol, žlučové kyseliny, steroidy, kyseliny arachidonová, eikosanoidy, vitamín D3 a kyselina retinová, jakož i do metabolismu exogenních látek, jako jsou léčiva, pesticidy a jiné toxické látky. [66]

Na obrázku 6 je rozděleno 57 lidských cytochromů do skupin podle hlavních tříd substrátu. Zjištěné cytochromy v mozku jsou označeny červeně. [66]



Obrázek 6: Rozdělení lidských cytochromů [66]

Rodiny CYP 1, CYP 2 a CYP 3 jsou kódující enzymy, které metabolizují převážně xenobiotika a některé endogenní látky. Endogenní sloučeniny jsou především metabolizovány těmito rodinami CYP 4, 5, 7, 8, 11, 17, 19, 20, 21, 24, 26, 27, 39, 46 a 51. Metabolismus xenobiotik převládá v orgánech, jako jsou játra a střeva, je zřejmé, že přítomnost funkčních cytochromů v mozku může vést k metabolismu endogenních i exogenních látek. [66] V tabulce 2 jsou uvedeny cytochromy, které metabolizují endogenní látky. [3]

Tabulka 2: Lidské cytochromy P450 podílející se na endogenním metabolismu [3]

Rodina CYP	Izoformy	Látky	Aktivita
4	4A11	Mastné kyseliny	ω-hydroxyláza
	4B1	Arachidonová kyselina	12-hydroxyláza
	4F2	Arachidonová kyselina, leukotrien B_4	ω-hydroxyláza
	4F3	Leukotrien B_4	ω-hydroxyláza
	4F8	Arachidonová kyselina, prostaglandin	18-hydroxyláza
	4F12	Arachidonová kyselina	ω-hydroxyláza
5	5A1	Prostaglandin H_2	Tromboxin A_2 syntáza
7	7A1	Cholesterol	7-α-hydroxyláza
	7B1	Pregnenolon, dehydroepiandrosteron (DHEA)	7-α-hydroxyláza
8	8A1	Prostaglandin H_2	Prostacyklin syntáza
	8B1	Steroly	12-α-hydroxyláza
11	11A1	Cholesterol	Odštěpení postranního řetězce
	11B1	11-deoxykortizol, 11-deoxykortikosteron	11-β-hydroxyláza
	11B2	Kortikosteron	18-hydroxyláza
17	17A1	Pregnenolon, progesteron, 17-hydroxyprognenolon, 17-hydroxyprogesteron	17-α-hydroxyláza, 17-20-lyáza
19	19A1	Androstendion, testosteron	Aromatáza
20	20A1	Neznámá	Neznámá
21	21A1	Progesteron, 17-hydroxyprogesteron	21-hydroxyláza
24	24A1	25-hydroxy vitamín D3	24-hydroxyláza
26	26A1	Retinová kyselina	4-hydroxyláza
	26B1	Retinová kyselina	Neznámá
27	27A1	Steroly	27-hydroxyláza
		Vitamín D3	25-hydroxyláza
	27B1	Vitamín D3	1-α-hydroxyláza
	27C1	Neznámá	Neznámá
39	39A1	24-hydroxycholesterol	7-hydroxyláza
46	46A1	Cholesterol	24-hydroxyláza
51	51A1	Lanosterol	14-α-demethyláza

3.1. Metabolismus xenobiotik

V současné době je životní styl založen na využívání mnoha chemických látek a jejich směsí. Nyní se počet jednotlivých sloučenin blíží k 100 milionům. U převážné většiny chemických látek existuje málo poznatků o jejich účincích na lidský organismus. Aby se zabránilo vstřebávání cizorodých látek, proto si většina živých organismů vytvořila obranný systém. Cizorodé látky nazýváme xenobiotika. [67,68]

Specifické enzymatické dráhy, vytvořené během evoluce, mají schopnost odstraňovat xenobiotika z našeho těla. Xenobiotika podléhají enzymatickým drahám, které jsou tvořeny dvěma fázemi. První fáze zahrnuje oxidaci, redukci a hydrolýzu. Druhé fáze zahrnuje konjugační reakci. [67]

