

**Univerzita Pardubice**  
**Fakulta chemicko-technologická**

**Metabolismus xenobiotik**

**Jana Holubová**

**Bakalářská práce**

**2018**

**Univerzity of Pardubice**  
**Faculty of chemical-technology**

**Metabolims of xenobiotics**

**Jana Holubová**

**Bachelor thesis**

**2018**

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2017/2018

## **ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE**

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Jana Holubová**  
Osobní číslo: **C15213**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Klinická biologie a chemie**  
Název tématu: **Metabolismus xenobiotik**  
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Vypracovat teoretickou rešerši týkající se metabolismu xenobiotik.
2. V úvodu krátce popsat funkční morfologii jater.
3. V další části se zaměřit na xenobiotika, popsat jejich osudy v organismu, zmínit úlohu enzymů.
4. V poslední části popsat metabolismus vybraných xenobiotik.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

**Podle pokynů vedoucího bakalářské práce**

Vedoucí bakalářské práce:

**Mgr. Katarína Vorčáková, Ph.D.**

Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce:

**27. listopadu 2017**

Termín odevzdání bakalářské práce:

**4. července 2018**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.  
děkan

L.S.



prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2018

## **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 jiného subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díly vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

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:

Jana Holubová

## **Poděkování**

Na tomto místě bych ráda poděkovala mé vedoucí bakalářské práce paní Mgr. Kataríně Vorčákové, Ph.D., a také paní Mgr. Šárce Štěpánkové, Ph.D., za odborný dohled, cenné rady a trpělivost při psaní této bakalářské práce.

## **ANOTACE**

Bakalářská práce se věnuje metabolismu xenobiotik. V práci je zmíněna rovněž morfologie jater, která jsou nezbytná pro metabolismus. V dalších kapitolách jsou popsána samotná xenobiotika, také jejich mechanismus vstupu, biotransformace a eliminace z organismu. Biotransformace je popsána pomocí jednotlivých popisů reakcí, kdy pro správný průběh jsou zapotřebí specifické enzymy, které taktéž lze v této práci nalézt. Poslední kapitola je věnována vybraným xenobiotikům, ke kterým se můžeme velice snadno dostat.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Metabolismus, xenobiotika, játra, biotransformace, enzymy, eliminace, nikotin, ethanol, paracetamol, kyselina acetylsalicylová

## **ANNOTATION**

Bachelor thesis deals with metabolism of xenobiotics. In this thesis is also mention of liver morphology which is necessary for metabolism. In following chapters there are described xenobiotics themselves and their mechanism of entrance, biotransformation and elimination from the organism. The biotransformation is described by individual descriptions of reactions which involve specific enzymes which can also be found in this thesis. The last chapter is dedicated to specific xenobiotics which could be easily reached.

## **KEY WORDS**

Metabolism, xenobiotics, liver, biotransformation, enzymes, elimination, nicotine, ethanol, paracetamol, acetylsalicylic acid



## ZKRATKY

ABC	vázané kazetové transportéry (ATP binding cassette)
ADH	alkoholdehydrogenáza (alcohol dehydrogenase)
ADME	absorbce, distribuce, metabolismus, exkrece
ALDH	aldehyddehydrogenáza (aldehyd dehydrogenase)
ASA	kyselina acetylsalicylová (acetylsalicylic acid)
ATP	adenosintrifosfát (adenosine triphosphate)
COX	cyklooxygenáza
CYP	cytochrom P450
EH	epoxidová hydroláza
FMO	flavin monooxygenáza
FOXO	funkční transkripční faktor (forkhead box)
GST	glutathion-S-transferáza
LGL	granulární lymfocyty (large granular lymphocytes)
LPS	lipopolysacharidy
MAO	monoaminoxidáza
MDR1	mnohočetný rezistentní protein (multidrug resistant protein)
NADPH	redukovaný nikotinamidadenindinukleotidfosfát
nAChR	nikotin-acetylcholinové receptory
NAPQI	reaktivní metabolit N-acetyl-p-benzochinonimin
NAT	N-acetyltransferázy
NK-buňky	„přirození zabijáci“ (natural killer cells)
PAPS	fosfoadenosin-5-fosfosulfát
Pgp	P-glykoprotein

ROS	reaktivní druhy kyslíku (reactive oxygen species)
SLC	přenašeče pro rozpuštěné látky (solute carrier)
SULT	sulfotransferázy
UGT	UDP-glukuronosyltransferáza
XO	xanthinoxidáza

## SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: Jaterní parenchym .....	18
Obr. 2: Oxidace benzenu na epoxid.....	27
Obr. 3: Dealkylace .....	28
Obr. 4: Dehalogenace halotanu.....	28
Obr. 5: Redukce nitrobenzenu na anilin .....	29
Obr. 6: Hydrolýza 1a,7b-dihydronafto[1,2- <i>b</i> ]oxirenu na 1,2-dihydronaftalen-1,2-diol.....	30
Obr. 7: Hydratace epoxidu na benzentrans-1,2-dihydrodiol.....	30
Obr. 8: Sulfatace fenolu na fenyl-hydrogen-sulfát .....	31
Obr. 9: Konjugace xenobiotika s glutathionem .....	31
Obr. 10: Acetylace xenobiotika .....	32
Obr. 11: Methylace pyridinu na N-methylpiridin .....	32
Obr. 12: Reakce katalyzovaná CYP450 .....	34
Obr. 13: Strukturní vzorec nikotinu.....	43
Obr. 14: Metabolismus nikotinu .....	45
Obr. 15: Metabolismus ethanolu na acetaldehyd.....	47
Obr. 17: Strukturní vzorec paracetamolu.....	48
Obr. 18: Strukturní vzorec kyselina acetylsalicylové .....	50
Obr. 19: Metabolismus kyseliny acetylsalicylové .....	52

# OBSAH

ÚVOD .....	15
1 FUNKČNÍ MORFOLOGIE JATER .....	16
1.1 Jaterní parenchym .....	17
1.1.1 Jaterní lalůček .....	17
1.1.2 Portální lalůček .....	17
1.1.3 Jaterní acinus .....	17
1.2 Hepatocyty .....	18
1.3 Kupfferovy buňky .....	19
1.4 Endotelové buňky .....	19
1.5 Itóovy buňky .....	19
1.6 Pit buňky .....	19
2 XENOBIOTIKA .....	20
2.1 Mechanismus vstupu .....	22
2.1.1 Vstup látek do krve (resorpce) .....	22
2.1.2 Transport k cílovým buňkám (distribuce) .....	23
2.1.3 Ukládání cizorodých látek v organismu (depot) .....	24
3 BIOTRANSFORMACE .....	25
3.1 Přehled biotransformačních reakcí .....	26
3.2 Fáze I. biotransformace .....	27
3.2.1 Oxidace .....	27
3.2.2 Redukce .....	29
3.2.3 Hydrolýza .....	29
3.2.4 Hydratace .....	30
3.3 Fáze II. biotransformace .....	30
3.3.1 Glukoronidace .....	30

3.3.2 Sulfatace (sulfonace) .....	31
3.3.3 Konjugace s glutathionem .....	31
3.3.4 Acetylace .....	32
3.3.5 Methylace .....	32
4 BIOTRANSFORMAČNÍ ENZYMY .....	33
4.1 První fáze biotransformace .....	34
4.1.1 Cytochrom P450 .....	34
4.1.2 Flavin monooxygenáza .....	35
4.1.3 Alkoholdehydrogenáza .....	35
4.1.4 Oxidázy – monoaminoxidáza, xanthinoxidáza .....	36
4.1.5 Hydrolytické enzymy – epoxidhydroláza, esterázy, amidázy .....	37
4.2 Druhá fáze biotransformace .....	38
4.2.1 UDP-glukuronosyltransferázy .....	38
4.2.2 Glutathion-S-transferázy .....	39
4.2.3 N-acetyltransferáza .....	39
5 ELIMINACE .....	40
5.1 Vylučování močí .....	41
5.2 Vylučování stolicí .....	41
5.3 Vylučování dechem .....	41
5.4 Vylučování mateřským mlékem .....	41
6 METABOLISMUS VYBRANÝCH XENOBIOTIK .....	42
6.1 Tabák .....	42
6.1.1 Nikotin .....	42
6.1.2 Cigaretový kouř .....	44
6.1.3 Metabolismus nikotinu .....	44
6.2 Alkohol .....	45
6.2.1 Ethanol .....	46

6.2.4 Metabolismus .....	46
6.3 Paracetamol .....	48
6.3.1 Metabolismus .....	49
6.4 Kyselina acetylsalicylová.....	50
6.4.1 Metabolismus kyseliny acetylsalicylové .....	51
ZÁVĚR .....	53
ZDROJE.....	54

## ÚVOD

V dnešní době je velice jednoduché dostat do těla spoustu cizorodých látek – xenobiotik. Jsou to látky, které lidské tělo nepotřebuje k vývoji ani ke správnému fungování (na rozdíl od eobiotik). Některá xenobiotika lidé požívají záměrně, ať už to jsou různá farmaka, například volně dostupná proti bolesti, nebo alkohol či kouření, které má negativní dopad na lidské zdraví. Ovšem xenobiotika mohou být přijímána do organismu neúmyslně, například v podobě průmyslových zplodin.

Nejvíce se xenobiotika dostávají do těla skrz dýchání, gastrointestinální trakt či pokožkou. Látky lipofilní povahy prochází snáz pomocí difúze. Samotná distribuce závisí na specifických vlastnostech a také na funkčnosti daných enzymů, které se účastní biotransformace. Biotransformace je děj, při kterém dochází ke změnám ve struktuře látek a jejím úkolem je udržení homeostázy po působení xenobiotika. Je dělena do dvou fází. Fáze I. je řízena cytochromy P450 a dochází ke změně rozpustnosti ve vodě (zvýšení hydrofility). Fáze II. se nazývá konjugační, kdy se metabolit váže s dalšími strukturami, což vede k dalšímu zvyšování polaritě (vyšší hydrofilita), čímž je podpořeno vylučování.

Veškerý metabolismus probíhá v játrech. Je to orgán s největším prokrvením a díky tomu jsou játra metabolickým a detoxikačním centrem.

# 1 FUNKČNÍ MORFOLOGIE JATER

Játra jsou v těle druhým největším orgánem, hned po kůži. Hmotnost se pohybuje okolo 1200 - 1700 g. Játra jsou rozdělena na dva laloky, které jsou od sebe odděleny peritoneální řasou (*ligamentum falciforme hepatis*). Skládají se z malých lalůčků, kterých je více jak 1000 a jsou obklopeny tepnami a žilami. Jaterní tepny a větve portální žíly přivádí živiny a okysličenou krev do sinusoidů, které jsou obklopeny hepatocyty (hlavní stavební jednotky jater tvořící trámce). Játra jsou uložena ve fibrózním vazivovém pouzdře (*capsula glissoni*). Jelikož jsou játra velmi prokrvena, slouží jako hlavní centrum zpracování živin z potravy a jako metabolické a detoxikační centrum (oxidace, methylace, konjugace). Hlavní funkce jater spočívá v syntéze proteinů, které se kontinuálně uvolňují do krve (albumin, fibrinogen, protrombin, lipoprotein). Dále mají játra metabolické funkce – skladování glykogenu, triacylglycerolů, vitamínu A. Probíhá zde také glukoneogeneze (vznik glukózy z necukerných substrátů) či glykogenolýza (glykogen štěpen na glukózu) a degradace cholesterolu. Játra také vylučují žluč, která je nepostradatelná pro zpracovávání lipidů, a také vylučují většinou lipofilní látky, které jsou z látkové přeměny (steroidní hormony, bilirubin) nebo ze střeva. Je to také místo krvetvorby v embryonálním vývoji organismu [1-3].

Vlastní funkční tkáň, parenchym, je tvořen hepatocyty. Dospělý orgán má trámce, které tvoří jedna řada buněk, a jsou vysoce metabolicky aktivní. V prostorech mezi trámci se nachází venózní sinusoidy. Jsou to zvláštní typy krevních kapilár, které mají fenestrovanou stěnu (nevytvořila se u endotelových buněk *lamina basalis*), díky které mohou volně procházet i velké molekuly z krevní plazmy ven. V sinusoidách také nalezneme Kupfferovy buňky, které jsou na povrchu endotelových buněk [2].

Jsou to buňky mononukleárního fagocytárního systému (makrofágy). Prostor mezi hepatocyty a endotelem krevních sinusoid se nazývá Disseho prostor, který slouží pro výměnu látek mezi krví a samotnými jaterními buňkami. Právě zde se nachází hvězdicovité Itovy buňky, které hromadí tuky a vitamín A. Když nastávají patologické stavy organismu, začnou se diferencovat na myofibriloblasty a syntetizují kolagen. Vytváří se tak tzv. jizevnatá tkáň nahrazující hepatocyty a následně dochází k fibróze (zmnožení vaziva na úkor funkční tkáně jako důsledek hojení) [4].



## 1.1 Jaterní parenchym

Jaterní parenchym (obr. 1) je pro lepší porozumění funkce jater a jejich struktury možné rozdělit na tři funkční jednotky – jaterní lalůček, portální lalůček a jaterní acinus [4].

### 1.1.1 Jaterní lalůček

Jaterní lalůček neboli lalůček centrální žíly je strukturální jednotka popisující stavbu jaterního parenchymu. Tvarem připomíná šestiboký hranol, který obklopuje středem protékající centrální žílu. Mezi trámci jsou již zmiňované jaterní sinusoidy a uprostřed trámců se nachází žlučové kapiláry. Lalůček je tvořen polygonální tkání a jeho ohraničení zabezpečuje tenká vrstva kolagenního vaziva, kde se nachází tzv. portální triáda (portobiliární prostor). Tento prostor lze nalézt v místě styku 3-4 sousedních lalůčků. Jsou to tři struktury – žíla (*venula*) z vratnicové žíly (*vena portae*), tepna (*arteriola*) z jaterní typny (*arteria hepatica*) a žlučový kanálek. V tomto jednom lalůčku je možné nalézt 3 až 6 těchto triád. Radiálně uspořádané hepatocyty míří do centra jaterního lalůčku od periferie. V tomto centru nalezneme *vena centralis*, která odvádí krev do *vena hepatica*, která míří až do dolní duté žíly (*vena cava inferior*) [4,5].

### 1.1.2 Portální lalůček

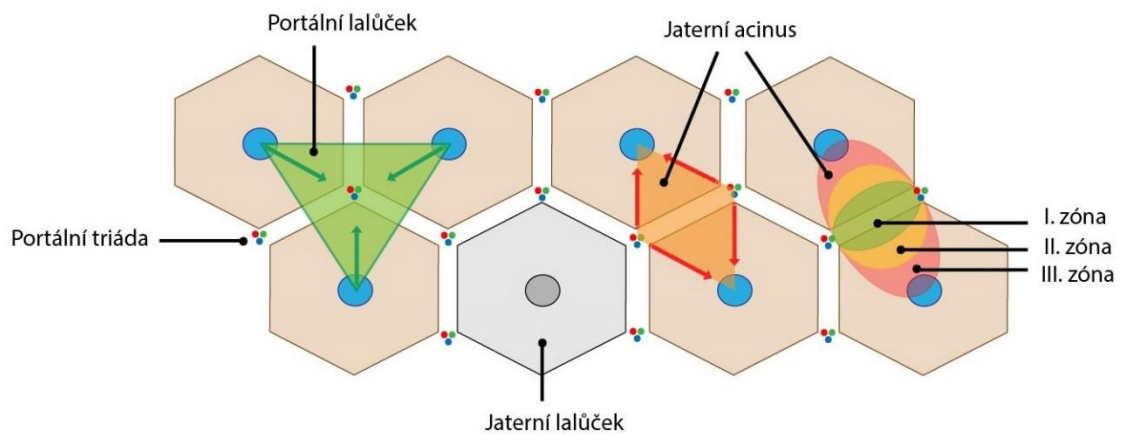
Portální lalůček je funkční jednotkou jater, jejíž vrcholy tvoří centrální žíly sousedních lalůčků, což udává trojúhelníkovitý tvar. Jinak řečeno, tato část jaterního parenchymu je zásobena interlobulární žilou a jejími cirkumlobulárními žilami (tvar trojúhelníku). Také tady dochází k exokrinní funkci jater, jelikož se zde tvoří žluč a následně odtud otéká (secernuje) do žlučovodu portální triády [1].

### 1.1.3 Jaterní acinus

Jaterní acinus je nejmenší funkční jednotka jaterního parenchymu a má oválný tvar. Nachází se mezi dvěma centrálními vénami. Tento acinus je důležitý pro vztah mezi krevní perfúzí, metabolickou aktivitou jater a patologickými procesy. Obsahuje dvě osy - krátkou, kterou tvoří spojnice sousedních portálních triád, a dlouhou, která prochází mezi dvěma sousedními centrálními vénami. Jaterní acinus si lze představit jako dva trojúhelníky, které se dotýkají svými základnami a vrchol tvoří právě centrální vény. Cirkumlobulární žíla a arterie zásobující sinusoidy jaterního acinu probíhají právě základnami [2].

Podle zásobení buněk (udává vzdálenost od žíly a arterie) lze jaterní acinus rozdělit na tři distribuční zóny, což jsou eliptické útvary obklopující krátkou osu. Důležitost tohoto dělení má význam hlavně pro popis patologických stavů [3].

Zóna I. je co nejbližší vzdálenost mezi žilou a artérií, tudíž je i nejvyšší zásobení kyslíku a živin. Probíhá zde hlavně oxidativní metabolismus (proteosyntéza, glukoneogeneze, transaminace, tvorba močoviny, syntéza cholesterolu, tvorba žluči, katabolismus aminokyselin). Zóna II. (přechodná zóna) je větší vzdálenost, závislost na místním i celkovém zásobení krví. Poslední, zóna III., je nejvzdálenější zóna ležící na periferii acinu s nejnižším zásobením kyslíku a živin, a jsou zde lokalizovány redukční a bio transformační procesy (detoxikace, vychytávání glukózy, syntéza glykogenu, glykolýza, lipogeneze, ketogeneze) [4].



