

VÝZNAM CYTOCHROMŮ P450 PRO LIDSKÉ ZDRAVÍ

MARIE STIBOROVÁ^a, JIŘÍ HUDEČEK^a,
PETR HODEK^a a EVA FREI^b

^aKatedra biochemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Albertov 2030, 128 40 Praha 2, ^bInstitut für Molekulare Toxikologie, Deutsches Krebsforschungszentrum, Im Neuenheimer Feld 280, 69120 Heidelberg, Německo

Došlo dne 5.III. 1998

Klíčová slova: cytochrom P450, aktivace toxikantů, karcinogeneze

Obsah

1. Úvod
2. Cytochromy P450
3. Cytochromy důležité pro aktivaci reakce prototoxikantů a pro karcinogenitu
 - 3.1. Cytochromy P450 1A1 a P450 1A2
 - 3.2. Cytochromy P450 2A6, P450 2B6, P450 2C (2C8, 2C9, 2C19) a P450 2D6
 - 3.3. Cytochrom P450 2E1
 - 3.4. Cytochrom P450 3A4
 - 3.5. Cytochromy P450 11, P450 17, P450 19 a P450 21
4. Zásah cytochromů P450 do chemické karcinogeneze
5. Závěr

1. Úvod

Cytochromy P450 (EC 1.14.14.1., nověji také označované jen jako „proteiny P450“) patří mezi klíčové enzymy metabolismu cizorodých látek (xenobiotik). Enzymy této skupiny jsou v poslední době stále intenzivněji studovány. Sloučeniny, které jsou substráty takových enzymů, jsou v organismu biotransformovány za vzniku polárnějších produktů, které pak mohou být vyloučeny a nedochází tak k bioakumulaci příslušných xenobiotik. Vedle detoxikace těchto sloučenin může docházet i ke vzniku takových derivátů, které jsou biologicky aktivnější: některé z pozitivního hlediska (např. aktivní formy některých léčiv), jiné mohou být toxické, mutagenní či karcinogenní. Poznání metabolismu xenobiotik u člověka tedy také potenciálně umožňuje např. zvyšovat nebo modulovat účinek léčiv nebo naopak snižovat jejich vedlejší účinky, umožňuje ale i omezovat rizika vznikající při expozici lidské populace potenciálně toxickým a karcinogenním látkám. Jedny z nejdůležitějších enzymů metabolizujících xenobiotika jsou mikrosomální monoxygenasy (oxidasy) se smíšenou funkcí (MFO, z angl. „mixed function oxidases“), v nichž jako terminální oxidasa funguje právě hemový enzym cytochrom P450 (P450) (cit.^{1,2}). V menší míře se na této metabolické přeměně podílejí i samostatně působící hemové enzymy peroxidasy [nespeci-

fické i specifické – např. prostaglandin H synthasa (PHS), myeloperoxidasa]³⁻⁵ a mikrosomální monoxygenasa obsahující flavin (Zieglerův enzym)^{6,8}.

Cytochromy P450 jsou v organismu především zodpovědné za reakce I. fáze biotransformace chemických látek, vedoucí k jejich detoxikaci a po reakcích II. fáze biotransformace k jejich eliminaci z buněk a exkreci z organismu. Jsou to enzymy, které katalyzují oxidační, peroxidační a redukční reakce začleněné do metabolické transformace léčiv, environmentálních chemikálií (sloučenin dostávajících se do životního prostředí především lidskou činností), ale i látek přírodních či endogenních^{1,2,9-11}.

Značný počet studií, zabývajících se cytochromy P450 sleduje jejich účinnost v metabolismu léčiv. A to jak jejich podíl na tvorbě finálních metabolitů léčiv, které jsou snadno z lidského těla vylučovány, tak i na reakcích vedoucích ke zvýšení jejich farmakologické aktivity nebo vyvolávajících toxické efekty. Aktivita jednotlivých cytochromů P450 (tj. různých forem tohoto enzymu) může determinovat reakci pacienta na podané léčivo. V řadě případů je léčivo preferenčně metabolizováno na farmakologicky účinný produkt pouze některým z cytochromů P450. V případě deficiencie či naopak zvýšené koncentrace takového cytochromu P450 u různých pacientů je pak účinnost léčiva značně rozdílná. Znalost, které z lidských forem cytochromu P450 metabolizují jednotlivá léčiva, a informace o jejich výskytu u různých jedinců je tedy z klinického hlediska nepostradatelná. V současnosti je již známa celá řada neinvazivních testů ke stanovení hlavních forem P450 u člověka, které se používají při studiu metabolismu léčiv u dobrovolníků. Jedním z nich je použití specifických substrátů ve studiích *in vivo*⁹. Nejčastěji jsou v takových studiích používány kofein, kumarin, debrisochin, dextromethorfan, chlorzoxazon, nifedipin. Na základě metabolické aktivity zjištěné pro jednotlivé formy P450 jsou sledováni jedinci zařazení do dvou nebo tří kategorií pomalého, středního a rychlého metabolizátora². Není jistě utopií, že v budoucnosti bude před návrhem chemoterapie u každého pacienta proveden „screening“ jeho cytochromů P450, aby podaná léčiva byla účinná a měla přitom co nejmenší vedlejší účinky. Bude to nejen zájem pacientů a lékařů, ale i farmaceutických firem. Nejnovější poznatky shrnující aktivity cytochromů P450 z pohledu jejich účinnosti v metabolismu léčiv lze nalézt v přehledných článcích nedávno publikovaných (např.^{1,2,11}).

Proto se v předkládaném přehledu věnujeme především těm cytochromům P450, které mají největší význam pro metabolismus látek na toxické a karcinogenní produkty a jsou nebezpečné z hlediska možného potencování rozličných patologických stavů se zvláštním zřetelem na procesy chemické karcinogeneze.

2. Cytochromy P450

Z evolučního hlediska je cytochrom P450 považován za velmi starý hemoprotein, který se objevil mnohem dříve než např. hemoglobin^{12,13}. Je příkladem enzymu, který se vyvíjel

cestou divergentní evoluce. Z jediného genu cytochromu P450 archebakterií z doby více než před 1,5 miliardami let se do současnosti vyvinulo ohromné množství odlišných genů kodujících cytochromy prokaryontních i eukaryontních organismů. I přes značné rozdíly v substrátové specifitě a struktuře všechny obsahují konzervované sekvence oblastí v blízkosti vazného místa pro hem. Jen v lidském organismu bylo dosud identifikováno 43 forem cytochromu P450 (cit.¹²).

Předpokládá se, že prehistorické mikroorganismy využívaly cytochrom P450 k hydroxylaci organických látek, které po této aktivaci mohly být použity jako zdroj energie. I v současnosti existují mikroorganismy, jejichž cytochromy P450 mají právě tuto funkci. Cytochrom P450 101, označovaný také jako P450cam (z angl. „camphor“) zavedením hydroxylové skupiny do skeletu kafru vlastně zahajuje jeho metabolismus. Právě těmito schopnostmi cytochromů P450 se nechala inspirovat řada světových laboratoří a snaží se molekulárně biologickými technikami vytvořit vhodné kmeny mikroorganismů exprimující takové cytochromy P450, které by byly použitelné pro degradaci různých obtížně odstranitelných kontaminantů životního prostředí a odpadů produkovaných lidskou činností.