3.2. Role cytochromů v metabolismu

Cytochromy P450 jsou enzymy, které se podílí na metabolismu endogenních látek. Tyto enzymy se nacházejí v játrech, plicích, kůži, mozku a dalších orgánech. Cholesterol je steroidní látka, která se podílí na stavbě buněčných membrán, a to především na její tekutosti. Je substrátem pro syntézu žlučové kyseliny, steroidních hormonů a oxysterolu. [69,70,71,72]

Působením enzymu CYP 51 vzniká cholesterol. Za účasti CYP 2R1, CYP 27A1 a CYP 27B1 se postupně přeměňuje jeho prekurzor 7-dehydrocholesterol na kalcitriol, což je aktivní forma vitamínu D. V lidském organismu je cholesterol důležitou látkou. Riziko vzniku kardiovaskulárního onemocnění se zvyšuje, pokud jsou hladiny cholesterolu v krevní plazmě vysoké. Při správné životosprávě je člověk schopen předcházet vysokým hladinám cholesterolu. Pro léčbu hypercholesterolemie se používá atorvastatin, fluvastatin, lovastatin, rosuvastatin a simvastatin. [69,73]

Kompetitivní inhibice CYP 51, by mohla vést ke snížení hladiny cholesterolu, ale u látek ovlivňující aktivitu CYP 51 převažují nežádoucí účinky. Proto se u člověka tyto látky nepoužívají ke snížení hladiny cholesterolu. [69]

Na tvorbě žlučových kyselin se podílí CYP 7A1, CYP 27A1, CYP 8B1, CYP 39A1, CYP 3A4 a CYP 46A1. Jaterní mikrozomální enzym CYP 7A1 se podílí na neutrální cestě syntézy žlučových kyselin, ve které dochází k hydroxylaci cholesterolu, jedná se o první krok biosyntézy. Žlučové kyseliny tvořené kyselou cestou, jsou katalyzovány enzymy CYP 27A1 a CYP 7B1. Deaktivace CYP 27A1 se podílí na snížení tvorby žlučových kyselin, na zvýšení produkce cholestanolu v mozku, šlachách a na zvýšené produkci žlučových alkoholů.

To může vést k cerebrotendinální xantomatóze, toto onemocnění se projevuje předčasnou demencí, šedým zákalem, ataxií a vznikem xantomů. Při léčbě se používá samotná kyselina chenodeoxydolová nebo v kombinaci s atorvastaninem, fluvastatinem, lovastatinem, rosuvastatinem a simvastatinem. [69,74]

CYP 7B1 se nejvíce vyskytuje v mozku a ledvinách. Také se podílí na metabolismu steroidních hormonů, receptorových ligandů estrogenu a tvorbě imunoglobulinu. Na vznik žlučových kyselin má vliv enzym CYP 8B1. CYP 46A1 se nachází v mozku, kde hydroxyluje cholesterol na 24-hydroxycholesterol. Účastní se přestupu cholesterolu přes hematoencefalickou bariéru z CNS do krevní plazmy. [69,75]

CYP 3A4 se nejvíce vyskytuje v játrech a je zodpovědný za přeměnu léčiv. Cholesterol se metabolizuje za pomoci CYP 3A4 na 4β-hydroxycholesterol, který se může metabolizovat na žlučové kyseliny. Tento cytochrom přeměňuje testosteron na 6β-hydroxytestosteron, který se užívá ke stanovení enzymové aktivity CYP 3A. Aktivita tohoto enzymu je velmi důležitá informace, která může zabránit předávkování pacienta. [69]

Enzymy CYP 11A1 a CYP 17A1 se podílejí na produkci gestagenů, estrogenů, glukokortikoidů a mineralokortikoidů. CYP 11A1 se vyskytuje v nadledvinách, vaječnících, varlatech, placentě a mozku. V biosyntéze steroidních pohlavních hormonů a hormonů kůry nadledvin zajišťuje první krok. CYP 11A1 z molekuly cholesterolu odštěpuje postranní řetězec za vzniku pregnenolonu. Pregnenolon dále podléhá dalším reakcím za vzniku androgenů, estrogenů, gestagenů nebo kortikosteroidů, které jsou nezbytné při zvládání stresu a zátěže, hladiny cukru v krvi, rovnováze minerálních látek a při vývoji pohlavních orgánů. [69,76]