**Obr. 1: Jaterní parenchym [4]**

## 1.2 Hepatocyty

Hepatocyty jsou velké polyedrické buňky alespoň s jedním jádrem a tvoří 60 - 80 % veškeré populace jaterních buněk. V cytoplasmě jsou zastoupeny hlavně mitochondrie, díky kterým vykazují vysokou metabolickou aktivitu. Nalezneme zde také endoplazmatické retikulum, drsné i hladké, velké množství glykogenu, lysosomy, tukové kapénky, peroxisomy a Golgiho komplexy. Jaterní buňka má dva póly – krevní a žlučový. Krevní pól (basolaterální) je v Disseho prostoru, je ve styku se stěnami sinusoid a obsahuje specifické receptory. Žlučový pól (kanalikulární) vyčnívá do žlučového kanálku. Díky mnoha mikrokvlům, které jsou na hepatocytech, jsou v kontaktu s krevním řečištěm. Žlučové kapiláry probíhají mezi hepatocyty a míří opačným směrem než krev (od centra k periferii) a vytváří se interlobulární vývody. Terminální vývody – Heringovy kanálky jsou tvořeny epitelem jednovrstevným plochým až kubickým. Jsou to tedy buňky, které zneškodňují toxické látky a vylučují je do žlučových kanálků [6,7].

### **1.3 Kupfferovy buňky**

Kupfferovy buňky neboli tkáňové makrofágy, nalezneme na povrchu sinusoid a mohou migrovat podél jaterního sinusového endotelu. Fagocytují látky jako jsou například albuminy, bakterie i látky, které mohou být potenciálně škodlivé pro organismus a brání tak jejich další cirkulaci. Tyto buňky jsou velice důležité pro vrozenou imunitu. Mohou detekovat imunoreaktivní látky např. lipopolysacharid (LPS), což je součást vnější membrány gram-negativní bakterie a zároveň stouštěč pro imunitní odpověď. Aktivované Kupfferovy buňky vylučují různé mediátory regulující zánět a homeostázu [8].

### **1.4 Endotelové buňky**

Endotelové buňky se nachází ve stěně sinusoid a v prostoru cév. Umožňují propustnost mezi oběhem krve a vnitřním prostředím jater. Hlavním morfologickým znakem je přítomnost tzv. síťové desky (transmembránové fenestrace). Je velmi porézní a přispívá ke správnému udržení funkcí jater a homeostázy. Dochází k ovlivnění clearance zbývajících chylomikronů z cévního systému, čímž dochází ke zvýšení chylomikronů, což následně vede k vývoji aterosklerózy. Mají také nejvyšší endocytózní kapacitu ze všech lidských buněk. Jsou důležité pro zachování nízkého tlaku navzdory velkým změnám jaterního toku krve během trávení. Podílejí se na regeneraci jater po akutním poškození. Za patologických podmínek mají klíčovou roli v zahájení a vývoji chronických onemocnění jater, jelikož ztrácí své ochranné vlastnosti a podporují angiogenezi a vazokonstrikci [9,10].

### **1.5 Itóovy buňky**

Itóovi buňky skladují ve svých vakuolách vitamín A. Jsou umístěny v Disseho prostoru, který se rozprostírá od endoteliálních buněk. Představují asi 8 % jaterních buněk a skladují až 80 % tělesného retinolu. Když dochází k buněčnému stresu, Itóovi buňky transdiferencují do myofibrinoblastů a produkují extracelulární matrix včetně kolagenu [11].

### **1.6 Pit buňky**

Pit buňky (jamkové buňky) jsou buňky jaterního sinusoidu, morfologicky jsou nazývané jako granulární lymfocyty (LGL) s velkou cytotoxickou aktivitou. Funkčně jsou podobny NK-buňkám (natural killer). Adherují k endotelovým buňkám a Kupfferovým buňkám. Tyto buňky byly nejdříve popsány v játrech, nicméně byly nalezeny také ve slezině, plicích nebo v kostní dřeni. Proliferují (množí se) lokálně po stimulaci např. interleukinu-2. S Kupfferovými buňkami úzce spolupracují pro vychytávání patogenů a nádorových buněk [12].

## 2 XENOBIOTIKA

Xenobiotikum (z řeckého slova *xenos* – cizí, *bios* – život) je sloučenina, která tělu není vlastní a je vyrobena různými chemickými cestami. Na rozdíl od eobiotik, které tělo využívá jako stavební materiál či zdroj energie, jsou xenobiotika látky, které nejsou pro tělo a jeho fungování nutné, neslouží ani ke správnému vývoji ani jako zdroj energie. Do skupiny eobiotik můžeme zařadit vše, co lidský organismus potřebuje, například živiny, minerály, vitamíny. Pod pojmem xenobiotika si lze představit léky, přídavky v potravě (potravinářská aditiva), chemické karcinogeny, PCB (polychlorované bifenyly), environmentální polutanty (cigaretový kouř, kofein, dioxiny, nátěrové hmoty) a mnoho dalších [13-15].

V posledních letech je značný nárůst používání xenobiotik. Je velice důležité vědět, jak se lidský organismus vyrovnává s cizími látkami a jak tyto látky působí na buněčné úrovni. Z těchto poznatků vychází hlavně farmakologie, toxikologie, léčba drogové závislosti či léčba zhoubných nádorových onemocnění. V dnešní době se vyskytuje více jak 200 000 druhů člověkem vytvořených chemikálií [13].

Xenobiotika nejsou pouze syntetického původu, ale také přírodního. Mnoho přírodních cizorodých látek dostáváme do těla potravou (rostlinná barviva, aromatické látky) i v podobě různých přírodních kosmetických produktů (včelí vosk). Léčiva a potravinová aditiva lidé přijímají záměrně, nicméně některá zcela neúmyslně (průmyslové zplodiny) [16].

Cizorodé látky se do organismu dostávají nejčastěji gastrointestinálním traktem a dýchacím systémem, méně také samozřejmě kůží, což je největší lidský orgán, a tudíž jej nelze zanedbat. Právě kůží mohou prostupovat látky, které jsou lipofilní povahy. Dýchacím ústrojím projdou látky ve formě aerosolu či plynné látky. Látky z potravy, které mají lipofilní charakter, jdou gastrointestinálním traktem samovolnou difúzí. Xenobiotika podobající se živinám jsou absorbována aktivně. Princip metabolismu je založen na přeměně daného xenobiotika tak, aby byla zamezena cirkulace do dalších částí organismu. Také se redukuje potenciální toxicita a je ulehčena následná eliminace z organismu [16].

Distribuce xenobiotik závisí na jejich fyzikálních, chemických i biologických vlastnostech, které určují vazebnost na plasmatické proteiny, případně jejich ukládání v tukové tkáni. Tyto látky se v lidském těle metabolizují za pomoci více než 30 různých enzymů. Přeměna probíhá v játrech, velmi zřídka se stane, že látky projdou v nezměněné formě [13].

Nejčastěji se xenobiotika z těla dostávají močí, stolicí a dechem, ale také pocením či se mohou vyskytovat v mateřském mléce. Rozpoznání jednotlivých metabolitů má zásadní vliv pro určení léčiva. Taktéž je důležité rozpoznání daných enzymů a faktorů katalyzující reakce, jelikož díky tomu lze předvídat nežádoucí účinky a interakce léčiv [16].

Interakce xenobiotik s biologickými materiály závisí na chemické struktuře samotného xenobiotika, včetně chemického uspořádání, elektrochemických vlastností, distribuce elektronů a ionizace, zároveň také na enzymatické výbavě organismu. Absorpce a distribuce jsou pasivní pochody, na které má vliv velikost a lipofilita molekul. Xenobiotika se váží dle konformace a konfigurace na transportní látky (proteiny) či biotransformační enzymy (změní strukturu za účelem zamezit dalšímu vstup do tkání a orgánů, omezit interakci a urychlit eliminaci). Po navázání je xenobiotikum hydrofilnější a lépe rozeznatelné pro systémy, které jsou zodpovědné za eliminaci. Pro přesnou prostorovou strukturu k interakci s enzymy a transportními systémy jsou udávány rozdíly v chiralitě látky (není stejný zrcadlový obraz ani rovina symetrie, organismus reprezentuje chirální, asymetrické prostředí). Enantiomery jsou látky, které mají jeden chirální střed, ovšem existují ve dvou formách, tudíž mají shodné fyzikálně-chemické vlastnosti, až na ty, které interagují s jinými chirálními faktory (polarizované světlo, reakce s chirálními činidly) reagují odlišně. Lze tedy předpokládat rozdílnou biologickou aktivitu a rozdílné chování. Důležitou vlastností enzymů je jejich selektivita. Enzym, který upřednostní jeden enantiomer xenobiotika před druhým je stereoselektivní. Stereospecifická reakce je naopak ta, při níž je jeden enantiomer produktu při biotransformaci tvořen více, než druhý – schopnost enzymu přednostně tvořit jeden z enantiomerů [16].

Enzymy katalyzující fázi I. pomáhají k přeměně hlavně lipofilních xenobiotik. Ty se stanou polárními. Následně enzymy ve fázi II. mohou provést konjugační reakce pro snazší eliminaci z organismu. Nejčastěji enzymy fáze II. reagují s produktem metabolismu fáze I., mohou také interagovat s více polárními xenobiotiky, popřípadě eliminovat z těla metabolity pomocí pasivních či aktivních transportních mechanismů. Věk a genetika mají velký význam i pro citlivost a účinky určitých xenobiotik, samozřejmě také samotná toxicita a délka působení a koncentrace má velký vliv na poškození organismu [14].

## 2.1 Mechanismus vstupu

Cesty, kterými xenobiotika mohou pronikat do těla, jsou různé. Gastrointestinálním traktem se samozřejmě dostávají nejčastěji, kdy se xenobiotika musí dostat přes buňky lemující trávicí trakt. Rychlost průchodu je závislá na lipofilitě v místě kontaktu. Enterální cesta je běžná zejména pro struktury s farmakologickou aktivitou, ovšem musí se dbát na léky, které jsou degradovány enzymy v zažívacím traktu a také pro nestabilní léčiva vůči pH. Látky absorbované v žaludku či tenkém střevě odchází přímo do jater, kde může dojít k metabolismu před vstupem do celkového oběhu. Díky HCl v žaludku mohou být xenobiotika ionizována, tedy rychlost absorpce je výrazně ovlivněna hodnotou pH. Xenobiotikum, které nebylo absorbováno, pronikne do tenkého střeva. V membráně enterocytů jsou aktivní kanály transportu, ty umožňují buňce pumpovat látky, které vstoupily difuzí zpět do lumenu (nutno ATP z hydrolyzy). Nejvýznamnější transportér je P-glykoprotein (Pgp; nadměrná exkrece snižuje cytotoxicitu protinádorových léčiv) nebo multidrug resistance protein 1 (MDR1) zajišťující přenos neutrálních a kationtových molekul často proti koncentračnímu gradientu. Samotný metabolismus probíhá nejvíce v místě vstupu a výstupu [17,18].

Další, velice důležitou cestou, jsou plíce a kůže. Opět xenobiotika musí prostoupit skrz buňky, které lemují průchody dýchacích cest. Ve vlhkém prostředí jsou vstřebávány struktury hydrofilní, naopak hydrofobní látky se vstřebávají v plicních sklípcích. V alveolách plic je velice málo buněčných vrstev oddělující vzduch od krevních cév. Právě díky tomu mohou velmi dobře a rychle xenobiotika rozpustná v tucích vstoupit do krevního oběhu a následně cirkulovat až do mozku. Koncentrace xenobiotik je závislá na fyzické námaze a zdravotním stavu plic. U kůže je velký počet buněčných vrstev oproti plicím, a tím pádem je prostupnost pomalejší. Podle povahy látky může dojít pouze k lokálnímu podráždění nebo může projít až do krevního řečiště. Nejrychlejším vstupem xenobiotik je intravenózní cesta [17].

### 2.1.1 Vstup látek do krve (resorpce)

Nejdříve vstupují xenobiotika do krevního řečiště a následně se pomocí plazmatických proteinů dostávají k cílovým buňkám orgánů. Velmi často musí projít skrz fosfolipidovou membránu (obsah dalších bílkovin či cholesterolu), která vytváří bariéru mezi krví a tkáněmi (epitely). Množství resorbované látky závisí na velikosti epitelu. Jakým způsobem vstupuje látka do organismu závisí na struktuře (lipofilita), také na samotném zdroji, kde se vyskytuje (potrava, voda, vzduch). V malé míře jsou bílkoviny rozptýleny a tvoří póry, díky nimž je možný transmembránový průchod malých molekul rozpustných ve vodě. Při porušení sliznice pomocí vysoce reaktivní látky dochází ke zvýšenému průchodu dalších toxických látek. Mohou se také

do organismu dostat látky, které mají podobné struktury jako fyziologické, a jsou schopny se navázat do specifických kanálů a vstoupit do krve. Často je vyjádřen koeficient rozdělení lipid/voda (relativní rozpustnost v tucích), což je důležité pro vstup do buňky nebo orgánu. Například nenabitě molekuly mají vyšší koeficient rozpustnosti, tudíž jsou více rozpustné (oproti nabitým molekulám), a díky tomu nejsnadněji difundují skrz lipidové membrány [17,19,20].

### **2.1.2 Transport k cílovým buňkám (distribuce)**

Xenobiotikum, aby se dostalo do cílové struktury či k receptorům, musí nejdříve projít skrz buněčné membrány. Tyto membrány jsou dvouvrstvé, z každé strany mají nabitě částice, které jsou k sobě poutány elektrostatickými interakcemi, kdy dovnitř směřují uhlovodíkové řetězce tvořící lipofilní část membrány (fosfolipidy – fosfatidylcholin, fosfatidylserin). Proteiny a sacharidy jsou také součástí buněčné membrány a zajišťují transport, biokatalýzu a imunitní rozpoznávání cizích struktur. Právě tyto membrány jsou klíčové pro látkovou výměnu s okolím a pro samotnou distribuci [21].

Krevní kapilára patří k nejdůležitější resorpční ploše, jelikož vytváří pomocí jedné řady epitelových buněk bariéru mezi krví a tkáněmi. Každá část těla obsahuje trochu odlišné bariéry, a díky tomu se projeví i odlišné míry poškození různých tkání. Například xenobiotika vstupující do srdce nejsou závislá na fyzikálně-chemických vlastnostech, jelikož kapilární síť srdečního svalu obsahuje tzv. transcytotickou aktivitu zabezpečující transport tekutin z krevního řečiště do intersticia. Srdce je tedy považováno za nejohroženější a nejnáchylnější orgán působením xenobiotik. Další krevní kapiláry obsahují buněčné stěny (endotelové buňky obsahují fenestrace kryty pouze diafragmou), které propouští jen určité látky s nízkou molekulovou hmotností (většina léčiv). Extrémní případ je hematoencefalická bariéra v mozku (nejtěsnější spojení buněk), ve které nelze najít žádné póry, což znamená, že xenobiotikum by muselo projít přímo skrz endotelovou buňku. Přesný opak je volná výměna vyskytující se mezi játry a krví, kde se nachází síť krevních kapilár, které jsou propustné i pro makromolekuly. Právě kvůli tomu jsou játra zasažena při chronických otravách. Transport látek může probíhat několika mechanismy – volnou difúzí (lipofilní látky), zprostředkovanou difúzí (kanály), aktivním transportem (potřeba ATP nebo elektrochemického gradientu iontů), pasivním transportem, vezikulárním transportem a endocytózou (látky se dostávají do buněk v roztoku, srdce) [19,20].

### 2.1.3 Ukládání cizorodých látek v organismu (depot)

Distribuce látek neprobíhá rovnoměrně, a tak se látky mohou ukládat v orgánech, vytvoří tzv. depot, z něhož jsou postupně uvolňovány další (pozměněné) struktury i po ukončení expozice xenobiotikem. Již v krvi jsou samozřejmě xenobiotika reverzibilně vázána na transportní proteiny (albumin), díky tomu je organismus chráněn před akutním účinkem, ale také prodlužuje účinek daného xenobiotika. Pokud je na cílovém orgánu aktivní transport pro danou strukturu, tak se postupně z komplexu vyvazuje a následně se absorbuje [21].

Játra a ledviny umí silně zadržovat cizorodé struktury (těžké kovy, organické látky), váží je například na ligandin a metalothionein. Látky lipofilní povahy se dobře ukládají v tukové tkáni (hlavně organické látky – PCB, dioxiny, insekticidy, dichlordifenytrichloethan). Následně, když člověk rychle zhubne nastává otrava. Látky se také mohou ukládat do kostí. Pokud je ve styku hydroxyapatit z kostí s tělesnými tekutinami nastává výměna iontů, a tím pádem se ionty cizorodé látky mohou zabudovávat do struktury kosti [21].

Xenobiotika obsahující kovy jsou akumulována v buňkách tak, že využívají funkce transportních proteinů, které zpracovávají esenciální kovy. Kovy jsou koncentrovány v mozku, konkrétně v astroglíích a neurotoxicita kovů (Pb, Hg; ve velkém množství i Mn, Cu) je zkoumána pomocí kovové fyziologie buněk mozku [22].

Absorpce xenobiotik obsahujících halogeny (chlorované a bromované bifenyly, naftaleny, dibenzodioxiny) je řízena hlavně lipofilitou a rozpustností. Cirkulace krví je opět pomocí nespecifických vazeb na plazmatické proteiny a na komponenty buněk. Hlavní skladovací orgány jsou játra a tuková tkáň. Více substituované izomery jsou odolnější vůči metabolismu. Po dávce xenobiotik je možné nalézt vysoké koncentrace ve svalech, nadledvinách a také v plicích [23].



### 3 BIOTRANSFORMACE

Biotransformace je proces, kdy biologické systémy vytváří ve sloučeninách chemické změny. Tento proces je vysoce specifický v reakcích, enantiomerech a místě. Enzymy zjednodušují proces chemických změn, a díky tomu je biotransformace důležitá pro vývoj léčiv. Je to také hlavní mechanismus pro udržení homeostázy, když na organismus působí cizí struktura [24,25].