V procesu vzniku a vývoje mnohobuněčnosti začínají cytochromy P450 v organismech plnit i další funkce. Vedle již zmíněného metabolismu xenobiotik se tak uplatňují v biosyntéze např. barviv květů, mastných kyselin, kyseliny skořicové a dále pak fyziologicky významných sloučenin jako jsou např. steroidní hormony, vitaminy D, prostaglandiny. S tímto vývojem souvisel i vznik složitějšího systému cytochromu P450 s vývojově vyšším typem spolupracujícího enzymu, cytochrom P450 reduktasy, a vznik tzv. multiplicity cytochromů P450. Každý vyšší organismus je již vybaven více formami cytochromu P450, které mají i své specifické biosyntetické funkce. Ovšem i přes různorodost funkcí cytochromů P450 v naprosté většině případů platí, že jejich substráty jsou hydrofobní látky.

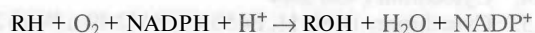
S vývojem živočišné říše je spojena i další, nově vzniklá role cytochromů P450, kterou je jejich současná funkce v procesu detoxikace cizorodých látek. Koexistence rostlin a živočichů vyvolala nutnost vzniku ochranných mechanismů, kterými rostliny bránily svou existenci před živočichy vyhledávajícími rostlinnou potravu. Na přítomnost látek ochraňujících rostliny, jimiž jsou různé fytotoxiny a fytoalexiny, živočichové odpovídali množstvím svých cytochromů P450 a jejich adaptací pro účely detoxikace a urychlení eliminace takových sloučenin. To bylo důvodem, proč je toto období (před 800 miliony let) charakteristické extrémním množstvím forem cytochromu P450 (cit.¹³). V této souvislosti je třeba zmínit, že dlouhodobě se vyvíjející vztah producent (rostlina) - konzument (živočich) v daném ekosystému umožňuje vyváženou koexistenci zástupců obou říší. Živočich (včetně člověka) však může být velmi negativně ovlivněn konzumací rostlinné potravy, na jejíž složení není adaptován, protože ochranný systém cytochromu P450 buď selže nebo dokonce způsobuje i potenciaci účinku rostlinných toxinů¹⁴⁻¹⁷. Navíc celá řada organických sloučenin rostlinného původu má schopnost indukovat cytochrom P450 (t.j. způsobit zvýšení biosyntézy jedné nebo více forem), a to jak ty formy, které se podílejí na biosyntetických reakcích, tak ty, které plní detoxikační úlohu^{18,19}. Obdobná situace nastala v ještě větším rozsahu, když člověk začal syntetizovat do té doby neexistující sloučeniny

a vnášet je do životního prostředí. Ať se jedná o chemikálie cílevědomě připravené (např. léčiva¹, agrochemikálie², barviva³) nebo vedlejší či odpadní produkty (např. zplodiny hoření obsahující benzo[a]pyren⁹, nitrosaminy^{20,21}, aromatické aminy^{9,22}), vždy existuje závažné riziko, že některá z těchto sloučenin může být systémem cytochromu P450 přeměněna na cytotoxické či mutagenní nebo karcinogenní deriváty poškozující nositele tohoto enzymu. Poněvadž již nelze zastavit produkci stávajících a vývoj stále nových cizorodých látek, je třeba soustředit se na výzkum enzymů interagujících s těmito sloučeninami s cílem předpovědět možné následky jejich produkce a použít pro lidskou populaci.

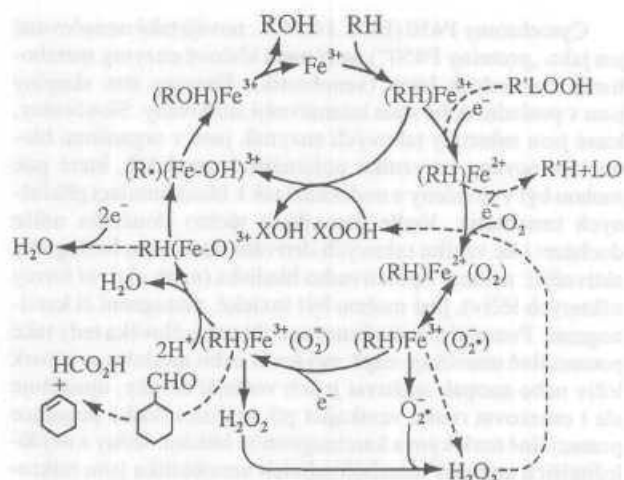
Cytochromy P450 se v lidském těle vyskytují především v játrech, nicméně významné jsou i jejich hladiny v plicích, ledvinách, tenkém střevě, kůži, mozku, nadledvinách. V buňkách jsou lokalizovány převážně v membránách hladkého endoplazmatického retikula, některé rovněž v membránách mitochondrií.

Cytochromy P450 jsou hemoproteiny, v nichž je porfyrinový skelet (protoporfyrin IX) částečně vázán hydrofobními silami a zároveň prostřednictvím thiolátové síry sulfhydrylové skupiny cysteinu přítomné v aktivním centru enzymu (pátý ligand železa protoporfyrinu IX). Toto uspořádání umožňuje vyjimečné chování těchto hemoproteinů a odlišuje je od hemoproteinů ostatních (odlišné spektrální a katalytické vlastnosti)²³⁻²⁵. Šestáým ligandem je atom kyslíku molekuly vody.

Cytochrom P450 spolupůsobí s dalším enzymem lokalizovaným v endoplazmatickém retikulu - NADPH:cytochrom P450 reduktasou –nebo dalšími enzymy mitochondrií. Většina reakcí, které lze sumárně vyjádřit jako:



začíná přenosem elektronů z NADPH buď na NADPH:P450 reduktasu v endoplazmatickém retikulu (kde je MFO systém lokalizován) nebo na ferredoxin reduktasu a nehemový Fe-S protein v mitochondriích, a poté na vlastní cytochromy P450.



Obr. 1. Reakční cyklus cytochromu P450 (upraveno podle cit.²⁶). RH - substrát, ROH - monooxygennační produkt, R'LOOH - lipidický hydroperoxid, R'H a LO - redukční produkty hydroperoxidu, XOOH - peroxy sloučenina (alternativní donor kyslíku), Fe - atom hemového železa enzymu

Redukovaný P450 pak aktivuje molekulu kyslíku, z níž jeden atom je inkorporován do molekuly substrátu a druhý tvoří molekulu vody. Vedle kyslíku může P450 pro oxidační reakce využívat peroxidy a peroxikyseliny. Ty se tak stávají donorem atomu kyslíku. Schéma reakčního cyklu P450 je uvedeno na obrázku 1.