CYP 17A1 hraje důležitou roli v biosyntéze kortizolu a pohlavních steroidních hormonů. Např. dívky s poruchou CYP 17A1 se rodí s ženskými pohlavními orgány, avšak nedochází k vývoji dělohy a vejcovodů. Chlapci s poruchou CYP 17A1 se rodí s ženskými pohlavními orgány, protože u nich nedochází k vývoji mužských pohlavních orgánů. [69]

3.3. Role CYP 2D6 v metabolismu

Mozkový CYP 2D6 zodpovídá za metabolismus neuronálních aminů a steroidů. Obnova serotoninu z 5-methoxytriptaminu a vznik dopaminu z tiraminu jsou významnými příklady reakcí katalyzovaných CYP 2D6. Tento cytochrom má rovněž katalytickou aktivitu vůči oktopaminu a synefrinu za vzniku noradrenalinu a adrenalinu. Dále katalyzuje

aromatickou O-demethylaci indolaminu, která regeneruje serotonin z 5-methoxytriptaminu. CYP 2D6 se také podílí na regulaci neurosteroidů, jako je hydroxylace progesteronu v polohách C2β, C6β, C16α a C21. CYP 2D6 se podílí na metabolismu léčiv, jako je kodein a nikotin. [76,77]

ZÁVĚR

Hlavní úkoly této bakalářské práce můžeme rozdělit do tří okruhů. V první části bylo stěžejním úkolem pojmenovat a vymezit pojem cytochrom, objasnit vznik názvosloví a popsat základní funkce cytochromu. Při zpracování úvodní části jsem zjistila, že cytochromy P450 tvoří velkou skupinu hemoproteinových enzymů, které jsou přítomny u bakterií, hub, rostlin, hmyzu, ryb, savců a primátů s výjimkou enterobakterií. Zapojují se do různých metabolických a biosyntetických procesů, jak endogenních tak i exogenních látek, což je důležité i z hlediska farmakoterapie. Samotné názvosloví bylo založeno na základě identity sekvence vzhledem k velkému počtu identifikovaných cytochromů P450. Z teoretických poznatků vyplývá, že cytochromy jsou zodpovědné za řadu funkcí v lidském těle. Nesmíme opomenout důležitou funkci cytochromů v metabolismu. Této funkci byla věnována podrobně závěrečná část práce.

V druhé části této teoretické práce bylo zásadním úkolem blíže specifikovat cytochromy, které se nacházejí přímo v mozku. Výsledkem zjištění je, že v mozku se nachází 13 rodin, které se následně dělí do podrodin. Každá podrodina obsahuje své členy. Počet členů cytochromů, jež se vyskytují v mozku je celkem 25 a jejich názvy jsou: 1A1, 1A2, 3A4, 7A1, 8A1, 11A1, 19A1, 21A2, 26A1, 39A1, 46A1, 51A1, 1B1, 2B6, 7B1, 11B1, 11B2, 26B1, 27B1, 2C9, 2C11, 2C13, 2C19, 2D6 a 2E1. Všechny vyjmenované cytochromy jsou pro lidský organismus velmi důležité. Cytochrom 1A se skládá ze dvou členů CYP 1A1 a CYP 1A2. První člen - CYP 1A1 se nachází převážně v neuronech a je zodpovědný za spoluúčast na aktivaci polyaromatických uhlovodíků. Kdežto CYP 1B se objevuje v mozku, kůži, játrech, slezině, ledvinách, placentě. U lidské populace je u lidské populace je CYP 1B1 jedním z hlavních CYP nalezených v mozkových vlásečnicích a velmi zásadně se podílí na důsledcích pro vývoj nádoru, progresi a vývoj protinádorových léčiv. Podrodina CYP 2B metabolizuje převážnou část farmak, např. antidepresiva a antipsychotika, dále metabolizuje návykové látky, jako jsou amfetamin a etanol, a některé další endogenní neurochemické látky, jako je dopamin a serotonin, které působí na centrální nervový systém. CYP 2B6 je lokalizován především v lidských játrech, mozku, střevě, ledvinách a v nižší hladině v plicích. Tento enzym v mozku může metabolizovat nikotin a další endogenní substráty, jako je serotonin a neurosteroidy. Podrodina CYP 2C se skládá z těchto členů CYP 2C8, CYP 2C9, CYP 2C11, CYP 2C13, CYP 2C18 a CYP 2C19. Tyto enzymy cytochromu P450 mají významnou roli v metabolismu léčiv a jiných environmentálních chemikálií a mohou sehrát důležitou roli při regulaci průtoku krve mozkem. Typ CYP 2D6 je