Při zvýšené expozici xenobiotik se buňky přizpůsobují pomocí zvýšené biosyntézy proteinů, které se následně podílejí na xenobiotickém metabolismu či se mohou aktivovat buněčné xenosenzory modulující genovou expresi. Biotransformace xenobiotik často vytváří reaktivní druhy kyslíku (ROS), což jsou modulátory signální transdukce. Funkční transkripční faktory FOXO jsou důležité pro buněčnou odezvu na stres. Faktory se aktivují díky ROS, a také díky genům kodujícím antioxidantní proteiny (vytvoření regulačního obvodu) [26].

Množství pacientů s předepsanými léky stále stoupá. V provedených studiích se ukázalo, že 87,1 % lidí starších 50ti let užívají nejméně jedno léčivo za den, z čehož 43,3 % bere léků více jak 5. Pravidelné užívání více druhů léků vede ke zvýšenému riziku nežádoucích účinků, což je pátá nejčastější příčina smrti. Samozřejmě musíme brát v úvahu také individuální rozptyl léku a také výchylyk související s věkem, kdy starší pacienti trpí více na nežádoucí účinky [27].

Velice důležité je studium absorpce, distribuce, metabolismu a exkrece (ADME), aby byly zjištěny parametry pro vývoj léků z modelů *in vivo* i *in vitro*, díky nimž lze předpovědět chování léku. Při použití *in vitro* lze sledovat více ADME parametrů, například permeabilitu, metabolickou stabilitu, vazbu na proteiny či interakce mezi léčivy [28].

Metabolismus xenobiotik a detoxikace jsou děleny do tří různých fází. Jen malá část xenobiotik je vyloučena v nezměněné podobě močí či stolicí bez metabolické degradace. Fáze I. a II. mění látky na více rozpustné ve vodě, také často na méně aktivní deriváty pro vylučování. Takto odráží I. fáze produkci reaktivních skupin oxidací, kdy je primárně řízena enzymy – cytochromy P450 (CYP). Poté jsou reaktivní skupiny použity pro konjugaci malých polárních molekul, což je fáze II, která vede ke zvýšení polaritě. Šest enzymových skupin (rodin) poskytuje detoxikaci a vylučování xenobiotik pomocí konjugace. III. fáze (transportéry) je zásadní ve farmakokinetice, jelikož umožňuje migraci hydrofilních molekul, které nemohou proniknout do buněčných membrán. Většina léčiv přichází do buněk skrz transportéry, kdy transmembránový kanál obsahuje hydrofilní postranní řetězce aminokyselin, které překrývají lipidovou dvouvrstvu. Skupiny proteinů jsou rozděleny do dvou hlavních skupin – 49 ATP-vázaných kazetových transportérů (ABC) a 362 rozpuštěných látek (SLC). Tyto struktury hrají

důležitou roli pro absorpci, distribuci a vylučování léků, také se podílí na mnoha fyziologických procesech. ABC transportéry potřebují pro správnou funkci energii ve formě ATP, která se uvolní pomocí hydrolýzy. Ovšem problém je, že aktivní transportéry způsobují resistenci vůči chemoterapeutikům tak, že je nadměrná exprimace (vytlačování) ABC proteinu (u 40 % nádorů). SLC transportéry jsou důležité pro usnadnění pasivní difúze dle koncentračních gradientů. Dalším problémem jsou proléčiva (netoxická), která se musí převést na samotný aktivní lék pomocí metabolické konverze. A právě problém s konverzí může vést k nežádoucím vedlejším účinkům [27].

### **3.1 Přehled biotransformačních reakcí**

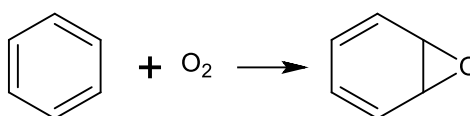
Samotná biotransformace bývá rozčleněna do dvou samostatných fází. Fáze I. je konverze zahrnující oxidaci, redukci, hydrolýzu, hydrataci a izomeraci. Při této fázi jsou ve struktuře xenobiotik funkční skupiny buď odkryty nebo se nově naváží a tyto procesy často vedou pouze k malému zvýšení hydrofility. Pomocí enzymů je xenobiotikum převedeno na neaktivní metabolit, ovšem někdy je možná naopak bioaktivace. Právě dané enzymy (játra, gastrointestinální trakt, plíce, ledviny) katalyzující fázi I. jsou indukovány specifickými chemickými strukturami [29].

Fáze II. je konjugační, což představuje reakci endogenní sloučeniny se samotným xenobiotikem (jeho funkční skupinou) či metabolitem vzniklým při konverzi. Tato fáze se skládá z glukoronidace, sulfonace, methylace, acetylace, konjugace s glutathionem a konjugace s aminokyselinami (glycin, taurin, kyselina glutamová). Z této fáze odchází struktury, které jsou znatelně hydrofilnější (polárnější) a tím je podpořeno vylučování pomocí ledvin. Konečná část fáze II. směřuje téměř vždy k detoxikaci (deaktivace původní chemické struktury). Není vždy nutná fáze I. pro následující biotransformační fázi II. Konkrétně morfin je konjugován s kyselinou glukuronovou za vzniku morfin-3-glukuronidu hned, na rozdíl od heroínu, kdy je nutná nejdříve hydrolýza a následný vznik stejného metabolitu, jako u morfinu. Následný transport je považován za třetí fázi metabolismu [16,25,29,30].

## 3.2 Fáze I. biotransformace

### 3.2.1 Oxidace

Oxidace je reakce, která začleňuje kyslík do substrátu pomocí enzymů (monooxygenázy v endoplasmatickém retikulu). Jedná se o jednu z nejčastějších reakcí biotransformace. Oxidace katalyzované cytochromem P450 je specifická tím, že se zavádí polární funkční skupina do chemické struktury. Aerobní organismy přeměňují xenobiotika pomocí oxidačních procesů, do kterých lze zahrnout hydroxylaci, dealkylaci, oxidační deaminaci, oxidační dehalogenaci, N-/S-oxidaci, oxidaci alkoholů a aldehydů [31]. Reakční schéma oxidace benzenu na epoxid je zobrazeno na obr. 2.



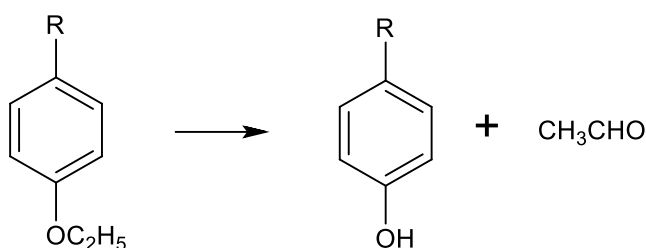
Obr. 2: Oxidace benzenu na epoxid [32]

- **Hydroxylace**

Tato reakce patří mezi nejběžnější při biotransformaci xenobiotik s alifatickým řetězcem či aromatickým kruhem. Hydroxylace spočívá v tom, že dojde k připojení hydroxylové skupiny a tím se sníží lipofilita. Mohou vznikat hydroxyderiváty, které rychleji podléhají konverzi nebo konjugačním reakcím. Na druhou stranu také mohou vznikat sloučeniny, které jsou více toxické než původní struktura xenobiotika (vznik epoxidů). Aromatická hydroxylace představuje reakci nenasycených kruhů, které vytváří epoxidové meziproducty (oxiranové cykly, arenové oxidy, jsou reaktivní a nestabilní) a tím přidávají kyslík skrz nenasycenou dvojnou vazbu. Tímto mechanismem je transformován např. benzen, jehož toxické účinky souvisí se vznikem aplastické anémie. Extrémně reaktivní meziproducty reagují s buněčnými komponentami, které jsou v jejich blízkosti. Naopak méně reaktivní meziproducty mohou cirkulovat do vzdálenějších míst organismu a poté následně reagovat se specifickou cílovou buňkou. Také hydroxylace nenasycených alifatických sloučenin může vést k tvorbě epoxidu skrz nenasycenou vazbu. Konkrétně vinylchlorid dává za vznik chloracetaldehydu, a vzniká zároveň meziproduct chlorethylenoxid reagující s bazemi nukleových kyselin, což je hlavní příčina mutagenního a karcinogenního potenciálu vinylchloridu [32].

- **Dealkylace**

Dealkylační reakce se účastní sekundární a terciální aminy nebo xenobiotika, která mají alkoxy- (zobrazeno na obr. 3) a alkyl-thiolovou skupinu. Alkylové skupiny, které jsou připojeny k atomům N, O, S jsou odstraněny dealkylačními reakcemi, což znamená oxidaci alkylové skupiny. Přechná hydroxyalkylová struktura je často nestabilní a ztrácí příslušný aldehyd. Samotná délka řetězce je důležitá, jelikož rozhoduje o tom, zda bude probíhat dealkylace či oxidace alkylové skupiny. Čím delší bude řetězec, tím stoupá pravděpodobnost oxidace koncového atomu uhlíku [32].



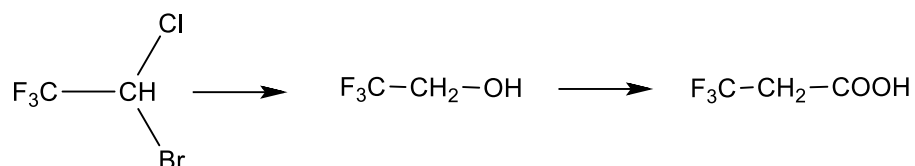
**Obr. 3: Dealkylace [32]**

- **Oxidační deaminace**

Oxidační deaminace je reakce, při které se aminoskupina primárních aminů (hydraziny, arylaminy, arylamidy) nahradí oxoskupinou, kdy z aminu vznikne daný keton a uvolní se amoniak [16].

- **Dehalogenace**

Pomocí oxidace může být z xenobiotika odštěpen halogen. Například anestetikum halothan je zbaven chloru a bromu, kdy následně vznikne příslušný alkohol a karboxylová kyselina (trifluoroctová) (obr. 4) [16].



**Obr. 4: Dehalogenace halotanu [16]**

- **N-/S-oxidace**

Podle složení xenobiotika jsou pomocí enzymů struktury oxidovány. Jestliže obsahují N (aminy, amidy, ...) podléhají N-oxidaci, pokud obsahují S nastává S-oxidace, kdy dojde ke vzniku solfoxidů a sulfonů [16].

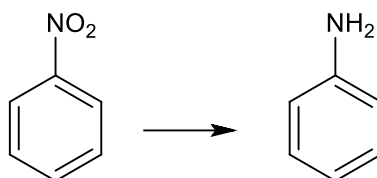
- **Oxidace alkoholů, aldehydů**

Oxidace je katalyzována řadou enzymů (např. alkoholdehydrogenáza – ADH), kdy primární alkoholy dávají za vznik aldehydům a sekundární alkoholy dávají za vznik ketonům, které se tvoří značně pomaleji. Zvýšená aktivita ADH je spojena se zvýšením hepatotoxicity allylalkoholu (toxický metabolit při oxidaci alkoholů, vznik akroleinu). Aldehydy mohou podlehnout oxidaci na kyseliny za katalýzy aldehyddehydrogenázy (ALDH), či aldehydové oxidázy a xanthinoxidázy (XO) [32].

### 3.2.2 Redukce

Redukce při biotransformačních reakcích je méně významná ve srovnání s oxidací, ovšem pro některá xenobiotika je to podstatná metabolická cesta. Redukci podléhají nitrosloučeniny, azosloučeniny, N-/S-oxidy, karbonylové sloučeniny a chinony [16].

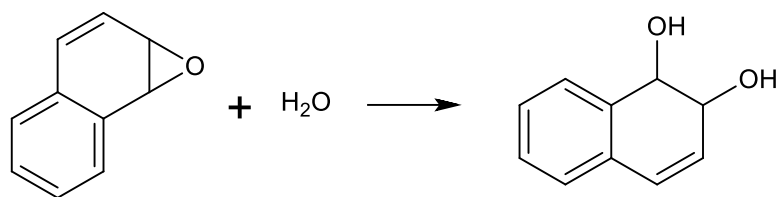
Redukce může být katalyzována mikrosomálními či cytosolovými reduktázami, nebo také střevními bakteriemi, které obsahují reduktázy za anaerobních podmínek, kdy dochází k využití NAD(P)H. Nejčastěji dochází k redukci nitro a azo skupin, nicméně aldehydy, ketony, chinony, halogenované uhlovodíky mohou být také redukovány. Například redukcí azobarviv vznikají aromatické aminy se zvýšenou toxicitou [32]. Na obrázku 5 je zobrazena redukce nitrobenzenu na anilin.



**Obr. 5: Redukce nitrobenzenu na anilin [32]**

### 3.2.3 Hydrolýza

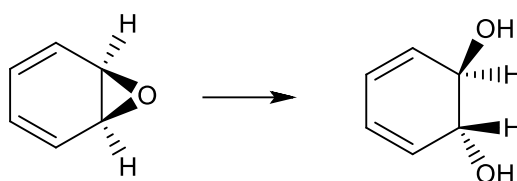
Hydrolýza je často katalyzována specifickými hydrolázami (lipázy, esterázy, fosfatázy), kdy dochází ke štěpení jednoduchých vazeb, ale také může probíhat neenzymaticky. Této reakci podléhají estery, epoxidy (zobrazeno na obr. 6), amidy, hydrazidy a karbamáty. Například lipázy mají široké využití pro biotransformaci farmak či jejich meziproductů [16,32].



Obr. 6: Hydrolýza 1a,7b-dihydronafto[1,2-*b*]oxirenu na 1,2-dihydronaftalen-1,2-diol [32]

### 3.2.4 Hydratace

Struktury, které obsahují atomy kyslíku (například alkenové epoxidy, arenové oxidy) mohou podléhat hydrataci katalyzované epoxidovou hydrolázou. Tento enzym lze nalézt v hladkém endoplazmatickém retikulu a v cytosolu, konkrétně v játrech a plicích, kde je vysoká aktivita cytochromu P450, jelikož právě ten produkuje epoxidy. Hydratace může být považována za detoxikační, jelikož dihydrodiolové produkty jsou často značně méně chemicky reaktivní než samotný epoxid, produkty jsou *trans*-dioly. Konkrétní příklad, hydratace epoxidu na benzentrans-1,2-dihydrodiol, je zobrazen na obr. 7 [32].



Obr. 7: Hydratace epoxidu na benzentrans-1,2-dihydrodiol [32]

## 3.3 Fáze II. biotransformace

Fáze II. se nazývá konjugační nebo syntetická a je důležitá pro přípravu xenobiotik na exkreci díky konjugaci. Z fáze I. mají xenobiotika větší polaritu, jsou to hydroxylované deriváty. Následně jsou konjugovány s molekulami (kyselina glukuronová, sulfát, glutathion) a díky tomu vzniknou struktury (konjugáty) s vyšší rozpustností ve vodě, a poté mohou být vyloučeny do moči nebo žluči. Většina enzymů druhé fáze se nachází v cytoplasmě [33].

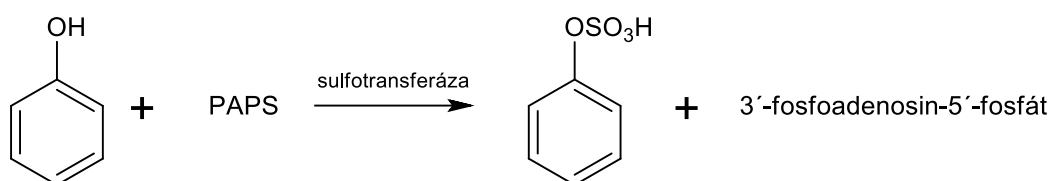
### 3.3.1 Glukoronidace

Glukoronidace za katalýzy glukuronosyltransferázou (UGT) je jedna z nejčastějších konjugačních cest u lidí. Donor glukuronylu je UDP-glukuronát (uridin-difosfát-glukuronová kyselina syntetizována z glukózy-1-fosfátu) za pomoci enzymů UGT, které se nachází v endoplazmatickém retikulu a cytosolu. Typickými substráty jsou například alkoholy, fenoly či karboxylové kyseliny, nebo také 2-acetylaminofluoren (karcinogen), anilin či steroidy. Kyselina glukuronová (polární ve vodě rozpustná sacharidová molekula) se může vázat na struktury, které obsahují kyslík, síru nebo dusík. Neopomenutelná je také pro metabolismus

endogenních struktur jako je bilirubin, žlučové kyseliny, mastné kyseliny, hormony štítné žlázy, vitamíny rozpustné v tucích. Je to reakce sloužící k eliminaci pro endogenní i exogenní sloučeniny. Různé odchylky v enzymatickém systému glukuronyltransferáz mohou mít za následek hyperbilirubinemii (Crigler-Najjarův syndrom, Gilbertova nemoc) [13,29,32].

### 3.3.2 Sulfatace (sulfonace)

Sulfatace se účastní endogenní molekuly (neuromediátory, steroidní hormony) i xenobiotika (alkoholy, aminy, látky obsahující kyslík). Tato reakce je důležitá pro zpracování fenolových a alkoholových struktur. Dochází tedy k navázání sulfátové části k hydroxylové skupině. Samotný přenos sulfátů probíhá v cytosolu hepatocytů pomocí sulfotransferáz (lze je také nalézt v gastrointestinální sliznici a v ledvinách). Příklad konkrétní sulfatace je na obr. 8, kdy je přeměněn fenol na fenolsulfát. Pro průběh reakce je potřeba také koenzymu, který se vytváří z ATP ve dvoustupňové reakci s anorganickými sulfáty, fosfoadenosin-5-fosfosulfát (PAPS). Síran může být nahrazen jinými anionty, nicméně to může vést k následné toxicitě po vyčerpání ATP. Anorganický sulfát může být vyčerpán v důsledku velkých dávek paracetamolu (acetaminofen), protože se spolu lehce konjugují. Sulfotransferázy jsou klasifikovány do dvou rodin SULT1 a SULT2 [32,34].