Cytochromy P450 se vyskytují v různých formách (izoenzymech, izoformách), které jsou řazeny do genetických rodin a podrodin podle míry (stupně) homologie jejich primární struktury (pořadí aminokyselin) proteinových molekul. V současnosti bylo již popsáno na 500 izoenzymů P450, které náleží do 74 rodin, 14 z nich jsou rodiny savčích cytochromů P450. Těchto 14 rodin obsahuje 26 podrodin, z nich 20 bylo nalezeno v lidském genomu^{1,2,12,27-29}. Rodiny cytochromů P450 jsou označovány prvním číslem za zkratkou P450. Následuje velké písmeno označující podrodinu²⁸. Jednotlivé izoenzymy jsou pak označeny číslem za písmenem podrodiny. Např. izoenzym P450 1A2 je členem podrodiny A náležející do enzymové rodiny 1. Do stejné rodiny náleží cytochromy P450, u kterých byla nalezena více než 40 % homologie aminokyselinové sekvence jejich proteinů, do stejné podrodiny pak ty, které vykazují homologii více než 60 % (cit.¹). Pro zjednodušení Nebert a spolupracovníci navrhli nové systematické názvosloví genů a forem P450 (cit.²⁷), ve kterém se formy P450 označují zkratkou CYP (CYtochrome P450), za níž pak následují označení rodin a podrodin podle výše uvedených kritérií. Výsledné označení příslušného enzymu je pak např. pro P450 1A2 zkracováno na CYP1A2.

3. Cytochromy P450 důležité pro aktivační reakce protokarcinogénů

Na otázku, které z cytochromů P450 přítomných v lidských tkáních jsou pro zdravý stav a vývoj u člověka (a pro navození patologických stavů) nejdůležitější, není snadné nalézt odpověď. Důležitost (významnost) jednotlivých cytochromů P450 je třeba posuzovat z několika hledisek. Jedním z nejdůležitějších hledisek je podíl těchto enzymů na metabolismu cizorodých látek. Ty totiž mohou být, a ve většině případů také jsou, toxické. Z jaterních cytochromů P450 jsou v procesu metabolismu cizorodých látek nejvýznamnější izoenzymy P450 1A2, 2A6, 2D6, 2C (2C8, 2C9, 2C18 a 2C19), 2E1 a 3A4 (tab. I). Z cytochromů P450 přítomných ve vyšších koncentracích v jiných tkáních (ledviny, plíce, kůže, tkáň gastrointestinálního traktu a močových cest) (tab. II) jsou v přeměně cizorodých látek (včetně protokarcinogénů) efektivní cytochromy P450 1A1, 2B6, 2E1 a 3A4 (cit.^{2,31,35-38}).

Dalším z důležitých hledisek je množství těchto enzymů v lidských tkáních. Z pohledu celkového množství by nejvýznamnější úlohu měly hrát cytochromy P450 3A4 a izoenzymy podrodiny 2C, dále pak P450 1A2 a 2E1 (tab. I). Vzhledem k širší substrátové specifičtě metabolizují tyto izoenzymy P450 také látky endogenní, i když endogenní látky jsou v lidském organismu preferenčně metabolizovány genetickými rodinami (podrodinami) cytochromů P450 s vyhraněnější substrátovou specifičtí. Zde je nutně podotknout, že i metabolismus některých endogenních látek je pro patologické procesy (např. procesy kancerogeneze) velmi důležitý (viz dále). Cytochromy, které katalyzují reakce metabolismu tromboxanů, chole-

Tabulka I
Cytochromy P450 lidských jater metabolizující cizorodé látky

P450 ^a	Inducibilita	% z celkového P450
1A2	inducibilní i konstitutivní	13,0
1B1	inducibilní	1,0
2A6	inducibilní	4,0
2B6	konstitutivní i inducibilní	0,2
2C	konstitutivní	18,0
2D6	konstitutivní	2,5
2E1	konstitutivní i inducibilní	7,0
3A4	konstitutivní i inducibilní	28,0

^a Údaje převzaty z cit.^{28,30,34}

Tabulka II
Tkáňová distribuce extrahepatálních cytochromů P450 metabolizujících cizorodé látky u člověka

P450 ^a	Inducibilita	Tkáň
1A1	inducibilní	plíce, ledviny, gastrointestinální trakt (GIT), placenta, kůže, lymfocyty
1B1	inducibilní	ledviny, kůže, prostata, děloha, lidský plod, (prsní žlázy)
2A6	inducibilní	plíce
2B6	konstitutivní i inducibilní	GIT, plíce
2C	konstitutivní	hltn, GIT, plíce
2D6	konstitutivní	GIT
2E1	konstitutivní i inducibilní	plíce, placenta a další
3A (3A4,3A5)	konstitutivní i inducibilní	ledviny, děloha, plod, plíce, GIT, placenta

^a Údaje převzaty z cit.^{30,31,35-38}

Tabulka III
Faktory ovlivňující množství cytochromů P450 u člověka

P450 ^a	Faktor
1A1, 1A2, 2E1, 3A3, 3A4, 3A5	výživa
1A1, 1A2	kouření
2E1	alkohol
1A1, 1A2, 2A6, 2B6, 2C, 2D6, 3A3,4,5	léčiva
1A1, 1A2, 2A6, 1B, 2E1, 3A3,4,5	vnější prostředí (polutanty)
1A1, 1A2, 2A6, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1	genetický polymorfismus

^a Údaje převzaty z cit.^{30,45,46,48}

Tabulka IV

Variabilita obsahu cytochromů P450 u člověka a jejich indukto-ry

P450 ^a	Rozsah variability obsahu P450	Induktor
1A1	100 krát	tetrachlorodibenzo- <i>p</i> -dioxin (TCDD)
1A2	40 krát	TCDD, kouření, jídlo připravené na dřevěném uhlí (konstitutivní enzym)
2A6	30-100 krát	barbituráty, dexamethason
2B6	50 krát	barbituráty, ethanol
2C	25-100 krát	barbituráty, ethanol
2D6	více než 100 krát	barbituráty, ethanol
2E1	20 krát	ethanol, hladovění, isoniazid, onemocnění cukrovkou
3A4	30 krát	barbituráty, dexamethason, rifampicin

^a Údaje převzaty z cit.^{29,30,32,37,49}

sterolu, prostaglandinů, prostacyklinů, vitamínu D3 a žlučových kyselin jsou příslušníky následujících rodin: P450 5, P450 7, P450 8, P450 24, P450 27 a P450 51 (cit.^{12,27,28,30}).

Separátně je nutno zmínit participaci cytochromů P450 na biosyntéze endogenních látek jako jsou steroidy a hormony. Pro metabolismus steroidních hormonů jsou nejdůležitější cytochromy P450 podrodin 11, 17, 19 a 21 (cit.^{29,30,39-45}). Jsou lokalizovány v membránách endoplazmatického retikula (podobně jako ostatní cytochromy P450) a navíc zejména v membránách mitochondrií tkání produkujících steroidní hormony^{2,39-41}.