kvůli vysoce polymorfní, což souvisí s jeho vysokou aktivitou. CYP 2D6 aktivuje kodein na morfin, deaktivuje antidepresivum desipramin a převádí účinnou antipsychotickou původní látku risperidon na stejně aktivní metabolit. CYP 2D6 se může zúčastnit metabolismu neurochemických látek, které ovlivňují psychický stav, jako je např. tvorba dopaminu z tyraminu a serotoninu z 5-methoxytriptaminu. CYP 2E byl v lidském organismu popsán pouze jeden člen podrodiny CYP 2E, a to CYP 2E1. Exprese CYP 2E1 byla zjištěna v lidských oblastech mozku, včetně hippokampu, dřeně a substantia nigra, také byla zaznamenána v různých oblastech krysího mozku (např. čichové laloky) a astrocytech. Tento cytochrom sehrává úlohu při vzniku reaktivních kyslíkových radikálů, které zahrnují peroxidaci lipidů a oxidaci DNA, a tím vyvolávají poškození buněk. Podrodina CYP 3A se skládá z několika členů CYP 3A4, CYP 3A5, CYP 3A7 a CYP 3A43. Tato podrodina se podílí na biotransformačních procesech xenobiotik a endogenních látek a navíc chrání živé organismy před škodlivými látkami, které se dostávají do těla potravou. V lidském těle je CYP 3A4 nejrozšířenějším cytochromem a má dominantní roli v metabolismu léčiv. Z teoretických poznatků můžeme vyvodit, že role každého z cytochromů je naprosto odlišná, ale i přesto tvoří všechny nedílnou a nezbytnou součást našeho organismu a zajišťují správnou funkci a zdraví.

Závěrečná část je komplexně věnována metabolismu. Cytochromy P450 jsou enzymy, které se podílí na metabolismu endogenních látek. V této poslední části je také část věnována velmi důležité endogenní látce, cholesterolu, na jehož vzniku se podílí zejména CYP 51. Lze říci, že cytochromy se podílejí na tvorbě žlučových kyselin, steroidních hormonů nebo například při tvorbě hemoglobinu. Jejich důležitou funkcí je také přeměna léčiv, produkce gestagenu, estragenu, glukokortikoidů. Závěrem je však nutno podotknout, že mezi doposud identifikovanými cytochromy P450 je stále ještě skupina enzymů, jejichž funkce nebyly dostatečně osvětleny.

Použitá literatura

1. STIBOROVÁ, MARIE, et al. Význam cytochromů P450 pro lidské zdraví. *Chem. Listy*, 1999, 93: 229-237.

2. GONZALEZ, Frank J. Role of cytochromes P450 in chemical toxicity and oxidative stress: studies with CYP2E1. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 2005, 569.1: 101-110.

3. DEVLIN, Thomas M. *Textbook of biochemistry*. John Wiley & Sons,, 2011.

4. OMIECINSKI, Curtis J., et al. Xenobiotic metabolism, disposition, and regulation by receptors: from biochemical phenomenon to predictors of major toxicities. *Toxicological Sciences*, 2011, 120.suppl 1: S49-S75.

