

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
katedra biochemických věd

**Aktivita biotransformačních enzymů v lidském plodu a
u novorozenců**

(bakalářská práce)

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.“

Na tomto místě bych chtěla poděkovat prof. RNDr. Evě Kvasničkové, CSc., vedoucí bakalářské práce, za její trpělivost, cenné rady, podněty, ochotu a čas, který mi věnovala v průběhu práce.

OBSAH

1	Úvod a cíle práce.....	5
2	Xenobiotika a jejich vstup do organismu.....	7
2.1	Vstup xenobiotik do organismu	7
2.2	Místa vstupu xenobiotika do organismu	8
2.3	Transport xenobiotik do cílových buněk	9
3	Biotransformační enzymy	10
3.1	Enzymy 1. fáze biotransformace.....	10
3.1.1	Cytochromy P450.....	11
3.2	Enzymy 2. fáze biotransformace.....	17
4	Biotransformace xenobiotik placentou.....	18
4.1	Enzymy placenty	19
5	Biotransformace xenobiotik u plodu.....	20
5.1	Biotransformační enzymy plodu.....	21
6	Metabolismus léčiv v těhotenství	22
6.1	Vliv některých léků na plod	25
7	Biotransformace xenobiotik u novorozenců	29
7.1	Biotransformační enzymy novorozence	30
8	Závěr a shrnutí	31
9	Literatura	33

1 Úvod a cíle práce

Lidský organismus je během svého života vystaven působení mnoha různých chemických látek. Tyto cizorodé látky neboli xenobiotika (xenos - cizí) se v organismu normálně nevyskytují, nejsou důležité pro zdravý vývoj, nelze je využít k výstavbě tkání ani k tvorbě energie. Navíc se s těmito látkami organismy během evoluce ještě nesetkaly (Knejzlík et al. 2000).

Některá xenobiotika člověk přijímá z vlastního rozhodnutí jako léčiva, jiná ovšem nedobrovolně. Mezi látky přijímané nedobrovolně patří také různé pesticidy (pest – škůdce), jako například insekticidy (insect – hmyz), herbicidy (herb – bylina), fungicidy (fungi - houby) a další, také odpadní produkty při průmyslové výrobě, barviva, konzervační látky, těžké kovy a jiné (Ledvina et al. 2006).

Z tohoto důvodu musel být vyvinut v lidském organismu mechanismus, který umožní tyto látky eliminovat. Tyto mechanismy probíhají u všech živých systémů, protože při dlouhodobém působení těchto látek v organismu by docházelo k jejich poškození a smrti jedince. Hlavní podstatou je přeměnit tyto většinou lipofilní látky na látky více hydrofilní a tím usnadnit jejich eliminaci z organismu. Proces přeměny se nazývá biotransformace (Knejzlík et al. 2000).

Biotransformace xenobiotik probíhá hlavně v endoplazmatickém retikulu jaterních buněk, méně často v mitochondriích, lysozomech a cytosolu, probíhá i v jiných tkáních např. v plicích, ve střevě, ledvinách. Metabolismus hydrofobních xenobiotik probíhá ve 2 fázích: samotná biotransformace a konjugace (Koolman, 2005).

Reakce první fáze biotransformace vedou ke zvýšení polaritě látky. Nejčastěji dochází k zavedení atomu kyslíku do molekuly, redukci nebo odkrytí molekuly za vzniku funkční skupiny (př. $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{SH}$). Vzniklá molekula je dále schopná podstoupit druhou fázi biotransformace. Látky, které už mají funkční skupinu, první fázi nepodléhají. V této fázi se mohou uplatňovat také hydrolytické reakce, jimiž se větší molekuly štěpí na menší fragmenty. Celková toxicita látky se změní během první fáze jen minimálně. Reakce první fáze biotransformace jsou oxidace (převážně), redukce a hydrolyza (např. Ledvina et al., 2006, Nesměrák, 2007).