Množství cytochromů P450 v jednotlivých tkáních nelze brát absolutně. Jejich obsah v lidských tkáních je závislý na mnoha faktorech jako je např. genetický polymorfismus, vliv vnějších podmínek (environmentální polutanty chemické ev. fyzikální povahy), výživa, věk, kouření, konzumace alkoholu, působení podávaných léčiv^{30,46,47} (tab. III). Jsou to enzymy jak konstitutivní, tak i inducibilní. Z nich k silně inducibilním enzymům patří většina forem (izoenzymů) cytochromu P450. To znamená, že i v případě, kdy je o určitém cytochromu P450 deklarováno, že je přítomen třeba i jen v mizivém množství, může jeho koncentrace v organismu (tkáních, orgánech) za určitých podmínek narůst extrémně. Příklady induktorů jsou uvedeny v tabulce IV. Experimenty prokazující indukci jednotlivých forem P450 příslušnými induktory byly prováděny *in vivo* na laboratorních zvířatech nebo *in vivo* na lidských buněčných liniích^{2,30}. Variabilita obsahu jednotlivých cytochromů P450 je uvedena rovněž v tabulce IV. Tato variabilita je dána uvedenou množstvím indukce, ale podstatný je především již zmíněný genetický polymorfismus. Genetický polymorfismus je faktorem, kdy vrozené změny DNA vedou k absenci P450, k nemožnosti indukce P450 nebo i ke tvorbě formy P450, která má změněnou katalytickou aktivitu³⁰. Polymorfismus je definován jako geneticky podmíněná odlišnost postihující alespoň 2 % uvažované populace³⁰. Změny, které se vyskytují méně často, se obvykle nazývají „genetická deficeience“ nebo „vrozené chyby metabolismu“. Polymorfismus

cytochromů P450 se velmi podstatně liší u různých lidských ras a populací³⁰. Velmi často je dnes sledován na úrovni genu metodami založenými na řetězové polymerasové reakci s následným štěpením produktů restrikčními enzymy.

Další hledisko, které je třeba brát v úvahu, je substrátová specifita cytochromů P450. Obecně lze konstatovat, že cytochromy P450 mají širokou substrátovou specifitu. Přeměňují tedy celou řadu substrátů. Jednotlivé cytochromy P450 však přece jen vykazují substrátovou specifitu poněkud odlišnou, i když se jejich schopnost přeměňovat různé substráty částečně překrývá. Je evidentní, že např. pro studium kancerogeneze mají největší význam ty z cytochromů P450, u nichž převažují reakce vedoucí k přeměně prokarcinogenů (exogenních i endogenních) na jejich aktivní formy. Cytochromy P450, které se významněji podílejí na přeměně prokarcinogenů, jsou především cytochromy P450 1A1, 1A2, 2E1 a 3A4 (cit.^{31-33,36}).

Vzhledem ke schopnosti cytochromů P450 katalyzovat reakce vedoucí ke zvýšení polárnosti substrátů mohou produkty těchto reakcí být jednak vyloučeny z organismu, nebo se aktivovat a vázat na endogenní látky, jako jsou nukleové kyseliny a proteiny. Touto modifikací dochází ke změně jejich fyziologické funkce. Jinou možností jak tyto systémy svou funkcí poškozují buňky je tvorba radikálů, aktivních forem kyslíku, peroxidace lipidů a pod.⁵⁰ I když je obtížné zcela zobecnit, které z cytochromů P450 preferují aktivní reakce prokarcinogenů, lze říci, že i z tohoto hlediska (podobně jako z hlediska substrátové specifity) jsou stěžejními P450 1A1, 1A2, 2E1 a 3A4 (cit.^{2,31,33,36}). Příklady substrátové specifity jednotlivých cytochromů P450 u člověka ve směru aktivace protokantiků a prokarcinogenů jsou uvedeny v tabulce V.

Při posuzování významnosti cytochromů P450 pro vývoj a regulaci procesů nádorového bujení je třeba brát v úvahu i skutečnost, nakolik se podílejí na metabolismu (biosyntéze či odbourávání) látek, které potencují kancerogenezi nebo těch, které v nádorových buňkách působí jako agens tyto buňky ničí. V tomto směru jsou významné cytochromy P450 participující na metabolismu nejen exogenních prokarcinogenů, ale i steroidních látek a na přeměně protinádorových léčiv, tedy opět P450 1A1, 1A2 a 3A4, dále i 2C. Na katalýze těchto reakcí se také podílejí cytochromy P450, které mají mnohem vyhraněnější substrátovou specifitu pro metabolismus steroidů, přičemž s mizivou účinností metabolizují látky cizorodé. Do této skupiny patří P450 11A1 = P450scs (z angl. „side chain cleavage“), P450 11B1, P450 11B2, P450 19 a P450 21. Reakce, které katalyzují, jsou především hydroxylace na uhlíci steranového skeletu steroidů. Zřejmě nejvýznamnější je P450 19, označovaný také jako aromatasa. Je tomu tak proto, že enzym ovlivňuje vývoj nádorů (např. nádorů prsu), jejichž růst je závislý na hladinách estrogenních hormonů^{2,9}. Látky, které regulují aktivitu aromatasu jsou dokonce již používány jako antinádorová chemoterapeutika⁶⁰.

3.1. Cytochromy P450 1A1 a P450 1A2

Cytochromy P450 1A1 a 1A2 jsou nejvýznamnější beme-li v úvahu jejich úlohu při aktivaci prokarcinogenů (environmentálních chemikálií, toxických látek, toxických léčiv)^{9,31,37,61-64}. Příklady uvádí tabulka V. Mohou aktivovat až 90 % všech dosud známých karcinogenů². Oba enzymy si jsou značně podobné (vykazují až 70 % homologii v aminokyseli-

Tabulka V

Lidské cytochromy P450 aktivující toxické a karcinogenní sloučeniny a příklady takových sloučenin

P450 ^a	Substrát	Induktor
1A1	benzo[<i>a</i>]pyren ajiné polycyklické uhlovodíky, 2-amino-1-methyl-6-fenyl-imidazo[4,5- <i>b</i>]pyridin (PhIP), tamoxifen, aflatoxin B1, 6-nitrochrysen, tabákově specifický nitrosamin, 4-(methylnitrosoamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanon (NNK)	TCDD, 5,6-benzoflavon, benzo[<i>a</i>]pyren, 3-methylcholanthren, kouření, 2-acetylaminofluoren, omeprazol
1A2	4-aminobifenylyl, 2-naftylamin, 2-aminofluoren, 2-aminoanthracen, 2-acetylaminofluoren, paracetamol, aflatoxin B1, benzo[<i>a</i>]pyren, N-nitrosnikotin, NNK, pyrolytické produkty potravin: heterocyklické a aromatické aminy jako např.: 2-amino-1-methyl-6-fenylimidazo-[4,6- <i>b</i>]pyridin (PhIP), 2-amino-6-methyldipyrido-[1,2- <i>a</i> :3,2'- <i>d</i>]imidazol (Glu P-1), 2-aminopyrido-[1,2- <i>a</i> :3,2'- <i>d</i>]imidaol (Glu P-2), 2-amino-3-methylimidazo-[4,5- <i>f</i>]chinolin (IQ), 2-amino-3,5-dimethylimidazo-[4,5- <i>f</i>]chinolin (MeIQ), 2-amino-3,8-dimethylimidazo-[4,5- <i>f</i>]chinolin (MeIQx), 3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3- <i>b</i>]indol (TRP P-2)	TCDD, benzo[<i>a</i>]pyren, omeprazol, heterocyklické aminy, 5,6-benzoflavon, polychlorované bifenily
2A6	N-nitrosodiethylamin, NNK, butadien, 6-aminochrysen, aflatoxin B1,	
2B6	aflatoxin B1, 6-aminochrysen, dibenzo[<i>a,h</i>]anthracen, nikotin, NNK	barbituráty, dexamethason
2E1	benzen, styren, vinylchlorid, vinylbromid, akrylonitril, vinylkarbamát ethylkarbamát, trichlorethylen, N-nitrosodimethylamin, NNK, chloroform	ethanol, aceton, isoniazid, toluen, hladovění
3A4	aflatoxin B1, aflatoxin G1, tamoxifen, sterigmatocystin, benzo[<i>a</i>]pyren, 7,8-dihydroxy-7,9-dihydrobenzo[<i>a</i>]pyren, 6-aminochrysen, 1-nitropyren, tris(2,3-dibromopropyl)fosfát, 17 β -estradiol	rifampicin, erythromycin, fenobarbital klobifráty, dexamethason