5. WÓJCIKOWSKI, Jacek; DANIEL, Władysława Anna. The brain dopaminergic system as an important center regulating liver cytochrome P450 in the rat. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, 2009, 5.6: 631-645.

6. MIKSYS, Sharon; TYNDALE, Rachel F. Cytochrome P450-mediated drug metabolism in the brain. *J Psychiatry Neurosci*, 2013, 38.3: 152-63.

7. DOSTÁLEK, Miroslav. *Farmakokinetika*. Grada Publishing as, 2006.

8. HASLER, Julia A., et al. Human cytochromes P450. *Molecular Aspects of Medicine*, 1999, 20.1: 1-137.

9. MATOUŠ, Bohuslav. *Základy lékařské chemie a biochemie*. Galén, 2010.

10. INGELMAN-SUNDBERG, Magnus. Human drug metabolising cytochrome P450 enzymes: properties and polymorphisms. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 2004, 369.1: 89-104.

11. ANZENBACHER, Pavel; ZANGER, Ulrich M. (ed.). *Metabolism of drugs and other xenobiotics*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH, 2012.

12. NEBERT, Daniel W.; RUSSELL, David W. Clinical importance of the cytochromes P450. *The Lancet*, 2002, 360.9340: 1155-1162.

13. CAPDEVILA, Jorge H.; HOLLA, Vijaykumar R.; FALCK, John R. Cytochrome P450 and the metabolism and bioactivation of arachidonic acid and eicosanoids. In: *Cytochrome P450*. Springer US, 2005. p. 531-551.

14. SHIMADA, Tsutomu, et al. Activation of chemically diverse procarcinogens by human cytochrome P-450 1B1. *Cancer Research*, 1996, 56.13: 2979-2984.

15. NIWA, Toshiro; MURAYAMA, Norie; YAMAZAKI, Hiroshi. Oxidation of endobiotics mediated by xenobiotic-metabolizing forms of human cytochrome P450. *Current drug metabolism*, 2009, 10.7: 700-712.

16. TANG, Zhongmei; MARTIN, Martha V.; GUENGERICH, F. Peter. Elucidation of functions of human cytochrome P450 enzymes: identification of endogenous substrates in tissue extracts using metabolomic and isotopic labeling approaches. *Analytical chemistry*, 2009, 81.8: 3071-3078.

17. STIBOROVA, Marie, et al. Enzymy metabolizující kontaminanty˚ Zivotního prostředí. *Chemické listy*, 2004, 98.10: 876-890.

18. SHEBLEY, Mohamad, et al. Mechanistic analysis of the inactivation of cytochrome P450 2B6 by phencyclidine: effects on substrate binding, electron transfer, and uncoupling. *Drug Metabolism and Disposition*, 2009, 37.4: 745-752.

19. DE MONTELLANO, Paul R. Ortiz. *Cytochrome P450: structure, mechanism, and biochemistry*. Springer Science & Business Media, 2005.

20. PELKONEN, Olavi, et al. Inhibition and induction of human cytochrome P450 enzymes: current status. *Archives of toxicology*, 2008, 82.10: 667-715.

21. SMUTNY, Tomas; MANI, Sridhar; PAVEK, Petr. Post-translational and post-transcriptional modifications of pregnane X receptor (PXR) in regulation of the cytochrome P450 superfamily. *Current drug metabolism*, 2013, 14.10: 1059.

22. MURRAY, Iain A.; PERDEW, Gary H. Omeprazole stimulates the induction of human insulin-like growth factor binding protein-1 through aryl hydrocarbon receptor activation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2008, 324.3: 1102-1110.

23. HEID, Scott E.; POLLENZ, Richard S.; SWANSON, Hollie I. Role of heat shock protein 90 dissociation in mediating agonist-induced activation of the aryl hydrocarbon receptor. *Molecular pharmacology*, 2000, 57.1: 82-92.

24. PORCELLI, Stefano, et al. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 enzymes and antidepressant metabolism. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, 2011, 7.9: 1101-1115.