Obr. 8: Sulfatace fenolu na fenyl-hydrogen-sulfát [32]

### 3.3.3 Konjugace s glutathionem

Glutathion (GSH) je tripeptid, který obsahuje kyselinu glutamovou, glycin a cystein (jeho SH skupina je hlavní reakční část molekuly), nalezneme jej hlavně v játrech. Konjugace představuje přidání glutathionu k molekule a následně časté odstranění dvou aminokyselin za vzniku cysteinu. Reakce mohou být katalyzovány glutathiontransferázami. GSH má velice důležitou obrannou úlohu, jelikož SH skupina reaguje s reaktivními částmi cizorodých sloučenin a významně se podílí na odstranění reaktivních meziproductů. Potenciálně toxické elektrofilní látky jsou konjugovány s nukleofilním GSH pomocí katalýzy glutathion-S-transferázy dle reakce uvedené na obr. 9 [13,32].



Obr. 9: Konjugace xenobiotika s glutathionem [13]

### 3.3.4 Acetylace

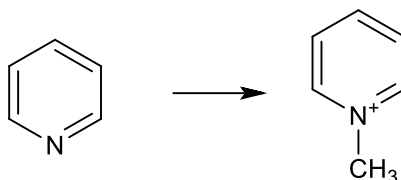
Acetylace je důležitá reakce pro všechny struktury obsahující aminoskupinu (aminokyseliny, aminy, hydraziny). Podléhají i látky s hydroxylovou skupinou, jako například cholin, thiol. Acetylaci katalyzují acetyltransferázy, které jsou v cytosolu buněk v játrech, žaludeční slinici a bílých krvinkách. Enzymy využívají jako kofaktor acetyl-CoA. V první řadě je acetylace enzymu s následným přidáním substrátu a přenesení acetylové skupiny na substrát. Enzymy jsou rozděleny do dvou skupin - NAT1 (játra, střeva) a NAT2 (ve většině tkání). Hlavním donorem acetylu je acetyl-CoA, kdy samotná acetylace je katalyzována enzymy dle obecné rovnice uvedené na obr. 10 [13,32,34].



Obr. 10: Acetylace xenobiotika [13]

### 3.3.5 Methylace

Methylace, kdy se přidává  $\text{CH}_3$  k molekule (obr. 11), není až tak častá u xenobiotik, ale je nepostradatelná pro biotransformační reakce endogenních sloučenin, jako jsou nukleové kyseliny, katecholaminy. Jako jediná z konjugačních reakcí poskytuje metabolity se sníženou rozpustností [25].



Obr. 11: Methylace pyridinu na N-methylpyridin [32]



## 4 BIOTRANSFORMAČNÍ ENZYMY

Jak již bylo zmíněno, játra hrají velice významou roli při biotransformačních reakcích. Jelikož obsahují značné množství mitochondrií, mají vliv na energetický metabolismus. Zároveň hepatocyty obsahují drsné endoplasmatické retikulum (syntéza proteinů na ribozomech, lipofilní xenobiotika jsou dobře rozpustná v lipidové dvojvrstvě endoplasmatického retikula) a hladké endoplasmatické retikulum (obsah biotransformačních enzymů, další jsou v cytosolu). Tyto struktury jsou důležité pro vylučování produktů biotransformace z hepatocytů do žluče a krve. Biotransformační enzymy cirkulují do celého těla, do kůže, plic, nosní sliznice, očí, gastrointestinálního traktu, ledvin, srdce, mozku, placenty a mnoha dalších orgánů [35].

Transformaci nepolárních endogenních i exogenních sloučenin na hydrofilní deriváty zabezpečují právě enzymové systémy. Díky tomuto metabolismu je zhoršena nežádoucí akumulace lipofilních látek strukturami, které usnadňují jejich vyloučení z buněk či přímo z organismu. Z fáze I. odchází xenobiotika polárnější a reaktivní, následně ve fázi II. jsou lepšími substráty pro metabolické enzymy, kdy dochází ke konjugaci a poté k následné eliminaci z organismu [36].

Samotná struktura (uspořádání aminokyselin) specifického enzymu katalyzující biotransformaci se může lišit individuálně u každého z nás, a tím pádem mohou nastat rozdíly v rychlosti biotransformace. Tímto se zabývá farmakogenetika, což je obor studující dědičné rozdíly v enzymech [25].

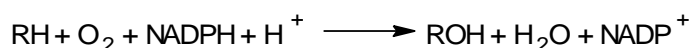
Dva nejhlavnější enzymy jsou CYP a UGT, jelikož hrají klíčovou roli pro clearance (závislost až 90 % léků na clearance pro eliminaci z těla). Clearance znamená očištění určitého objemu plazmy od nějaké látky za jednotku času. Po účinku těchto enzymů jsou metabolity méně aktivní než původní struktury, avšak může nastat situace, kdy je metabolit vysoce reaktivní (zvýšená farmakologická aktivita, toxický) [37].

CYP je pro fázi I. klíčový. Enzymy fáze II. jsou schopny konjugovat exogenní molekuly za použití endogenních kofaktorů. Změna enzymu může mít velký vliv na účinnost léku. Jaterní funkce jsou regulovány pomocí souborů nukleárních receptorů, kterým se také říká xenosensory (váží endogenní a exogenní molekuly) a iniciují indukci [35].

## 4.1 První fáze biotransformace

### 4.1.1 Cytochrom P450

CYP superrodina obsahuje více než 50 bílkovin katalyzujících oxidační reakce různých xenobiotik. Můžeme je nalézt v lipofilních membránách v hladkém endoplasmatickém retikulu jater a dalších tkání, kde se následně reformují do vezikul (mikrosomy). CYP 1-4 jsou důležité pro metabolismus xenobiotik, další CYP se podílí na metabolismu endogenních struktur. Zároveň jsou také zodpovědné za bioaktivaci mnoha chemických toxinů či karcinogenů. Obecná rovnice katalyzovaná právě CYP450 je uvedena na obr. 12 [38].



**Obr. 12: Reakce katalyzovaná CYP450 [13]**

CYP mohou katalyzovat mnoho typů reakcí, například oxygenaci, dehydrogenaci a redukci. Oxygenace (přidání atomu kyslíku do vazby C-H čímž vznikne hydroxylovaný metabolit, nebo do C=C a tím vznikne epoxid) dává za vznik stabilnímu či nestabilnímu metabolitu, kdy může dojít ke spontánnímu rozpadu na alkylovou skupinu, amoniak, halogen (oxidační dealkylace, deaminace, dehalogenace). Dehydrogenace znamená, že dojde k odstranění dvou atomů H (takovýmto způsobem vzniká reaktivní hepatotoxický metabolit paracetamolu). Redukce je taková reakce, při které jsou na sloučeninu přeneseny elektrony [39].

Enzym je charakterizován jako mikrosomální monooxygenáza. Je pro něho důležitý přísun redukčních ekvivalentů z NADPH. U člověka bylo identifikováno 107 genů kódujících CYP s 18 rodinami a 45 podrodinami, z čehož se podařilo identifikovat a charakterizovat 57 genů. Tyto enzymy mají širokou substrátovou specifitu, a to může znamenat konkurenci daných substrátů pro stejný enzym [35].

Při biotransformaci fáze I. enzymy CYP zavede do molekul atom kyslíku a díky tomu vznikne funkční skupina, která je schopna konjugovat endogenní molekuly ve fázi II. CYP jsou rozdělny do tří hlavních rodin, které jsou důležité pro metabolismus xenobiotik – 1, 2 a 3, kdy CYP2 a CYP3 se také podílí na metabolismu endogenních sloučenin (steroidy, lipidy) [33].

Inhibice závisí na dávce, malá koncentrace inhibitoru je potenciálně selektivní pro jeden CYP, vyšší koncentrace může znamenat, že inhibitor je neselektivní, tedy může inhibovat několik enzymů CYP. Teofylin, který se používá na léčbu astmatu je metabolizován nejprve N-demetylací (pomocí CYP1A2) a následně hydroxylací (pomocí CYP1A2, CYP2E1, CYP3A4). Inhibice CYP1A2 a CYP3A4 makrolidovými antibiotiky by změnila metabolismus a způsobila toxicitu [35].

#### **4.1.2 Flavin monooxygenáza**

Flavin monooxygenázy (FMO) patří mezi oxidoreduktázy a taktéž potřebují pro správnou funkci NADPH a O<sub>2</sub>. Při redukci nastává reakce s NADPH, a to následně vede k tvorbě redukované flavinu a NADP. Když nastává oxidace, redukováný flavin reaguje s kyslíkem za vzniku C4a-hydroperoxyflavinu. Reakce katalyzované FMO mohou být katalyzovány i CYP. FMO katalyzují oksyločovací reakce, což znamená zavedení atomu kyslíku do substrátu a druhý je redukován na vodu. Přechodně vzniká stabilní adukt C4a-kyslíku, v závislosti na protonovém stavu reaguje s nukleofilními nebo elektrofilními substráty (rozdělí se vazba kyslík-kyslík) s atomy dusíku, síry a fosforu, které se vyskytují v xenobiotických [40,41].

FMO se významně podílejí na klíčových biologických procesech začínaje katabolismem, detoxikací, biosynéz až po vedení axonu. Mnoho z těchto enzymů má nezastupitelnou roli v katabolismu, biosyntéze hormonů, vitamínů nebo při pomoci obraně organismu. V závislosti na funkcích, mohou být FMO rozděleny do 8 skupin. Skupiny A a B potřebují donor elektronů z NAD(P)H. Skupiny C až F obsahují dva proteiny, které se skládají z monooxygenázy a flavinreduktázy. Následně skupina G a H obsahuje monooxygenázu, která redukuje kofaktor flavinu, protože oxiduje substrát [41].

#### **4.1.3 Alkoholdehydrogenáza**

Alkoholdehydrogenáza obsahuje ve svém aktivním centru zinek (ve formě Zn<sup>2+</sup>), kde se dějí veškeré redoxní reakce. Funkce zinku spočívá v tom, že má schopnost aktivovat substráty koordinací Zn-O [42].

ADH je enzym důležitý pro metabolismus alkoholů, konkrétně pro oxidaci za použití NAD<sup>+</sup> jako kofaktoru, čímž se získá NADH s odpovídající karbonylovou sloučeninou – aldehydy, ketony (u ethanolu na acetaldehyd). Taktéž je ADH schopna oxidovat různé typy neurotransmiterů – dopamin, serotonin, norepinefrin (adheze je vyšší než na ethanol) a podílí se na regulaci metabolismu katecholaminů. ADH se nejvíce nachází v jaterním a žaludečním epitelu (skupina ADH I a IV.), také v mozku (ADH III, Purkyňovy buňky). ADH je schopna

katalyzovat zpětnou redukci aldehydu. Zvýšení úrovně ADH vyvolané díky chronické konzumaci alkoholu pravděpodobně souvisí s narušením metabolismu neurotransmiterů, a to má za následek silnější touhu po alkoholu. Samotná aktivita ADH je hlavní limitující faktor pro metabolismus alkoholu a jeho eliminaci, ovšem koncentrace acetaldehydu je závislá na hladině alkoholu i ADH a ALDH [43,44].

#### **4.1.4 Oxidázy – monoaminoxidáza, xanthinoxidáza**

Monoaminoxidázy (MAO) patří mezi flavinové enzymy a katalyzují oxidativní deaminace aminových neurotransmiterů (dopamin, serotonin, epinefrin) za použití kyslíku (akceptor elektronů). Jsou rozděleny do skupin A a B (jsou kódovány oddělenými geny, které si jsou ze 70 % podobné). Savci mají obě skupiny, které nalezneme na vnější membráně mitochondriálních buněk většiny tkání. Inhibice MAO způsobí zlepšení nálady, ovšem farmakologické přípravky měly vedlejší účinky (nutno omezit příjem aminů) a proto se nepoužívají [45].

Izoforma MAO A rozkládá hlavně serotonin a MAO B metabolizuje dopamin a fenylalanin. Nicméně obě formy katalyzují reakce stejnými mechanismy. V první části metabolismu nastává redukce, kdy 2 atomy vodíku jsou přeneseny ze substrátu na flavin (snížení na FADH<sub>2</sub>). Následně dochází k oxidaci zpět na FAD pomocí kyslíku (na hydroperoxid) [46].

XO je enzym obsahující molybden, který je důležitý pro purinový metabolismus a také katalyzuje oxidaci hypoxanthinu, xanthinu na kyselinu močovou. Taktéž je schopen vytvořit ROS, díky čemuž je předpoklad pro ischemicko-reperfuzní poškození díky zvýšené aktivitě superoxidů a peroxidů vodíku. XO lze najít v intracelulárním prostoru a také v krvi, kdy se hovořilo o tom, že XO je také důležitá pro patogenezi chronického srdečního selhání [47].

Je to důležitý ukazatel pro nemoc zvanou dna, kdy dochází k hyperurikémii, a následnému usazování kyseliny močové v kloubech či v ledvinách. Léčba dny tudíž zahrnuje farmaka inhibující XO nebo zvyšující exkreci kyseliny močové (allopurinol), ovšem je to spojeno s mnoha nežádoucími účinky [48].

Zvýšení sérových hladin XO může nastat při dalších patologických stavech, jako je hepatitida, zánět, rakovina [49].

#### 4.1.5 Hydrolytické enzymy – epoxidhydroláza, esterázy, amidázy

Epoxidy jsou látky, které jsou vysoce reaktivní, nejsou stabilní ve vodném prostředí a meziprodukty jsou mutagenní (naváží se na proteiny a nukleové kyseliny). Nejčastěji vznikají z oxidativního metabolismu xenobiotik, také pomocí CYP. Právě epoxidhydrolázy (EH) jsou enzymy katalyzující hydrataci reaktivních epoxidů na odpovídající dihydrodiol. Díky zásahu EH vznikají stabilnější a méně reaktivní sloučeniny. Konkrétně mikrosomální epoxidhydrolázy (mEH) jsou důležité pro metabolismus xenobiotik, kdy mEH katalyzují rozpad genotoxických a karcinogenních epoxidů. Mikrosomální epoxidhydrolázy nalezneme ve všech tkáních, ale největší hladiny mEH jsou v játrech a ledvinách. U aromatických polycyklických uhlovodíků (benzo(a)pyren), které jsou přítomny v tabákovém kouři, stabilizuje dihydrodiol epoxidy a tím pádem zvyšuje mutagenitu či karcinogenitu. EH má úkol při detoxikaci a bioaktivaci prokarcinogenů [50].

Esterázy jsou enzymy katalyzující hydrolytické štěpení esterové vazby mezi karboxylovou skupinou (-COOH) alkoholovou skupinou (-OH) ve vodě. Naopak v organickém rozpouštědle mohou katalyzovat reverzní reakci - tvorbu esterové vazby (esterifikace). Aktivní místo umístěné v alfa helixu vždy obsahuje trojici aminokyselinových derivátů – serin, aspartát (nebo glutamát), histidin. Serin váže karbonylový uhlík esterové vazby, vzniká tak tetrahedrální meziprodukt, který je stabilizován His a Asp (resp. Glu). Alkoholová složka esterové vazby je odštěpena a kyselá složka je esterovou vazbou vázána na Ser za vzniku kovalentního meziproduktu. Následuje hydrolýza tohoto kovalentního meziproduktu za vzniku nového tetrahedrálního meziproduktu a uvolnění acylu [51].

Mezi hlavní esterázy patří například acetylcholinesteráza, karboxylesteráza, cholesterolesteráza. Esterázy se odlišují od lipáz díky substrátové specifitě, což je dáno rozdílnou strukturou aktivního místa. Lipázy preferují jako substráty triacylglyceroly obsahující mastné kyseliny s dlouhým řetězcem, protože mají aktivní místo kryté hydrofobní doménou. Díky tomu mají lipázy jiné vlastnosti, než esterázy, které mají acyl-vázající jamku [52].

Esterázy a lipázy mohou mít velké uplatnění v potravinářském průmyslu (úprava tuků), farmaceutickém průmyslu (antibiotika, protizánětlivá farmaka), ale také v syntéze biopolymerů, výrobě nafty [51].

Proteázy a amidázy jsou enzymy, které nalezneme v každé tkáni, hrají důležitou roli v metabolismu, imunitní odpovědi, apoptóze (řízená buněčná smrt), regeneraci či signální transdukci. Proteázy jsou klíčové pro homeostázu, jelikož byla zjištěna spojitost mezi genetickým onemocněním a proteolytickou aktivitou (kaskáda proteáz je faktor pro vyvolání rakoviny a samotné progrese nádoru či Alzheimerovy choroby) [53].

Amidázy (amidohydrolázy) jsou enzymy katalyzující hydrolýzu vazby C-N amidových sloučenin a následně vznikají dané karboxylové kyseliny a amoniak. Amidázy obsahují serinové a glycinové deriváty s triádou Lys-Ser-Ser. Rodina amidáz má více než 200 enzymů, které lze najít v rostlinách, mikroorganismech i u savců. Zastupují různé funkce a činnosti jako je například katabolismus neuromodulačních mastných kyselin [54,55].

## **4.2 Druhá fáze biotransformace**

### **4.2.1 UDP-glukuronosyltransferázy**

Skupina UGT je tvořena 22 proteiny, které jsou následně rozčleněny do 5 rodin a 6 podrodin (dle sekvence). Podrodiny UGT1A a UGT2B jsou důležité enzymy pro ukončení biochemických reakcí a také zvyšují renální eliminaci nepolárních (lipofilních) xenobiotik. Hlavní úloha UGT je katalýza kovaletní vazby kyseliny glukuronové na substrát s vhodnou funkční skupinou (glukuronidace, dle nukleofilní substituce 2. řádu) [37].

Enzymy UDP-glukuronosyltransferázy katalyzují přenos kyseliny glukuronové z UDP-glukuronové kyseliny na kyslík, dusík, síru. Zhruba 20 % užívaných farmak podléhá glukuronidaci pomocí UGT, jehož inhibice či indukce má dopad na změnu koncentrace farmak v krevním oběhu, a díky tomu jsou hlavní enzymy pro metabolizaci léků. Většina glukuronidů nejsou aktivní metabolity, nicméně acyl-glukuronidy (vznik ze sloučenin obsahující skupinu COOH), mohou být potencionálně toxické [56].

Lidský gen UGT1 na chromozomu 2q37 produkuje funkční enzymy (UGT1A1, UGT1A4 – 10), například UGT1A1 je zapojen v metabolismu bilirubinu [56].