^a Údaje převzaty z cit. 2,9,29,31-33,37,51-59

nové sekvenci, která je vysoce konzervovaná). Oba enzymy katalyzují i stejné reakce. Liší se však především v lokalizaci. P450 1A1 je přítomen v mizivých koncentracích v játrech, naopak je zastoupen v jiných tkáních⁹. Jedná se o enzym, který je silně indukován u kuřáků. Navíc se předpokládá, že rozsah inducibility tohoto enzymu lze korelovat s dispozíci vzniku rakoviny plic⁹. Naopak však existují i literární údaje deklarující, že pokusy korelovat inducibilitu P450 1A1 se vznikem rakoviny plic u kuřáků nebyly průkazné⁵⁰. Cytochrom P450 1A1 byl detegován v plicích kuřáků a navíc v několika nádorových tkáních (buňky plicního karcinomu, nádorů prsu)^{9,63,64}. Zcela nedávno bylo zjištěno, že genetický polymorfismus cytochromu P450 1A1 ovlivňuje výskyt nádorů (počet i růst) nejen plic a prsu, ale i kůže⁹.

Cytochrom P450 1A2 je typickým jaterním enzymem. Má velmi širokou substrátovou specifitu (tab. V). Významnými substráty jsou aromatické aminy, které vznikají jako pyrolytické produkty tepelné úpravy potravin (proteinů, aminokyselin)^{2,9}. Jejich koncentrace v organismu mohou narůstat jako následek pravidelné konzumace tepelně upravených potravin obsahujících vysoké koncentrace těchto pyrolytátů⁹. Díky své silné karcinogenitě mohou pak tyto aromatické aminy zvyšovat i riziko tvorby nádorů.

Cytochromy P450 1A1 a 1A2 se podílejí i na aktivaci genotoxických chemikálií přítomných v cigaretovém kouři. P450 1A2 se účastní i metabolismu steroidů.

Podobně jako v případě cytochromu P450 1A1 i přítomnost P450 1A2 v tkáních koreluje s rizikem výskytu rakoviny^{31,23,27}. S výskytem cytochromu P450 1A2 souvisí vznik kolorektálních nádorů a nádorů močového měchýře⁹. Oba enzymy regulují i hladiny endogenních aduktů v DNA (tzv. „I-compound“). Mechanismus však není doposud vysvětlen⁶⁵.

3.2. Cytochromy P450 2A6, P450 2B6, P450 2C (2C8, 2C9, 2C19) a P450 2D6

Z cytochromů P450 genové rodiny 2 u člověka je z důvodu významnosti nutné zmínit P450 2A6. U lidí totiž tvoří až 4 % celkového P450 (tab. I) a metabolizuje substráty, které mají význam pro lidské zdraví, např. nikotin, nitrosaminy, kumarin, látky používané k léčení AIDS (azidothymidin, zidovudin)^{2,9,30}. Navíc aktivuje některé prokarcinogeny (např. tabákově specifický nitrosamin NNK, butadien, 2,6-dichlorbenzonitril, hexamethylfosforamid, 6-aminochrysen, aflatoxin B1)^{2,9}. Vykazuje významný genetický polymorfismus.

Ačkoliv množství P450 2B6 v lidském organismu je velmi nízké (okolo 0,2 % z celkového množství P450, tab. I) nelze tento enzym vyloučit z participace na kancerogenezi. Podílí se totiž na aktivaci některých karcinogenů. Hraje roli i v metabolismu protinádorových léčiv jako jsou cyklofosfamid a ifosfamid^{53,66}.

Cytochromy P450 podrodiny 2C jsou u člověka hojně zastoupeny a mají velmi širokou substrátovou specifitu. Sice doposud neexistují žádné důkazy pro možné začlenění těchto cytochromů P450 do procesů kancerogeneze, ale hrají velmi významnou roli v metabolismu a účinnosti řady léčiv. Je pro ně totiž typický výrazný genetický polymorfismus, který způsobuje, že u určitých skupin lidské populace je zcela zabráněno chemoterapeutickému účinku některých léčiv, které jsou na cytochromech P450 podrodiny 2C metabolicky závislé. U lidí byly identifikovány čtyři formy tohoto enzymu (2C8, 2C9, 2C18 a 2C19)³⁰. P450 2C8 a 2C9 aktivují karcinogenní benzo[a]pyren, v jeho aktivaci však hrají proti jiným formám P450 minoritní roli². Genetický polymorfismus je zvláště charakteristický pro formy 2C9 a 2C19, klinicky významný je u formy 2C19, která navíc metabolizuje celou řadu léčiv (např. mephenytoin, citalopram, barbituráty, omeprazol, propranolol, diazepam)^{2,30}.

Lidský cytochrom P450 2D6 je rovněž zajímavý z toho hlediska, že vykazuje výrazný genetický polymorfismus². Může být důležitý i pro patologické procesy chemické kancerogeneze. Předpokládalo se, že může ovlivňovat i výskyt nádorů plic⁶⁷ a močového měchýře⁶⁸. Experimentální důkazy jsou však zatím nedostatečné a proto bylo od této teorie prozatím upuštěno⁹.

3.3. Cytochrom P450 2E1

Cytochrom P450 2E1 se uplatňuje mimořádně významně v metabolismu toxikologicky důležitých látek (v tomto případě jde o sloučeniny s malou molekulovou hmotností). Je totiž zodpovědný za tvorbu reaktivních metabolitů z mnoha látek, se kterými se člověk často setkává (příklady jsou uvedeny v tab. V). Je konstitutivním enzymem jaterní tkáně, avšak je také indukovatelný řadou látek, které jsou většinou i substráty tohoto enzymu. Příklady induktorů P450 2E1 jsou uvedeny v tabulce V. Nejznámějšími induktory jsou ethanol a aceton, fyziologicky důležitá je indukce cytochromu P450 2E1 vyvolaná hladověním (endogenní tvorba acetonu). Aktivuje karcinogeny, zejména řadu nitrosaminů (především s alifatickými řetězci). Ty mají velký význam proto, že mohou vznikat i jako endogenní látky v zažívacím traktu člověka a dalších živočichů.