25. TEKES, K., et al. Prodrugs and active metabolites among antidepressive compounds. *Neuropsychopharmacologia Hungarica: a Magyar Pszichofarmakologiai Egyesulet lapja= official journal of the Hungarian Association of Psychopharmacology*, 2011, 13.2: 103-110.

26. FERGUSON, Charmaine S.; TYNDALE, Rachel F. Cytochrome P450 enzymes in the brain: emerging evidence of biological significance. *Trends in pharmacological sciences*, 2011, 32.12: 708-714.

27. GAMBARO, Sabrina Eliana, et al. Brain Cytochrome p450 enzymes: a possible Therapeutic Targets for Neurological Diseases. *Therapeutic Targets for Neurological Diseases*, 2015, 2.

28. SHIMADA, Tsutomu. Xenobiotic-metabolizing enzymes involved in activation and detoxification of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons. *Drug metabolism and pharmacokinetics*, 2006, 21.4: 257-276.

29. ZHOU, Shu-Feng, et al. Structure, function, regulation and polymorphism and the clinical significance of human cytochrome P450 1A2. *Drug metabolism reviews*, 2010.

30. WÓJCIKOWSKI, Jacek; BOKSA, Jan; DANIEL, Władysława A. Main contribution of the cytochrome P450 isoenzyme 1A2 (CYP1A2) to N-demethylation and 5-sulfoxidation of the phenothiazine neuroleptic chlorpromazine in human liver—A comparison with other phenothiazines. *Biochemical pharmacology*, 2010, 80.8: 1252-1259.

31. MEYER, Ralf P., et al. Cytosolic persistence of mouse brain CYP1A1 in chronic heme deficiency. *Biological chemistry*, 2005, 386.11: 1157-1164.

32. MEYER, Ralf Peter; PODVINEC, Michael; MEYER, Urs A. Cytochrome P450 CYP1A1 accumulates in the cytosol of kidney and brain and is activated by heme. *Molecular pharmacology*, 2002, 62.5: 1061-1067.

33. MURRAY, Graeme I., et al. Regulation, function, and tissue-specific expression of cytochrome P450 CYP1B1. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 2001, 41.1: 297-316.

34. GAJJAR, Ketan; MARTIN-HIRSCH, Pierre L.; MARTIN, Francis L. CYP1B1 and hormone-induced cancer. *Cancer letters*, 2012, 324.1: 13-30.

35. DUTHEIL, Fabien, et al. Xenobiotic-metabolizing enzymes and transporters in the normal human brain: regional and cellular mapping as a basis for putative roles in cerebral function. *Drug Metabolism and Disposition*, 2009, 37.7: 1528-1538.

36. MIKSYS, Sharon, et al. Smoking, alcoholism and genetic polymorphisms alter CYP2B6 levels in human brain. *Neuropharmacology*, 2003, 45.1: 122-132.

37. KHOKHAR, Jibran Y.; MIKSYS, Sharon L.; TYNDALE, Rachel F. Rat brain CYP2B induction by nicotine is persistent and does not involve nicotinic acetylcholine receptors. *Brain research*, 2010, 1348: 1-9.

38. MERCAPIDE, Javier, et al. Primary gene-engineered neural stem/progenitor cells demonstrate tumor-selective migration and antitumor effects in glioma. *International Journal of Cancer*, 2010, 126.5: 1206-1215.

39. DOLOFF, Joshua C.; SU, Ting; WAXMAN, David J. Adenoviral delivery of pan-caspase inhibitor p35 enhances bystander killing by P450 gene-directed enzyme prodrug therapy using cyclophosphamide+. *BMC cancer*, 2010, 10.1: 487.

40. LEE, Anna M., et al. CYP2B6 genotype alters abstinence rates in a bupropion smoking cessation trial. *Biological psychiatry*, 2007, 62.6: 635-641.

41. DEPAZ, Iris M. Booth, et al. Differential expression of cytochrome P450 enzymes from the CYP2C subfamily in the human brain. *Drug Metabolism and Disposition*, 2015, 43.3: 353-357.