Enzymy UGT jsou vázány na vnitřní membráně a na luminu endoplasmatického retikula, což s sebou nese výhody i nevýhody. Mezi výhody lze řadit to, že jsou přímo u metabolitů z fáze I., ovšem nevýhodou je omezený přístup xenobiotických substrátů, kofaktorů, a díky tomu může dojít ke snížení aktivity UGT [57].

#### **4.2.2 Glutathion-S-transferázy**

Enzymy rodiny glutathion-S-transferázy (GST) jsou důležitou součástí II. fáze biotransformace. Podílí se na detoxikaci farmak a různých xenobiotik. GST se rozděluje do tříd GSTM1 a GSTM2, ty se konkrétně podílí na glukonjugaci hlavních metabolitů [58].

GST jsou multifunkční enzymy, které lze nalézt v různých formách (více než 100 izoenzymů). Hlavní funkce je založena na konjugaci elektrofilních xenobiotik, což slouží jako obrana buněčných složek z toxických látek [59].

GST jsou všudypřítomné enzymy, které konjugují hydrofobní a elektrofilní sloučeniny s GSH pomocí kovalentní vazby (přes -SH skupinu). Tyto enzymy jsou velice důležité při ochraně proti oxidativnímu stresu v souvislosti s ROS. V živočišných buňkách se GST váží na hem, protoporfyrin IX a biliverdin. Někdy se můžeme setkat s označením GST jako ligandy než transferázy, právě kvůli schopnosti nekovalentně vázat bilirubin a další toxické metabolity s vysokou afinitou [60].

#### **4.2.3 N-acetyltransferáza**

N-acetyltransferázy jsou rozděleny do dvou skupin NAT1 a NAT2. Mají nepostradatelnou roli při konjugaci léků a různých xenobiotik, které obsahují arylaminovou strukturu (aromatické aminy) a mění se na aromatické amidy. Podle enzymatické aktivity jsou rozděleny na pomalé a rychlé acetylátory [61].

Podílí se na metabolismu endogenních i exogenních sloučenin, stejně jako CYP450 a GST. Reakce, které jsou katalyzovány NAT často vytváří méně toxické metabolity a tudíž je můžeme považovat za detoxikační. Ovšem také se může stát, že vzniknou reaktivnější sloučeniny, jelikož některé deriváty v kombinaci s oxidačním metabolismem katalyzovaným CYP450, mohou být substráty pro NAT [62].

## 5 ELIMINACE

Vylučování xenobiotik z těla je úzce spjato s biotransformací, jelikož látky, které jsou lipofilní se vylučují obtížně. Tedy je důležité před vyloučením snížit lipofilitu (zvýšit polaritu) metabolitů. Dá se říci, že ve všech sekretech, které tělo vyprodukuje lze nalézt různé cizorodé látky, které byly vstřebány do organismu. Nejdůležitější je vylučování močí, ovšem další cesty jako například vylučování stolicí, vydechováním či v menší míře sekrety jako je pot, slzy či mateřské mléko nelze opomenout. Některá xenobiotika (podobající se endogenním žlučovým kyselinám) jsou vylučována žlučí, ovšem jejich kinetika eliminace je pomalá a často zůstávají v enterohepatální cirkulaci. Jedná se o fyziologickou resorpci sloužící k uchování biologických struktur [21,63].

Játra mají velice důležitou roli při detoxikaci xenobiotik (toxinů, farmak) a také endogenních sloučenin (žlučové kyseliny, bilirubin, hormony). Ze zmíněných látek jdou některé do hepatocytů a následně jsou vyloučeny do žluči bez toho, aniž by došlo k významné biotransformaci, nicméně na eliminaci se také podílí ledviny. Samotná detoxikace probíhá pomocí dopravních mechanismů (příjem, sekrece), jindy sloučeniny podléhají různým modifikacím (fáze I., fáze II.) [64].

Důležité jsou jaterní transportéry, ABC transportéry, SLC transportéry, které jsou umístěny na sinusové membráně hepatocytu, kde zprostředkovávají příjem endogenních a cizorodých sloučenin z krve. Konkrétně ABC transportér P-glykoprotein (MDR1 – gen kódující právě Pgp) se podílí na sekreci xenobiotik a jejich metabolitů do žluči. Oproti tomu struktura MRP3 na sinusovém pólu zprostředkovává sekreci metabolitů do krevního řečiště a následný transport do moči. Bylo prokázáno, že tyto jaterní transportéry jsou regulovány xenobiotickými receptory, které působí jako senzory pro různé cizorodé látky [65].

Pro správnou funkci vylučování je také důležitá výživa, jelikož je potřeba mnoho živin, které se zapojují do konjugace a eliminace s toxickými látkami – glutathion, glycin, taurin. Nedotatek těchto látek narušuje fyziologickou eliminaci a vzniká toxická bioakumulace v organismu. Neopomenutelná je nerozpustná vláknina nacházející se v ořechách, semenech, zelenině či fazolích, která pomáhá lepšímu průchodu odpadu v gastrointestinálním traktu [63].



## **5.1 Vylučování močí**

Funkce ledvin spočívá v tom, že vychytávají metabolické hydrofilní produkty z oběhu, které se následně vyloučí močí. Eliminace xenobiotik zahrnuje glomerulární filtraci a tubulární sekreci. Malé molekuly (do 65 kDa) projdou glomerulem, ale velké či nabitě struktury se musí navázat na transportér. Renální proximální tubuly produkují transportéry zprostředkovávající sekreci a reabsorpci xenobiotik. Nejdříve jsou přijímány organické ionty z krve pro renální sekreci a poté jsou vychytány transportéry. Transportéry na membráně předají ionty do ultrafiltrátu (následně končí v moči) a transportéry na bazolaterální membráně je posílají zpět do krve. Ovšem závisí také na reaktivitě a vazbě na intracelulární komponenty, jelikož xenobiotika se mohou usadit uvnitř tubulových buněk. Pokud dojde ke změně produkce či funkce daného transportéru, může dojít k akumulaci toxické látky, což může vést k senzibilizaci ledvin a k poškození (rozpouštědla obsahující halogeny, herbicidy, těžké kovy, beta-laktamová antibiotika, antivirotika, chemoreapeutika) [66].

## **5.2 Vylučování stolicí**

Fekálně jsou primárně vylučovány lipofilní sloučeniny a jejich metabolity. Po hepatickém zpracování jdou metabolity do žluči, která se vylučuje do střev. Některé sloučeniny se do lumen střeva dostávají exfoliací epitelu či exsudací (pronikání tekutiny) skrz sliznici [63].

## **5.3 Vylučování dechem**

Plíce jsou vstupním portálem, ale také místem eliminace. Tato cesta eliminace je efektivní pouze pro plyny. U farmak se jedná hlavně o vylučování anestetik například po chirurgickém zákroku. Ethanol, který ještě nebyl zmetabolizován, je eliminován velice málo, ovšem rovnováha mezi krevním a alveolárním vzduchem je využita pro dýchací zkoušku ke stanovení hladiny alkoholu v krvi [67].

## **5.4 Vylučování mateřským mlékem**

Kojení novorozenců je velice důležité, nicméně je třeba brát ohled na podávání léků kojící matce. Většina léků se vylučuje minimálně, jistá rizika to samozřejmě obnáší. Více se do mléka vylučují léčiva lipofilní a s nízkou molekulovou hmotností, jelikož projdou pasivní difúzí do mléčné žlázy. Kyselější pH mléka má za následek retenci těchto látek a je tedy omezen přenos léčiv zpět do oběhu [68].

## 6 METABOLISMUS VYBRANÝCH XENOBIOTIK

### 6.1 Tabák

Tabák (*Nicotiana tabacum*) je rostlina, kterou si sposta lidí dopřává ke kouření kvůli účinku nikotinu, nicméně rostlina obsahuje více než 20 dalších alkaloidů podobajících se nikotinu, ale samotná rostlina obsahuje až 98 % právě nikotinu. Z hlediska toxikologie je nutné rozlišit účinek samotného nikotinu a cigaretového (tabákového) kouře. Kouření cigaret patří v dnešní době mezi hrozbu po celém světě, jelikož každým rokem podle WHO zemře 12 % dospělých, což je zhruba 5 milionů úmrtí právě kvůli kouření. Smrt má souvislost s kardiovaskulárním onemocněním (patogeneze způsobení endoteliální dysfunkci). Cigaretový kouř obsahuje mnoho látek, které zasahují do organismu a mohou být základem pro aterosklerózu či trombózu, taktéž působí na reprodukční poruchy [69,70].

Kuřáci mají dvakrát větší riziko vzniku diabetu mellitu II., poruchy glukózové tolerance a citlivosti na inzulin. Mění se také dynamika cévní stěny, jelikož je ovlivněna glukózová homeostáza a hemodynamika prostředí, to může mít za následek kalcifikaci tepen (arteriální tuhost). Právě arteriální tuhost je ukazatelem pro kardiovaskulární onemocnění. Úroveň arteriální tuhosti hovoří o endoteliální dysfunkci. Snížená produkce NO (oxidu dusnatého) narušuje vazodilataci, což je jeden z klíčových mechanismů pro patogenezi endoteliální dysfunkce a kardiovaskulárních onemocnění [71].

#### 6.1.1 Nikotin

Nikotin (obr. 13) je alkaloid farmakologicky účinný (proti hmyzu, mikroorganismům) a právě díky němu vzniká závislost na kouření (podoba molekuly s acetylcholinem – neurotransmitter mozku). Nikotin s anabasinem, kotininem a anabasaminem vytváří skupinu ligandů pro nikotinové acetylcholinové receptory (nAChR), ovšem jsou méně aktivní než nikotin. Anabasin nebo také neonikotin je alkaloid studován pro léčbu schizofrenie, jelikož blokuje nAChR, inhibuje aktivitu acetylcholinesterázy, také má účinky na vlákna hladkého svalstva, krevní tlak či inhibici enzymů. Nikotin hraje důležitou roli při vývoji rakoviny plic či kardiovaskulárních onemocnění, také působí ve formě oxidačního stresu, což může vést k oxidaci lipidů, inaktivaci bílkovin, narušení membrán či poškození řetězce DNA [72].

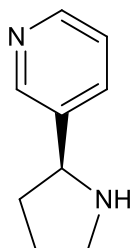
Při podání nikotinu dochází k uvolnění acetylcholinu, norepinefrinu, dopaminu, serotoninu či vazopresinu. Je to vysoce návyková látka, která vyvolává vazokonstrikci, tachykardii a zvyšuje krevní tlak. Nikotin je klasifikován jako stimulant autonomních ganglií (stimulant

centrální nervové soustavy), který působí v nižších dávkách na gangliovou stimulaci či ve vyšších dávkách blokuje gangliovou stimulaci [73].

Nikotin má cytotoxické a genotoxické účinky, zároveň má také účinky antioxidační. Účinek nikotinu je striktně závislý na dávce a době expozice. Vysoké dávky jsou cytotoxické, neurotoxické, což je zprostředkováno mechanismem oxidativního stresu. Oproti tomu nízká dávka redukuje právě oxidativní stres, což lze využít pro léčbu neurodegenerativních onemocnění, jako je Parkinsonova či Alzheimerova choroba [72].

Snadno překonává membrány i hematoencefalickou bariéru. Bylo prokázáno působení nikotinu v biologických funkcích – genová exprese, regulace sekrece hormonů či enzymové aktivity. Hlavní metabolismus probíhá v játrech, kde dojde k různým metabolickým změnám. Nitrosaminy patří k nejvýznamnějším metabolitům. Nikotin působí v oblasti vegetativních ganglií a ve dřeni nadledvin (kde se uvolňuje adrenalin), také zvyšuje krevní tlak a hladinu krevního cukru, koncentraci mastných kyselina a katecholaminů [70].

Absorpce nikotinu začíná již v dutině ústní, ale probíhá také kůží, plicemi (nejrychlejší), močovým měchýřem a gastrointestinálním traktem. Rychlost absorpce závisí na povaze membrán a na pH prostředí. Neprotonovaný nikotin („volný“) obsahuje dva atomy dusíku. První proton, který se chce navázat na molekulu se váže na dusík v pětičlenném kruhu (je více zásaditý). Neprotonovaný nikotin je těkavější, tudíž je schopen vstoupit do plynné váze a tím snadněji projde lipidovými membránami. Čím vyšší zásaditost prostředí, tím roste podíl neprotonované formy a více se jej ukládá v dýchacím ústrojí a tím více jej jde do mozku (zvýšení návyku). Všechny formy nikotinu jsou ve vodě lehce rozpustné, dobře se rozpouští v plicních tekutinách a v krvi. Na metabolismu nikotinu se podílí cytochrom P450 a FAD (monooxygenázy), podílí se na fázi I. – mikrozomální oxidace. Ve fázi II. dochází k N- a O-glukuronidaci [70,74].



**Obr. 13: Strukturní vzorec nikotinu [75]**

### 6.1.2 Cigaretový kouř

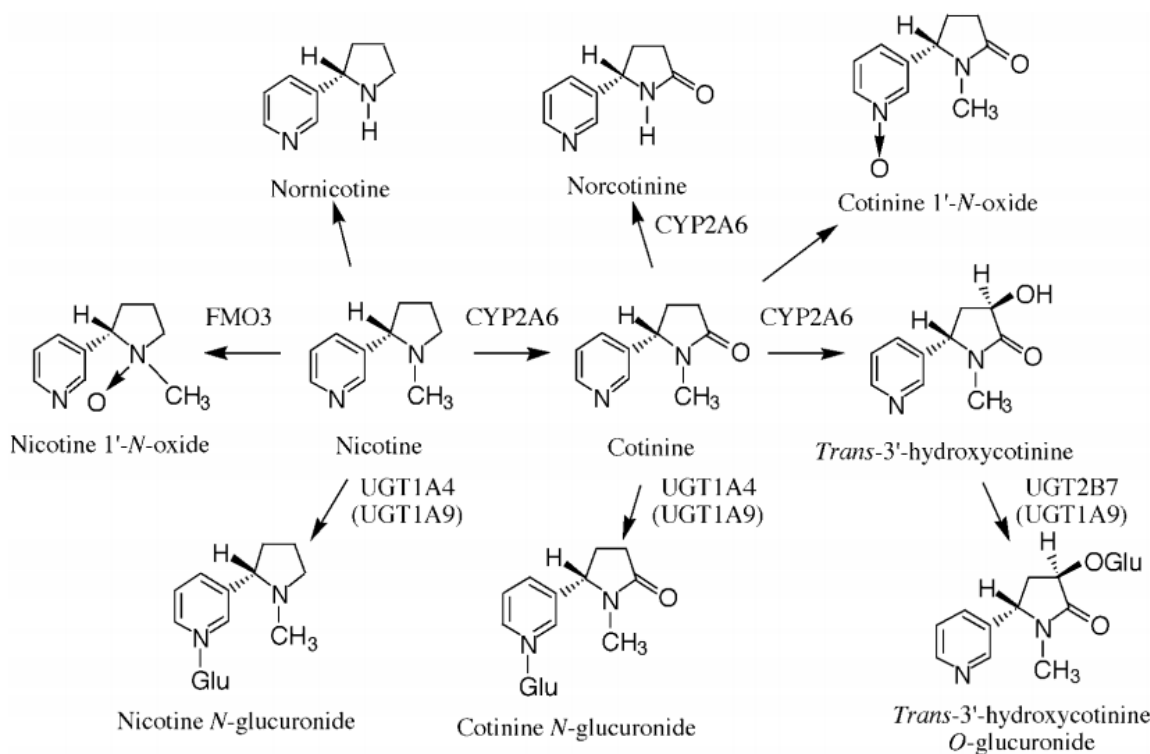
Cigaretový kouř obsahuje mnoho chemických sloučenin, které se váží na částice aerosolu, pokud nejsou samy v plynné fázi (sloučeniny obsahují hlavně dusík, kyslík, oxid uhelnatý, oxid uhličitý). Odhadovaný počet chemických sloučenin je 7 300 a velká část z nich představuje potenciální toxické látky. Například 1,3-butadien představuje nejvýznamější strukturu z hlediska možného rozvoje rakoviny, akrolein a acetaldehyd jsou dráždivé pro dýchací cesty, arsen a krezoly jsou primární zdroj pro rozvoj kardiovaskulárních onemocnění. Cytotoxické látky, jsou HCN a akrolein vyvolávají zánět, buněčnou proliferaci či sníženou funkci orgánů. Další látky, které lze nalézt v cigaretovém kouři jsou například kovy, N-nitrosaminy, polycyklické aromatické uhlovodíky, nikotin, amoniak, pyridin, isopren, benzen, toluen. Dle různorodosti cigaret se samozřejmě mění i složky samotného kouře. Po rozptýlení cigaretového kouře, chemikálie mohou procházet mezi fázemi (částice, plyn). Plynná fáze obsahuje dostatečně těkavé látky – N<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, CO, acetaldehyd, methan, kyanovodík, kyselina dusičná, aceton, akrolein, nitrosaminy, karbonylové sloučeniny. Fáze, kde jsou látky ve formě částic obsahuje karboxylové kyseliny, fenoly, vodu, nikotin, terpenoidy, parafinové vosky, nitrosaminy, katecholy [74].

Bylo prokázáno, že cigaretový kouř je schopen přerušit DNA, také dokáže štěpit chromozomy (klastogenicita), a to právě díky reaktivním druhům kyslíku či dusíku. Kouření také zvyšuje frekvenci mutací HPRT v lymfocytech periferní krve cca o 50 %. Nádorové onemocnění plic může být způsobeno mutací genu TP53, kdy právě tato mutace byla vyšší o 30 % u kuřáků [74].