3.4. Cytochrom P450 3A4

Cytochrom P450 3A4 je co do obsahu v lidských tkáních, i co do množství substrátů, které přeměňuje, rozhodně nejvýznamnějším cytochromem P450. Původně byl tento enzym nazýván podle schopnosti oxidovat nifedipin jako P450NF a pod tímto názvem byl také poprvé izolován⁶⁹. Podrobnými studiemi pak bylo prokázáno, že se podílí na oxidaci velkého počtu karcinogenů, jako i léčiv a endogenních látek (steroidy) (tab. V) (cit.^{9,69}). Je přítomen nejen v játrech, ale i v celé řadě dalších tkání (tab. I, II). Je indukován barbituráty, rifampicinem a dexamethasonem^{9,70,71}. Příklady substrátů a induktorů cytochromu P450 3A4 jsou uvedeny v tabulce V. Z hlediska procesů kancerogeneze jsou důležitými substráty tohoto izoenzymu karcinogenní xenobiotika jako jsou některé přírodní produkty (aflatoxiny), polycyklické aromatické uhlovodíky, aromatické aminy a z endogenních látek pak steroidní sloučeniny (17-*beta*-estradiol, testosteron, progesteron, kortisol)^{2,72}.

3.5. Cytochromy P450 11, P450 17, P450 19 a P450 21

Zvláštními skupinami cytochromů P450 jsou enzymy metabolizující preferenčně endogenní látky se steroidní strukturou. Reakce katalyzované těmito enzymy probíhají primárně v kůře nadledvinek, pohlavních žlázách a v placentě. Cytochromy P450 rodiny 11 jsou lokalizovány v mitochondriích a další formy (P450 17, P450 19, P450 21) v mikrosomech^{30,39,73}. Reakce, které tyto enzymy katalyzují, napomáhají udržovat steroidní látky v organismu na optimální hladině. Tyto cytochromy P450 mají nejužší substrátovou specifitu i specifitu účinu.

Jsou velmi důležité také z hlediska procesů kancerogeneze, a to ze dvou důvodů. Prvním z nich je skutečnost, že nevyváženost koncentrace některých steroidních hormonů (např. jejich zvýšené koncentrace) mohou vést ke karcinogenním procesům. Na druhé straně vyvážené hladiny steroidních látek jsou důležité i pro stav buněk některých nádorů. Proto se také regulátorů některých těchto cytochromů P450 dokonce používá v protinádorové terapii⁶⁰. Takto jsou používány inhibitory cytochromu P450 17 jako antiandrogeny k léčení rakoviny prostaty^{74,75} a především inhibitory cytochromu P450 19 (aromatasy)⁶⁰.

4. Zásah cytochromů P450 do procesů chemické kancerogeneze

Proces chemické kancerogeneze sestává přinejmenším ze tří fází: iniciační, promoční a progresní. V iniciační fázi dochází ke změně genetické informace zdravých buněk, které vedou ke tvorbě prekarcinogenní léze. Tato prekarcinogenní léze je vyvolána především rozličnými modifikacemi molekul DNA. Vzhledem k tomu, že právě modifikace molekul DNA jsou považovány za kritický krok kancerogeneze, jsou hledány cesty, jak je detegovat a jak jejich vzniku zabránit^{76,81}. Iniciační fáze kancerogeneze je (vzhledem k její důležitosti) velmi detailně studována^{80,82}. Z modifikací DNA je významná tvorba kovalentních aduktů DNA (kovalentní vazba karcinogenu na báze či deoxyribosu DNA), dále pak tvorba hydroxyderivátů bází DNA (oxidativní léze tvořené radikálovými formami kyslíku), tvorba cyklických aduktů, tvořených z bifunkčních genotoxických činidel, poškození DNA vyvolané radiací, tvorba pyrimidinových dimerů, apurinace a apyrimidinace DNA, tvorba interkalátů. Ovšem za nejzávažnější je třeba považovat tvorbu kovalentních aduktů.

Cytochromy P450 jsou jedny z nejvýznamnějších enzymů aktivujících prokarcinogeny na reaktivní ultimální formy, které tvoří kovalentní adukty. (Otázkou, které izoformy jsou nejvýznamnější pro aktivaci karcinogenů, se zabývá předchozí kapitola). Tyto enzymy se podílejí i na reakcích, při nichž se uvolňují aktivní formy kyslíku za tvorby oxidačních lézí v DNA - nejvýznamnější je v této souvislosti tvorba 8-hydroxyguaninu v DNA. Je tomu tak proto, že v průběhu reakcí katalyzovaných cytochromy P450 je tvorba kyslíkových radikálů součástí reakčního mechanismu (viz obr. 1). Z izoenzymů cytochromu P450 je to především P450 2E1, který aktivní formy kyslíku v průběhu reakcí snadněji uvolňuje^{50,83}. Někdy jsou oxidativní reakce substrátů katalyzované tímto cytochromem

mem P450 vlastně zprostředkovány právě aktivními formami kyslíku³⁰.

Apurinace a apyrimidinace DNA jsou sice přirozenými procesy, dochází k nim však mnohem častěji, jsou-li báze DNA nějakým způsobem pozměněny. Právě kovalentní modifikace bází DNA, které vedou k rychlé apurinaci či apyrimidinaci, jsou dnes považovány za velmi podstatný faktor v procesu kancerogeneze⁸⁴ - a za vznik kovalentních modifikací jsou právě cytochromy P450 zodpovědné.

Tvorba interkalátů v DNA může být rovněž procesem nezávislým na enzymové katalýze. Avšak řada interkalálních činidel je efektivnější až jako *metabolity* vzniklé v biotransformačních reakcích (tedy i v reakcích katalyzovaných cytochromem P450).

Klíčovými faktory promoční fáze (zvýšená proliferace primárně pozměněných buněk) jsou především aktivity proteinkinasy a fosfáty a jejich regulace⁸⁵. Růst nádoru ovlivňují i další faktory, zejména produkty onkogenů, uvolňované po aktivaci (derepresi) onkogenů buď onkogenním virem nebo jiným kancerogenním *podnětem*⁸⁵⁻⁸⁸. Takovým dalším podnětem mohou být právě i oxidativní změny DNA, způsobené radikálovými formami kyslíku. Jejich vznik je, jak bylo výše uvedeno, podmíněn aktivitami některých cytochromů P450 (P450 2E1) a dalších hemových enzymů - peroxidasy.

Progresní fázi kancerogeneze můžeme zjednodušeně přirovnat k fázi iniciační. Procesy modifikace DNA jsou v progresní fázi ještě efektivnější⁸⁹. Ve fázi progresu dochází k tvorbě buněk již totálně maligně pozměněných. Funkce aktivačních enzymů participujících na vzniku aduktů DNA (modifikované DNA) je tedy zcela zřejmá.

5. Závěr

Uvedené příklady dokumentují, jaký význam a jak rozpočetnou roli pro lidské zdraví mají cytochromy P450. Vedle „tradičních“ reakcí detoxikace cizorodých látek a aktivace léčiv se stejnou měrou uplatňují také potenciálně nebezpečné aktivační reakce prototoxikantů a prokarcinogenů: v procesu karcinogeneze mohou cytochromy P450 pravděpodobně spolupůsobit i dalšími mechanismy. Detailní poznání mechanismu enzymové aktivity těchto hemoproteinů a jejich specifity proto může významně přispět k pokroku v terapii i prevenci rakoviny a dalších chorob.