42. GERVASINI, Guillermo; CARRILLO, Juan Antonio; BENITEZ, Julio. Potential role of cerebral cytochrome P450 in clinical pharmacokinetics. *Clinical pharmacokinetics*, 2004, 43.11: 693-706.

43. KOUSALOVÁ, Lucie; BARANOVÁ, Jana; ANZENBACHER, Pavel. Lékové interakce na úrovni cytochromů P450–Část I. Interakce na úrovni CYP3A4. *Klin. Farmakol. Farm*, 2003, 17: 151-157.

44. FRADETTE, Caroline; YAMAGUCHI, Nobuharu; DU SOUICH, Patrick. 5-Hydroxytryptamine is biotransformed by CYP2C9, 2C19 and 2B6 to hydroxylamine, which is converted into nitric oxide. *British journal of pharmacology*, 2004, 141.3: 407-414.

45. MONTOYA, Estrella R., et al. Testosterone, cortisol, and serotonin as key regulators of social aggression: A review and theoretical perspective. *Motivation and emotion*, 2012, 36.1: 65-73.

46. MIKSYS, Sharon, et al. Regional and cellular expression of CYP2D6 in human brain: higher levels in alcoholics. *Journal of neurochemistry*, 2002, 82.6: 1376-1387.

47. COLEMAN, Tanya, et al. The 1′-hydroxylation of Rac-bufuralol by rat brain microsomes. *Drug metabolism and disposition*, 2000, 28.9: 1094-1099.

48. BROMEK, Ewa, et al. Cytochrome P450 mediates dopamine formation in the brain in vivo. *Journal of neurochemistry*, 2011, 118.5: 806-815.

49. FUNCK-BRENTANO, Christian, et al. Measurement of CYP2D6 and CYP3A4 activity in vivo with dextromethorphan: sources of variability and predictors of adverse effects in 419 healthy subjects. *European journal of clinical pharmacology*, 2005, 61.11: 821-829.

50. HADUCH, Anna; BROMEK, Ewa; DANIEL, Władysława A. The effect of psychotropic drugs on cytochrome P450 2D (CYP2D) in rat brain. *European journal of pharmacology*, 2011, 651.1: 51-58.

51. HOWARD, Lisa A., et al. Brain CYP2E1 is induced by nicotine and ethanol in rat and is higher in smokers and alcoholics. *British journal of pharmacology*, 2003, 138.7: 1376-1386.

52. HESSELINK, Jan M. Keppel. Concise guide to the cytochrome P450 system. Drug interaction principles for medical practice. Kelly L. Cozza and Scott C. Armstrong. American Psychiatric Publishing, Washington DC, 2001. Pages: 272. ISBN: 1-58562-000-9. Paperback. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*, 2002, 17.1: 65-66.

53. D'EMPAIRE, Inna; GUICO-PABIA, Christine J.; PRESKORN, Sheldon H. Antidepressant treatment and altered CYP2D6 activity: are pharmacokinetic variations clinically relevant?. *Journal of Psychiatric Practice®*, 2011, 17.5: 330-339.

54. ZANGER, Ulrich M.; RAIMUNDO, Sebastian; EICHELBAUM, Michel. Cytochrome P450 2D6: overview and update on pharmacology, genetics, biochemistry. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 2004, 369.1: 23-37.

55. GUENGERICH, F. Peter. Human cytochrome P450 enzymes. In: *Cytochrome P450*. Springer US, 2005. p. 377-530.

56. ANZENBACHER, P.; ANZENBACHEROVA, E. Cytochromes P450 and metabolism of xenobiotics. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 2001, 58.5-6: 737-747.

57. ZHOU, Shu-Feng; LIU, Jun-Ping; CHOWBAY, Balram. Polymorphism of human cytochrome P450 enzymes and its clinical impact. *Drug metabolism reviews*, 2009, 41.2: 89-295.

58. MANN, Amandeep, et al. The neuroprotective enzyme CYP2D6 increases in the brain with age and is lower in Parkinson's disease patients. *Neurobiology of aging*, 2012, 33.9: 2160-2171.