### 6.1.3 Metabolismus nikotinu

Často je tabák pufován alkalickým pH, aby se usnadnila absorpce skrz bukalní sliznici. Látky rychle vstupují do oběhu skrz plíce a během pár sekund se dostávají do mozku. Důležitou roli v metabolismu nikotinu hraje to, jaká je rychlost metabolismu a následně výsledná clearance nikotinu. Nikotin je primárně metabolizován jaterním enzymem CYP2A6 pomocí C-oxidace (v menší míře také CYP2B6, CYP2E1) na kotinin, který se metabolizuje na 3-hydroxykotinin, taktéž pomocí CYP2A6 (obr. 14). Poměr těchto dvou látek zprostředkovává stabilní měření pro jednotlivce v rychlosti metabolismu nikotinu (marker aktivity CYP2A6). Poločas rozpadu u nikotinu je zhruba 2 hodiny, zatímco u kotininu je to až 16 hodin. Tento poměr je možno měřit z krve, ze slin či z moči. Ovšem také dochází v menší míře ke glukuronidaci pomocí UGT 1A4, 1A9, 2B10, je to využito například u lidí, kteří mají sníženou aktivitu CYP2A6. Zajímavá věc je, že ženy metabolizují nikotin rychleji než muži [76,77].

Následně je nikotin, kotinin a 30-hydroxykotinin glukuronidován na nikotin-N-glukuronid a N-glukuronid kotininu. Absorbovaný nikotin je po metabolizaci eliminován močí ve formě kotininu, 3-hydroxykotininu a jejich glukuronidů. Mohou být také další vedlejší cesty metabolismu nikotinu za katalýzy FMO. Samotný metabolismus nikotinu je důležitým faktorem pro clearanci [78].



Obr. 14: Metabolismus nikotinu [78]

## 6.2 Alkohol

Alkoholová intoxikace je stav, který nastává po nedávném požití alkoholu (ethanol). Ten se hromadí v krevním oběhu i s jeho metabolity a játra jej nestíhají metabolizovat. Klinické projevy jsou například respirační deprese či koma. Samozřejmě si lidé mohou vytvořit závislost na alkoholu (chronická konzumace). Alkohol je absorbován hlavně v tenkém střevě a následně metabolizován v játech, pouze jen 10 % je absorbováno v břišní dutině. Začátek absorpce je ve sliznici cca 10 min po požití, po 30 až 90 minutách je dozašena maximální koncentrace v krvi. Standardně v alkoholické nápoji lze nalézt cca 10-12 mg ethanolu. Játra zvládnou metabolizovat 15 mg/dl za hodinu. Jakmile je tato hodnota překročena, nastává akumulace v těle a je vyvolána intoxikace. Potenciál alkoholu je veliký a může ovlivnit téměř každý orgán, ale hlavní působení je neurologické, gastrointestinální, kardiovaskulární a respirační [79].

Po požití většího množství alkoholu může nastat dočasná anterográdní amnézie (krátkodobá paměť), což plyne z rychle zvýšené koncentrace alkoholu v krvi. Jedná se o dočasné výpadky paměti, pokud ovšem je to chronický přetrvávající stav, může to být spojeno s Korsakovovým syndromem. Alkohol také zkracuje čas hlubokého spánku, mohou se projevit periferní neuropatie, pocity necitlivosti, brnění či pálení, zvyšuje krevní tlak a riziko kardiomyopatie. Samozřejmě také působí na gastrointestinální trakt – dráždění jícnu či křeče žaludku, žaludeční vředy, zánět pankreatu (akutní pankreatitida doprovázená bolestí břicha se zvracením). Neopomenutelné je také působení na glukoneogenezi a oxidaci mastných kyselin, což se odehrává v játrech. Vede to k akumulaci tuku v hepatocytech, následně dojde ke zvětšení jater a posléze k hepatitidě či jaterní cirhóze [79].

### **6.2.1 Ethanol**

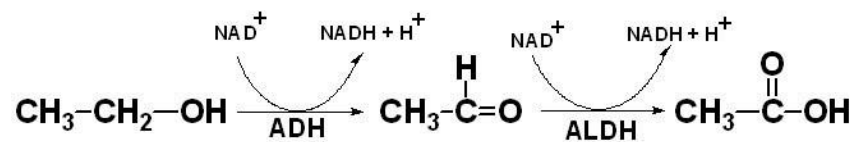
Ethanol je čirá tekutina, která se rychle vstřebává v gastrointestinálním traktu a následně se rozptýlí do celého organismu. Jeho časté použití je v desinfekcích, jelikož má baktericidní aktivitu, také se používá jako rozpouštědlo (vůně, barviva či léky). Jelikož má psychoaktivní účinky a působí na CNS, je považován za drogu. Přímo v mozku působí na mnoho systémů, působí jako agonista pro receptory GABA. Smrt po požití alkoholu může nastat, když v krvi bude koncentrace nad 0,5 % [80].

Acetaldehyd je toxická, mutagení a karcinogenní látka. Umí se navázat na DNA a zároveň vytvořit karcinogenní adukty, inhibuje opravné procesy DNA, poškozují antioxidantní obranný systém. Čím je v organismu vyšší koncentrace acetaldehydu, tím je vyšší riziko vzniku rakoviny, a to konkrétně dýchacích cest, jater, kolorekta a prsu (tj. 3,6 % ze všech případů rakoviny). Ke karcinogenezi přispívají také ROS, narušení přenosu methylových skupin, abnormální metabolismus vitamínu A a jeho deriváty. Samotná koncentrace acetaldehydu samozřejmě závisí na aktivitě ADH a ALDH, a také na míře detoxikace [81].

### **6.2.4 Metabolismus**

Játra jsou opět primární místo pro metabolismus ethanolu, tudíž mohou nastat komplikace po časté konzumaci v podobě hepatotoxicity. Jsou důkazy o tom, že metabolismus ethanolu zpomaluje či poškozují replikaci hepatocytů, tím pádem je snížena regenerační schopnost jater. Játra alkoholiků prokazují zvýšenou expresi duktálního epitelu, což může být předstupen fibrotické tkáně, také koreluje s portálním zánětem či cirhózou [82].

První reakce metabolismu ethanolu je oxidace pomocí ADH na acetaldehyd (obr. 15). Je to biologicky aktivní látka, která má značnou hepatotoxicitu a také indikuje řadu behaviorálních účinků. Někteří vědci naznačují, že závislost na alkoholu je ve skutečnosti „syndrom acetaldehydu“. Na metabolismu se také podílí CYP2E1, především při vysokém obsahu ethanolu či dlouhodobém příjmu (chronickém alkoholismu), což má za následek větší množství acetaldehydu a také vznikají ROS. Následně může docházet ke snížení aktivity ADH. Také kataláza oxiduje ethanol v peroxizomech, což je ovšem velmi malá část celkového metabolismu. Vedle oxidační cesty metabolismu je také i neoxidační cesta metabolismu, ač v menším rozsahu, kdy vznikají ethylestery mastných kyselin. Druhý krok je zprostředkován ALDH, která katabolizuje přeměnu acetaldehydu na netoxický acetát. Až 90 % konzumovaného alkoholu je eliminováno metabolickou degradací především v játrech [83].

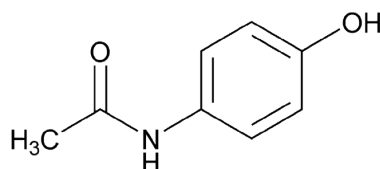


**Obr. 15: Metabolismus ethanolu na acetaldehyd [84]**

ADH a ALDH redukují  $\text{NAD}^+$  na  $\text{NADH}$ , poměr mezi těmito látkami se důsledkem metabolismu ethanolu snižuje. To má dopad na jiné metabolické cesty v játrech, které naopak vyžadují pro svůj průběh  $\text{NAD}^+$  nebo jsou inhibovány  $\text{NADH}$ . Pokud tedy dojde ke snížení poměru  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$ , odrazí se to také na poměru pyruvát/laktát [85].

### 6.3 Paracetamol

Paracetamol neboli acetaminofen (obr. 16) je běžně dostupná a hojně využívaná látka, která působí analgeticky a antipyreticky, také působí protizánětlivě. Patří mezi deriváty acetanilidu (acetyl-*p*-aminofenol). Analgetické vlastnosti vyplývají z inhibice prostaglandinů v centrálním nervovém systému i v periferních tkáních pomocí inhibice cyklooxygenázy (COX), kdy může nastat stav uklidnění. Nažádoucí účinky paracetamolu jsou například zvýšení krevního tlaku, větší riziko vředů či infarktu myokardu. Je důležité zmínit, že nadměrné požívání alkoholu vede ke zvýšené toxicitě právě paracetamolu, jelikož CYP2E1 převádí paracetamol do reaktivních toxických metabolitů, také může zvýšit hladinu alkoholu v krvi. Paracetamol inhibuje aktivitu žaludeční ADH [86,87].



**Obr. 16: Strukturální vzorec paracetamolu [88]**

Dlouhá léta byl acetaminofen považován za bezpečnou látku, ovšem poslední výzkumy dokazují opak. Rozšiřují se obavy z účinků na endokrinní a reprodukční struktury či narušení homeostázy. Dokáže prostoupit hematoencefalickou bariérou a následně cirkuluje centrální nervovou soustavou (lze ho nalézt i v mozkomíšním moku). V mozku bylo prokázáno, že inhibuje COX dráhy, zatímco v periferních tkáních (žaludek) k inhibici nedochází. Acetaminofen se pravděpodobně neváže do aktivního místa, ale snižuje aktivní formu COX, což může vysvětlit, proč není aktivní v periferních místech zánětu, kde je peroxid ve vyšších koncentracích než v mozku. Za posledních 10 let významně vzrostla jaterní toxicita (akutní selhání jater) související s paracetamolem. Maximální dávka jsou 3 g na den, tedy jedna tableta každé 4 až 6 hodin. Nicméně hepatotoxicita může nastat i při dodržení tohoto dávkování, a to se současným podáním rizikových faktorů – alkohol, jiná farmaka vyvolávající aktivitu CYP450 či podvýživa (snížené zásoby ochranných thiolů v játrech) [89].

V USA je hospitalizováno ročně 56 000 lidí z důvodu předávkování paracetamolem, z toho 450 lidí ročně zemře na následky předávkování. Také bylo zjištěno, že toto léčivo je zodpovědné za poranění jater až z 80 % případů ze všech různých farmak [90].



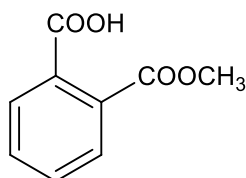
### 6.3.1 Metabolismus

Acetaminofen se nejčastěji užívá perorálně a následně se vstřebává do krevního oběhu. Poté putuje přes portální žílu do jater, kde nastává absorpce do hepatocytů a tam probíhá samotný metabolismus. Primárně je acetaminoen podroben sulfataci (20 – 46 %) a glukuronidaci (40 - 67 %), kdy dochází ke konjugaci s PAPS. Téměř 5 % je metabolizováno oxidací pomocí cytochromu P450 (CYP2E1, CYP3A4, CYP1A2), kdy dochází ke vzniku toxického a chemicky reaktivního metabolitu *N*-acetyl-*p*-benzochinoniminu (NAPQI). Detoxikace NAPQI je zajištěna pomocí konjugace GSH, který jej převede na konjugáty cysteinu, a tím se omezí poškození jater a následná eliminace je snadnější (moč, žluč). Oxidační procesy mají za následek vyčerpání GSH (cytosolové i mitochondriální) v souvislosti s konjugáčními procesy s NAPQI, čímž dojde i ke zvýšení proteinových aduktů. Ovšem GSH může být vyčerpán také v důsledku alkoholismu či anorexie [90].

Pokud dojde ke zvýšenému dávkování acetaminofenu, je konjugáční fáze nasycená a tedy metabolismus se přesouvá na CYP450, a samozřejmě se tím zvyšuje koncentrace NAPQI. Poškození hepatocytů nastává v momentě, kdy se hladina GSH dostává pod 30 % fyziologické hodnoty. Jestliže dojde k vyčerpání GSH, NAPQI není neutralizován a volně reaguje s makromolekulami, proteiny, DNA či nenasycenými mastnými kyselinami, což může vyvolat hepatocelulární smrt. Předávkování může vyvolat mitochondriální dysfunkce v důsledku vazby NAPQI na mitochondriální proteiny, a to je spojeno s generací a inhibicí ROS mitochondriálního dýchání. Samotná produkce ROS byla považována za jednu z nejvýznamnějších příčin intoxikace, ale výzkumy ukazují, že stejně významnou či významnější roli hrají reaktivní druhy oxidu dusnatého NO. Data z experimentů ukazují, že superoxidový anion reaguje s NO, a dává vzniknout peroxyinitritu (generován v mitochondriích). Peroxyinitrity byly prokázány v nekrotizujících buňkách po zvýšené expozici acetaminofenu. Zvýšená expozice acetaminofenu vede k tomu, že se v buňkách sníží koncentrace ATP, což může vést k inhibici apoptosomů (proteinová struktura, která se vytvoří při apoptóze, řízena cytochromem) a k nekróze, způsobuje intracelulární akumulaci vápenatých iontů. Zvýšená koncentrace  $\text{Ca}^{2+}$  aktivuje kalpainy (vápníkem aktivované proteázy), které katalyzují degradaci proteinů, to může přispět k nekróze hepatocytů [89,91].

## 6.4 Kyselina acetylsalicylová

Aspirin (obr. 17) neboli kyselina acetylsalicylová (ASA) je látka hojně používaná jako lék proti horečce a bolesti. Také se používá pro protizánětlivé vlastnosti a působí jako inhibitor COX, a to vede k inhibici biosyntézy prostaglandinů. Aspirin má také vliv na trombocyty, jelikož inhibuje agregaci a používá se jako prevence arteriální a žilní trombózy. Účinky jsou zprostředkovány pomocí metabolitu salicylové kyseliny [92].



**Obr. 17: Strukturální vzorec kyselina acetylsalicylové [93]**

Mechanismus účinku aspirinu je tedy inhibice aktivace i agregace trombocytů, což bylo poprvé popsáno v roce 1971 britským farmakologem Johnem Vanem. COX je enzym produkující tromboxan A<sub>2</sub> (důležitý pro zvýšení agregace) a prostacyklin (inhibitor agregace). Hlavní mechanismus účinku je ireverzibilní inhibice enzymu COX, který se nachází v trombocytech (antitrombotický účinek). Dojde k uvolnění labilní acetátové skupiny a ta se kovalentně naváže na molekulu COX. Následně dochází k zabránění syntézy tromboxanu A<sub>2</sub> a prostaglandinů. Aspirin se také podílí na blokaci vazokonstrikčních látek, které jsou závislé na COX, což přispívá k endotelové dysfunkci při ateroskleróze, a tím snižuje progresi aterosklerózy. Také se používá jako léčivo působící vasodilataci, snižující trombózu a zánětlivou odpověď u pacientů trpících ischemickou chorobou srdeční. Aspirin se testuje na použití při kardiovaskulárních onemocněních. Pacienti s predispozicemi ke kardiovaskulárním chorobám a cerebrovaskulárním příhodám požívají nízké dávky aspirinu (75-150 mg denně). Vyšší dávky okolo 1500 mg na den už mohou způsobit gastrotoxicky. Studie ukazují, že při požívání preventivní dávky aspirinu závažná cévní onemocnění klesla o 25 % a snížila se také vaskulární úmrtnost o 17 %. Vhodné dávkování je důležité pro požadovaný efekt, tedy pro převažující inhibici tromboxanu (inhibice agregace trombocytů) oproti snížení syntézy prostacyklinu [94,95].

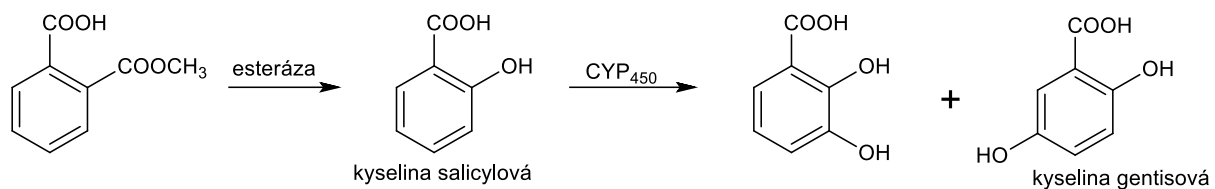
V posledních letech se také zkoumá antitumorový účinek aspirinu. Z výzkumu bylo zjištěno, že působí jako prevence různých nádorů jako jsou nádory tlustého střeva, prsu či prostaty. Základ účinku proti nádorům je opět v inhibici COX, která se vyskytuje ve dvou izoformách: COX-1 a COX-2. Konkrétně forma COX-2 je klíčová pro proliferaci buněk, tudíž je nutno ji inhibovat, ovšem další studie hovoří o jiných protinádorových faktorech aspirinu dle konkrétního poškození [96].

Aspirin, jako všechna farmaka, má taktéž nežádoucí účinky. Může vyvolat kopřivku, ale také závažnější účinky, například to, že způsobuje příznaky podobající se astmatu (aspirinem indukované astma). Ženy aspirinem indukovanému astmatu podléhají dvakrát častěji než muži. Samotný mechanismus intolerance zatím není přesně známý, ale předpokládá se, že díky inhibici COX vede ke zvýšení koncentrace volné kyseliny arachidonové, která následně metabolizuje a vyvolá konstriktu hladkého svalstva dýchacích cest. Taktéž může dojít k poškození žaludeční sliznice a zhoršení renálních funkcí, jelikož je inhibována syntéza prostaglandinů a to může zhoršit prokrvení ledvin a následně vyvolat selhání. Gravidní ženy by neměly požívat vůbec ASA, jelikož může dojít k inhibici porodních kontrakcí, zároveň u plodu může dojít k intrakraniálnímu krvácení. Intoxikace nastává, je-li dávka vyšší než 10 g. To může způsobit změnu v acidobazické rovnováze krve (respirační alkalóza), moč zalkalizuje, zvýší se aktivita aminotransferáz (poškození jater). Následně pacient upadne do bezvědomí a dochází ke zhoršení dýchacího systému, což může způsobit smrt [93,95].

#### **6.4.1 Metabolismus kyseliny acetylsalicylové**

Fosfolipáza A2 uvolňuje mastné kyseliny z fosfolipidové membrány. Mezi nimi je i kyselina arachidonová, která přechází do různých struktur včetně prostaglandinů, leukotrienů či tromboxanů. Právě prostaglandiny D2 a E2 jsou produkovány díky COX. Samotné metabolity COX přispívají k zánětu [93].