Autoři děkují za podporu Německému centru výzkumu rakoviny a grantům MŠMT ČR (VS 96 141), GA ČR (203/95/0604 a 203/96/0177) a GA UK (87/95).

LITERATURA

1. Spatzenegger M., Jaeger W.: *Drug Metab. Rev.* 27, 397 (1995).
2. Rendic S., DiCarlo F. J.: *Drug Metab. Rev.* 29, 413 (1997).
3. Eling T. E., Thompson D. C., Foureman G. L., Curtic J. F., Hughers M. F.: *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 30, 1 (1990).
4. Stiborová M., Frei E., Schmeiser H. H., Anzenbacher P.: *Drug Metab. Drug Interact.* 9, 17 (1991).

5. Stiborová M., Frei E., Schmeiser H. H.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 62, 971 (1997).
6. Ziegler D. M., Pettit F. H.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 75, 188 (1964).
7. Damani L. A., v knize: *Metabolism of Xenobiotics* (Gorrod J. W., Oelschlager H., Caldwell J., ed.), str. 59. Taylor and Francis, London 1988.
8. Kvasničková E., Hais I. M.: *Cesk. Farm. XLIII*, 315 (1994).
9. Guengerich F. P., Shimada T., v knize: *Human Drug Metabolism. From Molecular Biology to Man* (Jeffery E. H., ed.), str. 6. CRC Press, London, Tokyo 1993.
10. Souček P., Gut I.: *Xenobiotica* 22, 83 (1992).
11. Gut I., Souček P., Hodek P.: *Prac. Lek.* 7, 15 (1992).
12. Nelson D. R., Koyamans L., Kamataki T., Stegeman J. J., Freyereisen R., Waxman D. J., Waterman M. R., Gotoh O., Coon M. J., Estabrook R. W., Gunsalus I., Nebert D. W.: *Pharmacogenetics* 6, 1 (1996).
13. Nebert D. W., Nelson D. R., Freyereisen R.: *Xenobiotica* 79, 1149 (1989).
14. Stiborová M., Fernando R. C., Schmeiser H. H., Frei E., Pfau W., Wiessler M.: *Carcinogenesis* 15, 1187 (1994).
15. Schmeiser H. H., Bieler C., Wiessler M., van Ypersele de Strihou C., Cosyns J.-P.: *Cancer Res.* 56, 2025 (1996).
16. Schmeiser H. H., Frei E., Wiessler M., Stiborová M.: *Carcinogenesis* 18, 1055 (1997).
17. Bieler C. A., Stiborová M., Wiessler M., Cosyns J.-P., van Ypersele de Strihou C., Schmeiser H. H.: *Carcinogenesis* 18, 1063 (1997).
18. Liu G.-T.: *Drug Metab. Rev.* 23, 439 (1991).
19. Kvasničková E., Šroler A.: *Cesk. Farm. XLI*, 338 (1992).
20. Preussmann R., Wiessler M.: *Trends Pharm. Sci.* 8, 185 (1987).
21. Stiborová M., Hansíková H., Frei E.: *Cancer Lett.* 770, 11 (1996).
22. Kadlubar F. F.: *ISI Atlas Sci.: Pharmacol.* 7, 129 (1987).
23. Anzenbacher P., Dawson J. H., Kitagawa T.: *J. Mol. Struct.* 274, 149 (1989).
24. Anzenbacher P., Hudeček J., Stiborová M., Larroque C., Lange R., Heibel G., Hildebrandt P., v knize: *Cytochrome P-450. Biochemistry and Biophysics* (Archakov A. I., Bachmanova G. I., ed.), str. 1. INCO-TNC, Moscow 1992.
25. Hudeček J., Baumruk V., Anzenbacher P., Munro A. W.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 243, 811 (1998).
26. Coon M. J., Ding X., Pernecky S. J., Vaz A. D. N.: *FASEB J.* 6, 669 (1992).
27. Nebert D. W., Nelson D. R., Adesnik M., Coon M. J., Esrabrook R. W., Gonzales F. J., Guengerich F. P., Gunsalus I. C., Johnson E. F., Kemper B., Levin W., Phillips J. R., Sato R., Waterman M. R.: *DNA* 8, 1 (1989).
28. Nelson D. R., Kamataki T., Waxman D. J., Guengerich F. P., Estabrook R. W., Freyereisen R., Gonzales F. J., Coon M. J., Gunsalus I. C., Gotoh O., Okada K., Nebert D. W.: *DNA Cell Biol.* 12, 1 (1993).
29. Gonzales F. J., Korzekwa K. R.: *Annu. Rev. Toxicol. Pharmacol.* 35, 369 (1995).
30. Guengerich F. P., v knize: *Cytochrome P450- Structure, Mechanism and Biochemistry* (Ortiz de Montellano P. R., ed.), 2 vyd., str. 473. Plenum Press, New York 1995.