V průběhu druhé, konjugační fáze, reagují funkční skupiny vyšlé z metabolismu první fáze s malými molekulami endogenního původu, hlavně s aktivovanou kyselinou glukuronovou nebo sírovou, glycinem, glutationem aj. Možné jsou také acetylace aminů (Balíková, 2005). Smyslem konjugace je odstranit lipofilní vlastnosti modifikovaného xenobiotika a usnadnit exkreci z těla, obvykle močí a žlučí (případně stolicí), nebo změnit jeho aktivitu (Ledvina et al. 2006). K biotransformaci by nemohlo samozřejmě dojít bez příslušných enzymů, o těch bude blíže pojednáno ve 3. kapitole.

Eliminace látek z organismu je ovlivněna vazbou na plazmatické bílkoviny, aktivitou enzymů, účinností renální exkrece, ale závisí také na fyziologickém stavu, věku (jiné u dospělých a u novorozenců), pH moči aj. Nejdůležitějším orgánem pro exkreci jsou ledviny. Těkavé látky se vylučují plícemi. Někdy může dojít ve střevě k dekonjugaci a zpětné resorpci (enterohepatální oběh). Xenobiotika jsou vylučovány i do mateřského mléka (Dostál, 2006).

Cílem předložené práce je vypracování stručného přehledu základních znalostí o aktivitě biotransformačních enzymů v placentě, lidském plodu a u novorozenců a také o riziku užívání léků během těhotenství a jejich vlivu na plod.

2 Xenobiotika a jejich vstup do organismu

Jak už bylo naznačeno v úvodu, xenobiotika se vyskytují všude v našem okolí a je tedy nemožné vyhnout se kontaktu s nimi. Setkáváme se s nimi v lékařství v podobě léků (syntetické látky jako chemoterapeutika, psychotropní látky), v zemědělství (již zmíněné pesticidy), v potravinářství (ochucovadla, barviva, umělá sladidla), v energetickém průmyslu (CO_2 , SO_2 , popílek), v dopravě (oxidy dusíku, olovo, CO_2) a také ve spotřebním průmyslu (plasty, barviva, nátěrové hmoty) (Knejzlík et al. 2000). Řada xenobiotik, které se dostávají do prostředí jako znečištění, jsou naštěstí zneškodněny obranným mechanismem buňky, ale některé mohou znamenat pro organismus vážné nebezpečí. Mohou být v organismu aktivovány na kancerogenní, mutagenní a toxické produkty. Příkladem můžou být polyhalogenové bifenyly (PCB), polycyklické aromatické uhlovodíky (PAH) a dioxiny (Kvasničková, 1995).

2.1 Vstup xenobiotik do organismu

Vstup xenobiotik do organismu probíhá v několika fázích. Většinou se látka dostane nejprve do krevního řečiště, kde může interagovat s plazmatickými proteiny, které potom slouží jako její transportéry (např. albumin). Poté dochází ke vstupu do jednotlivých tělních buněk (Knejzlík et al. 2000).

Existují 3 hlavní způsoby, jak se může látka do krve dostat, může to být trávicím ústrojím (nejčastěji), respiračním systémem (inhalační, různé plynné látky a aerosoly) a pokožkou (dermální vstup). Výjimečně se může jednat o vstup nitrožilní, nitrosvalový nebo podkožní (Koolman a Röhm, 2005).

Bariéry mezi krví a tkáněmi jsou tvořeny epitely, jejichž buňky obsahují značné množství lipidů a fosfolipidů, to znamená, že lipofilní látky mají usnadněný vstup do organismu. Dalším společným znakem těchto tkání je jejich velký povrch, který umožňuje vysokou resorpční schopnost. Jakým způsobem se látka do organismu dostane, závisí také na tom, jaké má daná látka fyzikálně-chemické vlastnosti. Mezi nejdůležitější patří rozpustnost ve vodě a organických rozpouštědlech, těkavost, reaktivita. Například u vysoce reaktivních látek dojde k poškození sliznice, což vede ke zvýšenému

vstřebávání toxické látky do organismu. Některé látky, které se značně podobají sloučeninám, které plní v organismu fyziologické funkce, mohou do organismu pronikat pomocí kanálů umístěných na povrchu buněk. Toho se využívá hlavně ve farmacii, kdy část molekuly léku je podobná fyziologicky aktivní látce (Knejzlík et al. 2000).