Po perorální dávce je 80 – 100 % ASA okamžitě vstřebáno v žaludku a ve střevě. Maximální sérová koncentrace je dosažena za 35 min. Po takové dávce je koncentrace nezměněné ASA ve *vena porte* vyšší než v oběhu, jelikož k deacetylaci dochází právě v játrech. ASA je poté deacetylována na kyselinu salicylovou, kdy následně dochází ke konjugaci s kyselinou glukuronovou nebo sulfátem (obr. 18). Může ale také dojít k hydroxylaci kyseliny salicylové za pomoci CYP450 a vzniká kyselina gentisová. Naproti tomu UGT metabolizují kyselinu salicylovou na glukuronidy (fenolový glukuronid kyseliny salicylové, acylglukuronid kyseliny salicylové). Glukuronidy jsou velice důležitým metabolitem ASA [93,97].



**Obr. 18: Metabolismus kyseliny acetylsalicylové [93]**

Čím nižší je v moči koncentrace vodíkových iontů, tím je nižší zpětná resorpce, což má za následek rychlejší renální eliminaci. Eliminace probíhá zhruba po třech hodinách od podání běžné dávky. Při požití vyšší dávky může nastat intoxikace, kdy eliminace může trvat až 30 h, jelikož dochází k přetížení jater díky konjugačním procesům a volná kyselina salicylová je zpětně resorbována v tubulech [95].

## ZÁVĚR

Tato bakalářská práce se zabývá metabolismem xenobiotik. Xenobiotika jsou látky, které jsou pro lidské tělo cizí a bez kterých se lidský organismus obejde, ač nám mohou přinášet jistou pomoc od bolesti či nějaké uspokojení. Xenobiotika nejdříve vstupují do krve, následně jsou transportována k cílovým buňkám, kde mohou vyvolat specifickou reakci či se uloží ve formě depotu, například do tukové tkáně. Cizorodé látky jsou zpracovány biotransformačními mechanismy ve dvou fázích. Fáze I. zahrnuje oxidaci, redukci, hydrolýzu a hydrataci, což je důležité pro zvýšení hydrofility, tedy důležité pro zvýšení propustnosti některými kompartmenty organismu. Fáze II. (konjugační) zahrnuje glukuronidaci, sulfataci, konjugaci s glutathionem atd. Z této fáze xenobiotika odchází značně hydrofilnější (polárnější), a to pomáhá snadnějšímu vylučování. Biotransformace se neobejde bez enzymů, které katalyzují jednotlivé reakce. U fáze I. jsou nepostradatelné CYP450, FMO, ADH a u fáze II. jsou to převážně transferázy. Osud xenobiotik v organismu je ukončen eliminací, kdy dané metabolity mohou být z vyloučeny močí, stolicí, dechem.

Poslední kapitola je věnována tabáku, alkoholu, paracetamolu a kyselině acetylsalicylové, protože to jsou látky, se kterými se setkává každý dnes a denně, a proto je dobré vědět, jak přesně působí na náš organismus, a zda-li je vůbec potřebuje užívat.

## ZDROJE

- [1] SILBERNAGL, S. a DESPOPOULOS, A. *Atlas fyziologie člověka: překlad 8. německého vydání*. 4. Praha: Grada Publishing a.s., 2016. ISBN 978-80-247-4271-7.
- [2] GANONG, W. *Přehled lékařské fyziologie*. 20. Praha: Galén, 2005. ISBN 80-7262-311-7.
- [3] MAHADEVAN, V. Anatomy of the liver. *Surgery (Oxford)* [online]. 2014, , - [cit. 2017-11-29]. DOI: 10.1016/j.mpsur.2014.10.004. ISSN 02639319. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0263931914002191>
- [4] FONTANA, J., ŠAJDÍKOVÁ, M. a MAĎA, P. *Funkce buněk a lidského těla, Multimediální skripta: 4. Játra a biotransformace xenobiotik* [online]. [cit. 2017-11-21]. Dostupné z: <http://fbt.cz/skripta/ix-travici-soustava/5-jatra-a-biotransformace-xenobiotik/>
- [5] HUDÁK, R. a KACHLÍK, D. *Memorix anatomie*. Vyd. 2. Praha: Triton, 2013. ISBN 978-80-7387-712-5.
- [6] GISSEN, P. a ARIAS, I. Structural and functional hepatocyte polarity and liver disease. *Journal of Hepatology* [online]. 2015, **63**(4), 1023-1037 [cit. 2017-11-29]. DOI: 10.1016/j.jhep.2015.06.015. ISSN 01688278. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168827815004079>
- [7] DOOLEY, J., LOK, A. a BURROUGHS, A. *Sherlock's Diseases of the Liver and Biliary System*. 12th Edition. Wiley-Blackwell, 2011. ISBN 978-1-4051-3489-7.
- [8] SATO, K., HALL, Ch., GLASER, S., FRANCIS, H., MENG, F. a ALPINI, G.. Pathogenesis of Kupffer Cells in Cholestatic Liver Injury. *The American Journal of Pathology* [online]. 2016, **186**(9), 2238-2247 [cit. 2017-12-12]. DOI: 10.1016/j.ajpath.2016.06.003. ISSN 00029440. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002944016302140>

- [9] POISSON, J., LEMOINNE, S., BOULANGER, Ch., DURAND, F., MOREAU, R., VALLA, D. a RAUTOU, P. E. Liver sinusoidal endothelial cells: Physiology and role in liver diseases. *Journal of Hepatology* [online]. 2017, **66**(1), 212-227 [cit. 2017-12-12]. DOI: 10.1016/j.jhep.2016.07.009. ISSN 01688278. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168827816303336>
- [10] ZAPOTOCZNY, B., SZAFRANSKA, K., KUS, E., CHLOPICKI, S., a SZYMONSKI, M. Quantification of fenestrations in liver sinusoidal endothelial cells by atomic force microscopy. *Micron* [online]. 2017, **101**, 48-53 [cit. 2017-12-12]. DOI: 10.1016/j.micron.2017.06.005. ISSN 09684328. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S096843281730104X>
- [11] WINAU, F., HEGASY, G., WEISKIRCHEN, R., et al. Ito Cells Are Liver-Resident Antigen-Presenting Cells for Activating T Cell Responses. *Immunity* [online]. 2007, **26**(1), 117-129 [cit. 2017-12-12]. DOI: 10.1016/j.immuni.2006.11.011. ISSN 10747613. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S107476130600567X>
- [12] WISSE, E., LUO, D. VERMIJLEN, D., KANELLOPOULOU, Ch., DE ZANGER, R. a BRAET, F.. On the Function of Pit Cells, the Liver-Specific Natural Killer Cells. *Seminars in Liver Disease* [online]. 1997, **17**(04), 265-286 [cit. 2017-12-12]. DOI: 10.1055/s-2007-1007204. ISSN 0272-8087. Dostupné z: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-2007-1007204>
- [13] MURRAY, R., BENDER, D., BOTHAM, K., KENNELLY, P., RODWELL, V. a WEIL, A. *Harper's Illustrated Biochemistry: Twenty-Eight Edition*. 1. New York: The McGraw-Hill Companies, 2009. ISBN 978-0-07-170197-6.
- [14] GULLIVER, L. Xenobiotics and the Glucocorticoid Receptor. *Toxicology and Applied Pharmacology* [online]. 2017, **319**, 69-79 [cit. 2017-12-12]. DOI: 10.1016/j.taap.2017.02.003. ISSN 0041008x. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0041008X17300601>
- [15] POLLARD, K., CHRISTY, J., CAUVI, D, a KONO, D. Environmental xenobiotic exposure and autoimmunity. *Current Opinion in Toxicology* [online]. 2018, **10**, 15-22 [cit. 2017-12-12]. DOI: 10.1016/j.cotox.2017.11.009. ISSN 24682020. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2468202017301213>

- [16] SKÁLOVÁ, L. a BOUŠOVÁ, I. *Metabolismus léčiv a jiných xenobiotik*. 1. Praha: Karolinum, 2011. ISBN 978-80-246-1917-0.
- [17] XENOBIOTIC ABSORPTION, DISTRIBUTION, METABOLISM, AND EXCRETION. *Basicmedical Key: Fastest Basicmedical Insight Engine* [online]. 2017 [cit. 2018-02-16]. Dostupné z: <https://basicmedicalkey.com/xenobiotic-absorption-distribution-metabolism-and-excretion/>
- [18] ZHOU, Z., WAN, L., YANG, Q., HAN, Y., LI, D., LU, J. a GUO, Ch. Nilotinib reverses ABCB1/P-glycoprotein-mediated multidrug resistance but increases cardiotoxicity of doxorubicin in a MDR xenograft model. *Toxicology Letters* [online]. 2016, **259**, 124-132 [cit. 2018-02-16]. DOI: 10.1016/j.toxlet.2016.07.710. ISSN 03784274. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378427416330867>
- [19] KNEJZLÍK, Z., KÁŠ, J. a RUML, T.. MECHANISMUS VSTUPU XENOBIOTIK DO ORGANISMU A JEJICH DETOXIKACE. *Chem. Listy*. 2000, (94), 913-918. ISSN 1213-7103.
- [20] LÜLLMANN, H., KLAUS, M. a LUTZ, H.. *Barevný atlas farmakologie: Překlad 4., anglického, zcela přepracovaného a rozšířeného vydání*. 4. Praha: Grada, 2012. ISBN 978-80-247-3908-3.
- [21] LINHART, I. *TOXIKOLOGIE: Interakce škodlivých látek s živými organismy, jejich mechanismy, projevy a důsledky*. 1. Praha: Nakladatelství VŠCHT, 2012. ISBN 978-80-7080-806-1.
- [22] TIFFANY-CASTIGLIONI, E. a QIAN, Y. Astroglia as Metal Depots: Molecular Mechanisms for Metal Accumulation, Storage and Release. *NeuroToxicology* [online]. 2001, **22**(5), 577-592 [cit. 2018-03-12]. DOI: 10.1016/S0161-813X(01)00050-X. ISSN 0161813X. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0161813X0100050X>
- [23] BIRNBAUM, L. The role of structure in the disposition of halogenated aromatic xenobiotics. *Environmental Health Perspectives*. 1985, **61**(1985), 11-20.



- [24] HE, D. X., LI, G. H., GU, X. T., et al. A new agent developed by biotransformation of polyphyllin VII inhibits chemoresistance in breast cancer. *Oncotarget* [online]. 2016, 7(22) [cit. 2018-03-11]. DOI: 10.18632/oncotarget.6674. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5077978/>
- [25] KLAASSEN, C., CASARETT, L. a DOULL, J. *Casarett and Doull's toxicology: The basic science of poisons*. 8th ed. New York: McGraw-Hill Education, 2013. ISBN 978-007-1769-235.
- [26] KLOTZ, L. O. a STEINBRENNER H. Cellular adaptation to xenobiotics: Interplay between xenosensors, reactive oxygen species and FOXO transcription factors. *Redox Biology* [online]. 2017, 13, 646-654 [cit. 2018-02-18]. DOI: 10.1016/j.redox.2017.07.015. ISSN 22132317. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213231717304421>
- [27] HOFFMANN, M., PREISSNER, S., NICKEL, J., DUNKEL, M., PREISSNER, R., a PREISSNER, S. The Transformer database: biotransformation of xenobiotics. *Nucleic Acids Research* [online]. 2013, 42(1), 1113-1117 [cit. 2018-02-18]. DOI: 10.1093/nar/gkt1246. ISSN 0305-1048. Dostupné z: <https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/gkt1246>
- [28] ZHANG, D., LUO, G., DING, X. a LU, Ch. Preclinical experimental models of drug metabolism and disposition in drug discovery and development. *Acta Pharmaceutica Sinica B* [online]. 2012, 2(6), 549-561 [cit. 2018-03-04]. DOI: 10.1016/j.apsb.2012.10.004. ISSN 22113835. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2211383512001438>
- [29] BÁRTÍKOVÁ, H., BOUŠOVÁ, I., JEDLIČKOVÁ, P., LNĚNIČKOVÁ, K., SKÁLOVÁ, L. a SZOTÁKOVÁ, B. Effect of Standardized Cranberry Extract on the Activity and Expression of Selected Biotransformation Enzymes in Rat Liver and Intestine. *Molecules* [online]. 2014, 19(12), 14948-14960 [cit. 2018-03-04]. DOI: 10.3390/molecules190914948. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1420-3049/19/9/14948>
- [30] WALKER, C. H., R. M. SIBLY, HOPKIN, S. P. a PEAKALL, D. B. *Principles of ecotoxicology*. 4th ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2012. ISBN 978-143-9862-667.

- [31] IONESCU, C. a CAIRA, M. *Drug metabolism: current concepts*. Dordrecht: Springer, 2005. ISBN 978-1-4020-4142-6.
- [32] TIMBRELL, J. A. a MARRS, T. C. Biotransformation of Xenobiotics. BALLANTYNE, Bryan, ed., Timothy C. MARRS, ed. a Tore SYVERSEN, ed. *General and Applied Toxicology* [online]. 1. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2009, s. 3-17 [cit. 2018-04-04]. DOI: 10.1002/9780470744307.gat004. ISBN 9780470723272. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/9780470744307.gat004>
- [33] HOYDAL, K., JENSSEN, B., LETCHER, R., DAM, M., a ARUKWE, A. Hepatic phase I and II biotransformation responses and contaminant exposure in long-finned pilot whales from the Northeastern Atlantic. *Marine Environmental Research* [online]. 2018, **134**, 44-54 [cit. 2018-03-10]. DOI: 10.1016/j.marenvres.2017.12.010. ISSN 01411136. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014111361730315X>
- [34] DOSTÁLEK, M. *Farmakokinetika*. 1. vyd. Praha: Grada, 2006. ISBN 80-247-1464-7.
- [35] SEVIOR, D., PELKONEN, O. a AHOKAS, J. Hepatocytes: The powerhouse of biotransformation. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* [online]. 2012, **44**(2), 257-261 [cit. 2018-03-10]. DOI: 10.1016/j.biocel.2011.11.011. ISSN 13572725. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1357272511003098>
- [36] NAGAR, S. a BLANCHARD, R. L. Pharmacogenetics of Uridine Diphosphoglucuronosyltransferase (UGT) 1A Family Members and its Role in Patient Response to Irinotecan. *Drug Metabolism Reviews* [online]. 2008, **38**(3), 393-409 [cit. 2018-03-11]. DOI: 10.1080/03602530600739835. ISSN 0360-2532. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/03602530600739835>
- [37] ROWLAND, A., MINERS, J. O. a MACKENZIE, P. I. The UDP-glucuronosyltransferases: Their role in drug metabolism and detoxification. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* [online]. 2013, **45**(6), 1121-1132 [cit. 2018-03-12]. DOI: 10.1016/j.biocel.2013.02.019. ISSN 13572725. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1357272513000654>

- [38] BENEDETTI, M., WHOMSLEY, R. a CANNING, M. Drug metabolism in the paediatric population and in the elderly. *Drug Discovery Today* [online]. 2007, **12**(15-16), 599-610 [cit. 2018-03-10]. DOI: 10.1016/j.drudis.2007.06.011. ISSN 13596446. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1359644607002577>
- [39] XIE, F., DING, X. a ZHANG, Q. An update on the role of intestinal cytochrome P450 enzymes in drug disposition. *Acta Pharmaceutica Sinica B* [online]. 2016, **6**(5), 374-383 [cit. 2018-03-04]. DOI: 10.1016/j.apsb.2016.07.012. ISSN 22113835. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S221138351630154X>
- [40] HAN, A., ROBINSON, R. M., BADIEYAN, S., ELLERBROCK, J. a SOBRADO, P. Tryptophan-47 in the active site of Methylophaga sp. strain SK1 flavin-monooxygenase is important for hydride transfer. *Archives of Biochemistry and Biophysics* [online]. 2013, **532**(1), 46-53 [cit. 2018-03-13]. DOI: 10.1016/j.abb.2013.01.004. ISSN 00039861. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003986113000258>
- [41] HUIJBERS, M. E., MONTERSINO, S., WESTPHAL, A. H., TISCHLER, D. a VAN BERKEL, W. J. H. Flavin dependent monooxygenases. *Archives of Biochemistry and Biophysics* [online]. 2014, **544**, 2-17 [cit. 2018-03-13]. DOI: 10.1016/j.abb.2013.12.005. ISSN 00039861. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003986113003706>
- [42] WALZ, R. a VAHRENKAMP, H. Functional modeling of alcoholdehydrogenase with pyrazolylborate–zinc complexes. *Inorganica Chimica Acta* [online]. 2001, **314**(1-2), 58-62 [cit. 2018-03-28]. DOI: 10.1016/S0020-1693(00)00390-X. ISSN 00201693. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002016930000390X>
- [43] PAVSHINTSEV, V. V., MITKIN, N. A., FROLOVA, O. Y., KUSHNIR, E. A., AVERINA, O. A. a LOVAT, M. L. Individual roles of brain and serum alcohol dehydrogenase isoforms in regulation of alcohol consumption in SPF Wistar rats. *Physiology & Behavior* [online]. 2017, **179**, 458-466 [cit. 2018-03-13]. DOI: 10.1016/j.physbeh.2017.07.022. ISSN 00319384. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031938417302214>