31. Gonzalez F. J., Gelboin H. V.: *Drug Metab. Rev.* 26, 165 (1994).
32. Ioannides C., Parke D. V.: *Drug Metab. Rev.* 25, 485 (1993).
33. Juchan M. R., Lee Q. P., Fantel A. G.: *Drug Metab. Rev.* 24, 195 (1992).
34. Yamazaki H., Shimada T., Guengerich F. P.: *Xenobiotica* 26, 395 (1996).
35. Smith D. A.: *Eur. J. Pharm. Sci.* 2, 69 (1994).
36. Park B. K., Pirmohamed M., Kitteringham N. R.: *Pharmacol. Theor.* 68, 385 (1995).
37. Neal G.-E.: *Toxicol. Lett.* 82/83, 861 (1995).
38. Hakkola J., Pasanen M., Hukkanen J., Pelkonen O., Maenpää J., Edwards R. J., Boobis A. R., Raunio H.: *Biochem. Pharmacol.* 57, 403 (1996).
39. Hanukoglu I.: *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 43, 779 (1992).
40. White P. C., Pascoe L., Curnow K. M., Tamnin G., Rosler A.: *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 43, 827 (1992).
41. Swinney D. C., Mak A. Y.: *Biochemistry* 33, 2185 (1994).
42. Vanden Bossche H.: *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 43, 1003 (1992).
43. Simpson E. R., Makendroo M. S., Means G. D., Kilgore M. W., Hinshelwood M. M., Graham-Lorence S., Amarneh B., Ito Y., Fisher C. R., Michael M. D., Mendelson C. R., Bulun S. E.: *Endocr. Rev.* 75, 342 (1994).
44. Dowset M.: *Annu. Oncol.* 5, S3 (1994).
45. Lephart E. D.: *Brain Res. Rev.* 22, 1 (1996).
46. Daly A. K.: *J. Mol. Med.* 73, 539 (1995).
47. Stephens E. A., Taylor J. A., Kaplan N., Yang C.-H., Hsieh L. L., Lucier G. W., Bell D. A.: *Pharmacogenetics* 4, 185 (1994).
48. Bock K. W., Schrenk D., Foster A., Griese E.-U., Morike K., Brockmeier D., Eichelbaum M.: *Pharmacogenetics* 4, 209 (1994).
49. Wrighton S. A., Vanden Branden M., Stevens J. C., Shipley L. A., Ring B. J.: *Drug Metab. Rev.* 25, 453 (1993).
50. Tichavská B., Gut I.: *Chem. Listy* 88, 580 (1994).
51. Heyn H., White R. B., Stevens J. C.: *Drug Metab. Dispos.* 24, 948 (1996).
52. Donato M. T., Castell J. V., Gomez-Lechon M. J.: *Drug Metab. Dispos.* 23, 553 (1995).
53. Chang T. K. H., Weber G. F., Crespi C. L., Waxman D. J.: *Cancer Res.* 53, 5629 (1993).
54. Ono S., Hatanaka T., Miyazawa S., Tsuitsui M., Aoyama T., Gonzalez F. J., Satoh T.: *Xenobiotica* 26, 1155 (1996).
55. Chang T. K. H., Gonzalez F. J., Waxman D. J.: *Arch. Biochem. Biophys.* 311, 437 (1994).
56. Yamazaki H., Mimura M., Oda Y., Gonzalez F. J., El-Bayoumy K., Chae H. Y., Guengerich F. P., Shimada T.: *Carcinogenesis* 75, 465 (1994).
57. Garton K. J., Meinwald J., Thumel K. E., Kjarasch E.: *Drug Metab. Dispos.* 23, 1426 (1996).
58. Nakagawa T., Sawada M., Gonzalez F. J., Yokoi T., Kamataki T.: *Mutat. Res.* 354, 181 (1996).
59. Mitra A. K., Thummel K. E., Kalhorn T. F., Kharsch E. D., Unadkat J. D., Slattery J. T.: *Clin. Pharmacol. Ther.* 58, 556 (1995).
60. Miller W. R.: *Cancer Treatment Rev.* 23, 171 (1997).
61. Nelson S. D.: *Semin. Liver Dis.* 10, 267 (1990).
62. Vermeulen N. P. E., Bessems J. G. M., Van den Straat R.: *Drug Metab. Rev.* 24, 367 (1992).
63. McLemore T. L., Adelberg S., Liu M. C., Mahon N. A., Yu S. J., Hubbard W. C., Czerwinski M., Wood T. G., Storeng R., Lubert R. A., Eggleston J. C., Boyd M. R., Hines R. N.: *J. Natl. Cancer Inst.* 83, 1333 (1990).
64. Kawajiri K., Nakchi K., Imai K., Watanabe J., Hayashi L. S.: *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 14, 11 (1993).
65. Moorthy B., Chen S., Li D., Randerath K.: *Carcinogenesis* 14, 879 (1993).
66. Bohnenstengel F., Hofman U., Eichelbaum M., Kroemer H. H.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 57, 297 (1996).
67. Ayesh R., Idle J. R., Ritchie J. C., Crothers M. J., Hetzel M. R.: *Nature* 372, 169 (1994).
68. Kaisary A., Smith P., Janczq E., McAlister C. B., Wilkinson G. R., Ray W. A., Ray R. A., Branch R. A.: *Cancer Res.* 47, 5488 (1987).
69. Brian W. R., Sari M.-A., Iwasaki M., Shimada T., Kaminisky L. S., Guengerich F. P.: *Biochemistry* 29, 11280 (1990).
70. Watkins P. B., Wrighton S. A., Meurel P., Schuetz E. G., Mendez-Picon G., Parker G. A., Guzelian P. S.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82, 6310 (1985).
71. Guengerich F. P.: *Cancer Res.* 48, 2946 (1988).
72. Flaishaker I. C., Pearson L. K., Peters G. R.: *J. Pharm. Sci.* 84, 292 (1995).
73. Kagawa N., Waterman M. R., v knize: *Cytochrome P450 - Structure, Mechanism and Biochemistry* (Ortiz de Montellano P. R., ed.), 3 vyd., str. 419. Plenum Press, New York 1995.
74. Hartman R. W.: *Eur. J. Pharm. Sci.* 2, 15 (1994).
75. Burke D. F., Laufhton C. A., Snook C. F., Neidle S.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 5, 1125 (1995).
76. Stiborová M., Asfaw B., Frei E., Schmeiser H. H., Wiesler M.: *Chem. Res. Toxicol.* 8, 489 (1995).
77. Binková B.: *Chem. Listy* 87, 564 (1993).
78. Chang L. W., Hsia S. M. T., Chang P.-C., Hsieh L.-L.: *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 34, 41 (1994).
79. Randerath K., Randerath E.: *Drug Metab. Rev.* 26, 67 (1994).
80. Keith G., Dirheimer G.: *Current Opinion Biotechnol.* 6, 3 (1995).
81. Stiborová M., Frei E., Bieler C. A., Schmeiser H. H.: *Chem. Listy* 92, 661 (1998).
82. Beach A. C., Gupta R. C.: *Carcinogenesis* 13, 1053 (1992).
83. Yang C. S., Yoo J.-S. H., Ishizaki H., Hong J.: *Drug Metab. Rev.* 22, 147 (1990).
84. Chen L., Devanesan P. D., Higginbotham S., Ariese F., Jankowiak R., Small G. J., Rogan E. G., Cavalieri E. L.: *Chem. Res. Toxicol.* 9, 897 (1996).
85. Slaga T. J.: *Mechanism of Tumor Promotion*. Vol. 1-4. CRC Press, Boca Raton 1984.
86. Trush M. A., Kensler T. W.: *Free Radical Biol. Med.* 10, 201 (1991).
87. Kensler T. W., Taffer B. G.: *Adv. Free Radical Biol. Med.* 2, 347 (1986).
88. Marnett L. J.: *Carcinogenesis* 8, 1365 (1987).
89. O'Connell J. F., Klein-Szanto A. J. P., DiGiovanni D. M., Fries J. W., Slaga T. J.: *Cancer Res.* 46, 2863 (1986).

M. Stiborová³, I. Hudeček^a, P. Hodek³, and E. Frei^b
 ("Department of Biochemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague, ^bDepartment of Molecular Toxicology, German Cancer Research Centre, Heidelberg, Germany):
Cytochromes P450 and Human Health

Cytochrome P450 is a generic name applied to a group of hemoproteins. These enzymes belong to the most significant involved in the metabolism of many xenobiotics (pharmaceutical drugs or their additives, environmental pollutants), several natural products and endogenous compounds. They

catalyze oxidation, peroxidation and reduction reactions, which are involved in the first (so-called derivative) phase of biotransformation of the above-mentioned compounds. Humans are known to widely differ in levels of individual cytochromes P450 and in rates of metabolism of xenobiotics and other substrates of these enzymes. Differences can clearly be related to those in biological response to chemicals and their toxicity. This review is focused mainly on significance of individual forms of cytochrome P450 in reactions, that lead to activation of prototoxicants and procarcinogens to their ultimate derivatives. Recent reports on the involvement of cytochromes P450 in processes of chemical carcinogenesis are discussed.