59. YUE, Jiang, et al. Chronic nicotine treatment induces rat CYP2D in the brain but not in the liver: an investigation of induction and time course. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, 2008, 33.1: 54.

60. MIKSYS, S.; TYNDALE, R. F. Nicotine induces brain CYP enzymes: relevance to Parkinson's disease. In: *Parkinson's Disease and Related Disorders*. Springer Vienna, 2006. p. 177-180.

61. UPADHYA, Sudarshan C., et al. Cytochrome P4502E (CYP2E) in brain: constitutive expression, induction by ethanol and localization by fluorescence in situ hybridization. *Archives of biochemistry and biophysics*, 2000, 373.1: 23-34.

62. BRZEZINSKI, Monica R., et al. Catalytic activity and quantitation of cytochrome P-450 2E1 in prenatal human brain. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1999, 289.3: 1648-1653.

63. KILLER, Nina, et al. Modulation of androgen and estrogen receptor expression by antiepileptic drugs and steroids in hippocampus of patients with temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*, 2009, 50.8: 1875-1890.

64. FUJITAKA, Kazunori, et al. Induction of cytochrome P450 3A4 by docetaxel in peripheral mononuclear cells and its expression in lung cancer. *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 2001, 48.1: 42-46.

65. DE WILDT, Saskia N., et al. Cytochrome P450 3A. *Clinical pharmacokinetics*, 1999, 37.6: 485-505.

66. DUTHEIL, Fabien; BEAUNE, Philippe; LORIOT, Marie-Anne. Xenobiotic metabolizing enzymes in the central nervous system: Contribution of cytochrome P450 enzymes in normal and pathological human brain. *Biochimie*, 2008, 90.3: 426-436.

67. RAUNIO, Hannu, et al. Modeling of interactions between xenobiotics and cytochrome P450 (CYP) enzymes. *Frontiers in pharmacology*, 2015, 6.

68. HODEK, Petr, et al. Modulation of cytochrome P450 enzyme system by selected flavonoids. *Neuroendocrinology Letters*, 2009, 30.1: 67.

69. MATUŠKOVÁ, Zuzana; PORUBA, Martin; ANZENBACHER, Pavel. Cytochromy P450: Role v metabolizmu cholesterolu. *Klin Farmakol Farm*, 2014, 28(4):142-146

70. SCHROEDER, Friedhelm; WOOD, W. Gibson; KIER, Ann B. Lipid domains and biological membrane function. *Cekk Physiology Sourcebook, A Molecular Approach*, 2012, 3: 81-94.

71. SCHROEPFER, George J. Oxysterols: modulators of cholesterol metabolism and other processes. *Physiological reviews*, 2000, 80.1: 361-554.

72. LUBANDA, H.; VECKA, M. Cholesterol–přítel či nepřítel. *Chem Listy*, 2009, 103: 40-51.

73. CHENG, Jeffrey B., et al. Genetic evidence that the human CYP2R1 enzyme is a key vitamin D 25-hydroxylase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101.20: 7711-7715.

74. LORBEK, Gregor; LEWINSKA, Monika; ROZMAN, Damjana. Cytochrome P450s in the synthesis of cholesterol and bile acids–from mouse models to human diseases. *Febs Journal*, 2012, 279.9: 1516-1533.

75. LUND, Erik G.; GUILEYARDO, Joseph M.; RUSSELL, David W. cDNA cloning of cholesterol 24-hydroxylase, a mediator of cholesterol homeostasis in the brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1999, 96.13: 7238-7243.

76. STOFFEL-WAGNER, Birgit. Neurosteroid metabolism in the human brain. *European Journal of Endocrinology*, 2001, 145.6: 669-679.

77. HIROI, Toyoko, et al. Progesterone oxidation by cytochrome P450 2D isoforms in the brain. *Endocrinology*, 2001, 142.9: 3901-3908.

78. Struktura cytochromu P450 3A4. *Trends in Biochemical Sciences* [online]. 2005, 2005(1), 1-62 [cit. 2016-06-25]. Dostupné z: http://www.cell.com/trends/biochemical-sciences/fulltext/S0968-0004(04)00294-4