- [44] PLAPP, B. V., LEIDAL, K. G., MURCH, B. P. a GREEN, D. W. Contribution of liver alcohol dehydrogenase to metabolism of alcohols in rats. *Chemico-Biological Interactions* [online]. 2015, **234**, 85-95 [cit. 2018-03-13]. DOI: 10.1016/j.cbi.2014.12.040. ISSN 00092797. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009279715000113>
- [45] EDMONDSON, D. E., BINDA, C., WANG, J., UPADHYAY, A. K. a MATTEVI, A. Molecular and Mechanistic Properties of the Membrane-Bound Mitochondrial Monoamine Oxidases. *Biochemistry* [online]. 2009, **48**(20), 4220-4230 [cit. 2018-03-13]. DOI: 10.1021/bi900413g. ISSN 0006-2960. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bi900413g>
- [46] OANCA, G., STARE, J., VIANELLO, R. a MAVRI, J. Multiscale simulation of monoamine oxidase catalyzed decomposition of phenylethylamine analogs. *European Journal of Pharmacology* [online]. 2017, **817**, 46-50 [cit. 2018-03-13]. DOI: 10.1016/j.ejphar.2017.05.061. ISSN 00142999. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014299917303928>
- [47] CAO, H., PAUFF, J. M. a HILLE, R. X-ray Crystal Structure of a Xanthine Oxidase Complex with the Flavonoid Inhibitor Quercetin. *Journal of Natural Products* [online]. 2014, **77**(7), 1693-1699 [cit. 2018-03-27]. DOI: 10.1021/np500320g. ISSN 0163-3864. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/np500320g>
- [48] SARAWEK, S., FEISTEL, B., PISCHEL, I. a BUTTERWECK, V. Flavonoids of *Cynara scolymus* Possess Potent Xanthinoxidase Inhibitory Activity in vitro but are Devoid of Hypouricemic Effects in Rats after Oral Application. *Planta Medica* [online]. 2008, **74**(3), 221-227 [cit. 2018-03-27]. DOI: 10.1055/s-2008-1034316. ISSN 0032-0943. Dostupné z: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-2008-1034316>
- [49] SHI, D., HUANG, W., LI, Ch., LIU, Y. a WANG, S. Design, synthesis and molecular modeling of aloe-emodin derivatives as potent xanthine oxidase inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry* [online]. 2014, **75**, 289-296 [cit. 2018-03-27]. DOI: 10.1016/j.ejmech.2014.01.058. ISSN 02235234. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0223523414001044>

- [50] PINARBASI, H., SILIG, J., PINARBASI, E. Microsomal epoxide hydrolase polymorphisms. *Molecular Medicine Reports* [online]. 2010, **3**(4), - [cit. 2018-03-27]. DOI: 10.3892/mmr\_00000324. ISSN 17912997. Dostupné z: <http://www.spandidos-publications.com/mmr/3/4/723>
- [51] LOPEZ-LOPEZ, O., CERDA, M. a SISO, M. New Extremophilic Lipases and Esterases from Metagenomics. *Current Protein & Peptide Science* [online]. 2014, **15**(5), 445-455 [cit. 2018-03-27]. DOI: 10.2174/1389203715666140228153801. ISSN 13892037. Dostupné z: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1389-2037&volume=15&issue=5&spage=445>
- [52] PANDA, T. a GOWRISHANKAR, B. S. Production and applications of esterases. *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. 2005, **67**(2), 160-169 [cit. 2018-03-27]. DOI: 10.1007/s00253-004-1840-y. ISSN 0175-7598. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00253-004-1840-y>
- [53] SYRÉN, P. O. The solution of nitrogen inversion in amidases. *FEBS Journal* [online]. 2013, **280**(13), 3069-3083 [cit. 2018-03-27]. DOI: 10.1111/febs.12241. ISSN 1742464X. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/febs.12241>
- [54] WU, Z., ZHENG, R. a ZHENG, Y. Identification and characterization of a novel amidase signature family amidase from *Parvibaculum lavamentivorans* ZJB14001. *Protein Expression and Purification* [online]. 2017, **129**, 60-68 [cit. 2018-03-28]. DOI: 10.1016/j.pep.2016.09.005. ISSN 10465928. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1046592816302315>
- [55] RUAN, L., ZHENG, R. a ZHENG, Y. Mining and characterization of two amidase signature family amidases from *Brevibacterium epidermidis* ZJB-07021 by an efficient genome mining approach. *Protein Expression and Purification* [online]. 2016, **126**, 16-25 [cit. 2018-03-27]. DOI: 10.1016/j.pep.2016.05.006. ISSN 10465928. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1046592816300845>

- [56] FUJIWARA, R., YODA, E. a TUKEY, R. H. Species differences in drug glucuronidation: Humanized UDP-glucuronosyltransferase 1 mice and their application for predicting drug glucuronidation and drug-induced toxicity in humans. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics* [online]. 2018, **33**(1), 9-16 [cit. 2018-03-12]. DOI: 10.1016/j.dmpk.2017.10.002. ISSN 13474367. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1347436717301374>
- [57] KIANG, T., ENSOM, M. a CHANG, T. UDP-glucuronosyltransferases and clinical drug-drug interactions. *Pharmacology & Therapeutics* [online]. 2005, **106**(1), 97-132 [cit. 2018-03-12]. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2004.10.013. ISSN 01637258. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0163725804002001>
- [58] CHBILI, Ch., HASSINE, A., FATHALLAH, N., NOUIRA, M., NAIJA, S., BEN AMMOU, S. a SAGUEM, S. Glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms and the risk of mild hepatotoxicity induced by carbamazepine in a tunisian population study. *BMC Neurology* [online]. 2018, **18**(1), - [cit. 2018-03-29]. DOI: 10.1186/s12883-018-1013-8. ISSN 1471-2377. Dostupné z: <https://bmcneurol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12883-018-1013-8>
- [59] AWASTHI, Y. C., SHARMA, R. a SINGHAL, S. S. Human glutathione S-transferases. *International Journal of Biochemistry* [online]. 1994, **26**(3), 295-308 [cit. 2018-03-29]. DOI: 10.1016/0020-711X(94)90050-7. ISSN 0020711X. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0020711X94900507>
- [60] LEDERER, B. a BÖGER, P. A Ligand Function of Glutathione S-Transferase. *Zeitschrift für Naturforschung C* [online]. 2005, **60**(3-4), - [cit. 2018-03-29]. DOI: 10.1515/znc-2005-3-403. ISSN 1865-7125. Dostupné z: <https://www.degruyter.com/view/j/znc.2005.60.issue-3-4/znc-2005-3-403/znc-2005-3-403.xml>
- [61] SINGH, S. K. a DIXIT, T. Pharmacogenomics in Anesthesia. *Handbook of Pharmacogenomics and Stratified Medicine* [online]. Elsevier, 2014, s. 815-833 [cit. 2018-04-06]. DOI: 10.1016/B978-0-12-386882-4.00035-9. ISBN 9780123868824. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123868824000359>

- [62] ZUSTERZEEL, P. L. M., TE MORSCHE, R. H. M., RAIJMAKERS, M. T. M., ROES, E. M., PETERS, W. H. M., STEEGERS-THEUNISSEN, R. P. M. a STEEGERS, E. A. P. N-acetyl-transferase phenotype and risk for preeclampsia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* [online]. 2005, **193**(3), 797-802 [cit. 2018-04-09]. DOI: 10.1016/j.ajog.2005.01.012. ISSN 00029378. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000293780500075X>
- [63] GENUIS, S. J. Elimination of persistent toxicants from the human body. *Human & Experimental Toxicology* [online]. 2010, **30**(1), 3-18 [cit. 2018-05-10]. DOI: 10.1177/09603271110368417. ISSN 0960-3271. Dostupné z: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/09603271110368417>
- [64] BRIZ, O., CASSIO, D., BLAZQUEZ, A. G., GROSSE, B., SERRANO, M. A. a MARIN, J. J. G. Characterization of WIF-B9/R cells as an in vitro model with hepatocyte-like polarity and enhanced expression of canalicular ABC transporters involved in phase III of hepatic detoxification. *Toxicology* [online]. 2007, **232**(1-2), 24-36 [cit. 2018-04-09]. DOI: 10.1016/j.tox.2006.12.022. ISSN 0300483X. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0300483X06007517>
- [65] JIGOREL, E. Differential Regulation of Sinusoidal and Canalicular Hepatic Drug Transporter Expression by Xenobiotics Activating Drug-Sensing Receptors in Primary Human Hepatocytes. *Drug Metabolism and Disposition* [online]. 2006, **34**(10), 1756-1763 [cit. 2018-04-10]. DOI: 10.1124/dmd.106.010033. ISSN 0090-9556. Dostupné z: <http://dmd.aspetjournals.org/cgi/doi/10.1124/dmd.106.010033>
- [66] GEORGE, B., YOU, D., JOY, M. S. a ALEKSUNES, L. M. Xenobiotic transporters and kidney injury. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. 2017, **116**, 73-91 [cit. 2018-04-10]. DOI: 10.1016/j.addr.2017.01.005. ISSN 0169409X. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169409X17300224>
- [67] WILLIAMS, P. L., JAMES, R. C. a ROBERTS, S. M. *Principles of toxicology: environmental and industrial applications*. Third edition. Hoboken, New Jersey: Wiley, 2015. ISBN 978-0470907917.

- [68] TAFT, D. R. Drug Excretion. *Pharmacology* [online]. Elsevier, 2009, s. 175-199 [cit. 2018-05-24]. DOI: 10.1016/B978-0-12-369521-5.00009-9. ISBN 9780123695215. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123695215000099>
- [69] HUANG, B., SVENSSON, P., ÄRNLÖV, J., SUNDSTRÖM, J., LIND, L. a INGELSSON, E. Effects of cigarette smoking on cardiovascular-related protein profiles in two community-based cohort studies. *Atherosclerosis* [online]. 2016, **254**, 52-58 [cit. 2018-04-11]. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.09.014. ISSN 00219150. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021915016313284>
- [70] YILDIZ, D. Nicotine, its metabolism and an overview of its biological effects. *Toxicol* [online]. 2004, **43**(6), 619-632 [cit. 2018-04-12]. DOI: 10.1016/j.toxicol.2004.01.017. ISSN 00410101. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0041010104000911>
- [71] SEET, R. C. S., LOKE, W. M., KHOO, Ch. M., CHEW, S. E., CHONG, W. L., QUEK, A. M. L., LIM, E. C. H. a HALLIWELL, B. Acute effects of cigarette smoking on insulin resistance and arterial stiffness in young adults. *Atherosclerosis* [online]. 2012, **224**(1), 195-200 [cit. 2018-04-11]. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2012.06.060. ISSN 00219150. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021915012004364>
- [72] MALCZEWSKA-JASKÓŁA, K., JASIEWICZ, B. a MRÓWCZYŃSKA, L. Nicotine alkaloids as antioxidant and potential protective agents against in vitro oxidative haemolysis. *Chemico-Biological Interactions* [online]. 2016, **243**, 62-71 [cit. 2018-04-12]. DOI: 10.1016/j.cbi.2015.11.030. ISSN 00092797. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009279715301320>
- [73] *National Center for Biotechnology Information: PubChem Compound Database, Nicotine* [online]. Bethesda, USA: National Center for Biotechnology Information, 2004 [cit. 2018-04-16]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/89594>
- [74] *How tobacco smoke causes disease: the biology and behavioral basis for smoking-attributable disease : a report of the Surgeon General*. 1. Washington, DC: For sale by the Supt. of Docs., U.S. G.P.O., 2010. ISBN 978-0-16-084078-4.



- [75] *National Center for Biotechnology Information: PubChem Compound Database, Nicotine* [online]. Bethesda, USA: National Center for Biotechnology Information, 2004 [cit. 2018-04-16]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/89594>
- [76] FALCONE, M., CAO, W., BERNARDO, L., TYNDALE, R. F., LOUGHEAD, J. a LERMAN, C. Brain Responses to Smoking Cues Differ Based on Nicotine Metabolism Rate. *Biological Psychiatry* [online]. 2016, **80**(3), 190-197 [cit. 2018-04-16]. DOI: 10.1016/j.biopsych.2015.11.015. ISSN 00063223. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006322315009920>
- [77] BENOWITZ, N. L. Pharmacology of Nicotine: Addiction, Smoking-Induced Disease, and Therapeutics. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* [online]. 2009, **49**(1), 57-71 [cit. 2018-04-17]. DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.48.113006.094742. ISSN 0362-1642. Dostupné z: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.pharmtox.48.113006.094742>
- [78] NAKAJIMA, M. a YOKOI, T. Interindividual Variability in Nicotine Metabolism: C-Oxidation and Glucuronidation. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics* [online]. 2005, **20**(4), 227-235 [cit. 2018-04-17]. DOI: 10.2133/dmpk.20.227. ISSN 13474367. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1347436715307564>
- [79] JUNG, Y. a NAMKOONG, K. Alcohol. *Alcohol and the Nervous System* [online]. 3. Seoul: Elsevier, 2014, s. 115-121 [cit. 2018-04-17]. Handbook of Clinical Neurology. DOI: 10.1016/B978-0-444-62619-6.00007-0. ISBN 9780444626196. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780444626196000070>
- [80] *National Center for Biotechnology Information: PubChem Compound Database, Ethanol* [online]. Bethesda, USA: National Center for Biotechnology Information, 2004 [cit. 2018-05-24]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/702>
- [81] SEITZ, H. K. a STICKEL, F. Acetaldehyde as an underestimated risk factor for cancer development: role of genetics in ethanol metabolism. *Genes & Nutrition* [online]. 2010, **5**(2), 121-128 [cit. 2018-04-17]. DOI: 10.1007/s12263-009-0154-1. ISSN 1555-8932. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s12263-009-0154-1>

- [82] CLEMENS, D. L., MAHAN SCHNEIDER, K. J. a NUSS, R. F. Ethanol metabolism activates cell cycle checkpoint kinase, Chk2. *Alcohol* [online]. 2011, **45**(8), 785-793 [cit. 2018-04-18]. DOI: 10.1016/j.alcohol.2011.07.005. ISSN 07418329. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0741832911004344>
- [83] QUERTEMONT, E. Genetic polymorphism in ethanol metabolism: acetaldehyde contribution to alcohol abuse and alcoholism. *Molecular Psychiatry* [online]. 2004, **9**(6), 570-581 [cit. 2018-04-17]. DOI: 10.1038/sj.mp.4001497. ISSN 1359-4184. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/4001497>
- [84] Alcohol Metabolism Pathways: ADH. In: *Biochemistry of Alcohol* [online]. 2013 [cit. 2018-04-28]. Dostupné z: <https://sites.google.com/site/alcoholmetabolismbiochem/what-is-alcohol>
- [85] CEDERBAUM, A. I. Alcohol Metabolism. *Clinics in Liver Disease* [online]. 2012, **16**(4), 667-685 [cit. 2018-04-17]. DOI: 10.1016/j.cld.2012.08.002. ISSN 10893261. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1089326112000852>
- [86] LEE, Y., LIAO, J., CHENG, Y., WU, T., LEE, S., LIU, J. a YIN, S. Inhibition of human alcohol and aldehyde dehydrogenases by acetaminophen: Assessment of the effects on first-pass metabolism of ethanol. *Alcohol* [online]. 2013, **47**(7), 559-565 [cit. 2018-04-18]. DOI: 10.1016/j.alcohol.2013.09.001. ISSN 07418329. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0741832913001183>
- [87] BRUNE, K., RENNER, B. a TIEGS, G. Acetaminophen/paracetamol: A history of errors, failures and false decisions. *European Journal of Pain* [online]. 2015, **19**(7), 953-965 [cit. 2018-04-18]. DOI: 10.1002/ejp.621. ISSN 10903801. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/ejp.621>
- [88] *Sigma-aldrich: Acetaminophen* [online]. b.r. [cit. 2018-05-24]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/a3035?lang=en&region=CZ>

- [89] GHANEM, C. I., PÉREZ, M. J., MANAUTOU, J. E. a MOTTINO, A. D. Acetaminophen from liver to brain: New insights into drug pharmacological action and toxicity. *Pharmacological Research* [online]. 2016, **109**, 119-131 [cit. 2018-04-27]. DOI: 10.1016/j.phrs.2016.02.020. ISSN 10436618. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1043661816000530>
- [90] REDDYHOFF, D., WARD, J., WILLIAMS, D., REGAN, S. a WEBB, S. Timescale analysis of a mathematical model of acetaminophen metabolism and toxicity. *Journal of Theoretical Biology* [online]. 2015, **386**, 132-146 [cit. 2018-04-19]. DOI: 10.1016/j.jtbi.2015.08.021. ISSN 00225193. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022519315004142>
- [91] HUGHES, M. J., HARRISON, E. M., JIN, Y., HOMER, N. a WIGMORE, S. J. Acetaminophen metabolism after liver resection: A prospective case-control study. *Digestive and Liver Disease* [online]. 2015, **47**(12), 1039-1046 [cit. 2018-04-19]. DOI: 10.1016/j.dld.2015.08.005. ISSN 15908658. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1590865815005691>
- [92] MARTINDALE., . *The extra pharmacopoeia*. 30th ed. London: Pharmaceutical Press, 1993. ISBN 08-536-9300-5.
- [93] YAMASHITA, M. Aspirin Intolerance: Experimental Models for Bed-to-Bench. *Current Drug Targets* [online]. 2016, **17**(16), 1963-1970 [cit. 2018-05-09]. DOI: 10.2174/1389450117666161005152327. ISSN 13894501. Dostupné z: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1389-4501&volume=17&issue=16&spage=1963>
- [94] DAI, Y. a GE, J.. Clinical Use of Aspirin in Treatment and Prevention of Cardiovascular Disease. *Thrombosis* [online]. 2012, **2012**, 1-7 [cit. 2018-05-09]. DOI: 10.1155/2012/245037. ISSN 2090-1488. Dostupné z: <https://www.hindawi.com/archive/2012/245037/>
- [95] LÜLLMANN, H., MOHR, K. a WEHLING, M. *Farmakologie a toxikologie*. Vyd. 2. české. Praha: Grada, 2004. ISBN 80-247-0836-1.

- [96] HUANG, Z., FANG, W., LIU, W., WANG, L., LIU, B., LIU, S. a LIU, S. Aspirin induces Beclin-1-dependent autophagy of human hepatocellular carcinoma cell. *European Journal of Pharmacology* [online]. 2018, **823**, 58-64 [cit. 2018-05-09]. DOI: 10.1016/j.ejphar.2018.01.031. ISSN 00142999. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014299918300487>
- [97] NAVARRO, S. L., SARACINO, M. R., MAKAR, K. W., et al. Determinants of Aspirin Metabolism in Healthy Men and Women: Effects of Dietary Inducers of UDP-Glucuronosyltransferases. *Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics* [online]. 2011, **4**(2), 110-118 [cit. 2018-05-09]. DOI: 10.1159/000327782. ISSN 1661-6758. Dostupné z: <https://www.karger.com/Article/FullText/327782>