2.2 Místa vstupu xenobiotika do organismu

- Perorální vstup – dochází ke vstřebávání v gastrointestinálním traktu, vstřebávají se látky elektroneutrální hydrofilní i lipofilní (malá M_r), ionty jednomocné (desítky %), dvoumocné (jednotky %) i vícemocné (desetiny %). Žaludeční šťávy (pH~2) silně ovlivňují vstřebávání v žaludku, vstřebávají se pouze slabé kyseliny. Hlavní část vstřebávání probíhá v tenkém střevě, nerozpustné látky se nevstřebávají, rozpustné přecházejí rovnou do jater, kde podléhají biotransformaci.
- Inhalační vstup – jedná se o nejdůležitější cestu (xenobiotikum se ihned dostává do krevního řečiště), ve vlhkém prostředí se vstřebávají hydrofilní, v plicních sklípcích pak hydrofobní látky. Částice větší než $5\mu\text{m}$ se nevstřebávají. Podíl zadrženého xenobiotika potom závisí na tělesné námaze, fyzikálně-chemických vlastnostech a také na zdravotním stavu plic.
- Transdermální vstup – plocha asi 2m^2 , plyny a páry mají slabý účinek, kapaliny pronikají podle svých vlastností (lipofilní látky přes membrány, hydrofilní látky přes kanálky potních žláz), účinek může být různý, látka může způsobit pouze lokální podráždění nebo může proniknout až do krevního oběhu, samozřejmě závisí na stavu pokožky, vlhkosti a poranění.
- Intravenosní vstup – nejrychlejší transport, při vstupu xenobiotika do arteriální krve dochází k průchodu játry a biotransformaci (first-pass effect), při vstupu do venosní krve může dojít k částečnému vyloučení xenobiotika v plicích ventilací (Nesměrák, 2007).

2.3 Transport xenobiotik do cílových buněk

Když je xenobiotikum v krvi, dochází ke druhé fázi transportu. Jedná se o distribuci toxické látky do orgánů, tkání a cílových buněk. Největší resorpční plocha a nejdelší doba zadržení krve je v krevních kapilárách, které vytvářejí bariéru mezi tkáněmi a krví. Stěnu tvoří jedna vrstva spojených endotelových buněk, které jsou obklopeny bazální membránou. V různých částech těla se tato bariéra liší, proto se také odlišuje různá míra poškození jednotlivých orgánů. Příklady – srdeční sval má kapilární síť z endoteliálních buněk, které mají transcytotickou aktivitu zabezpečující transport tekutin do intersticia. Při tomto transportu nezáleží na fyzikálně-chemických vlastnostech a látka se snadno dostane do svalu. Proto je srdce velice náchylné na působení xenobiotik. Mezi játry a krví probíhá volná výměna látek, stěny kapilár mají strukturu sítě a mohou tedy procházet i makromolekulární látky. Z tohoto důvodu jsou játra silně zasažena při chronických otravách. Buněčné stěny kapilár u pankreatu jsou propustné pouze pro látky s nízkou molekulární hmotností (Knejzlík et al. 2000).

Transport látek do buněk může probíhat:

1. Prostá difuze – dochází k přenosu látek lipofilní povahy ($M_r \leq 500$) vlivem koncentračního gradientu (Fickovy zákony), průchod póry ($M_r \leq 200$), ionty a hydrofilní látky neprocházejí
2. Pasivní/aktivní přenašečový transport – uskutečněno díky přenašečovým mechanismům v buněčné membráně, procházejí hydro- i lipofilní molekuly, anorganické i organické ionty, aktivní transport probíhá i proti koncentračnímu gradientu (potřeba energie)
3. Transcytosa - pinocytosa (vstřebávání kapiček média, včetně rozpuštěné látky)
- fagocytosa (vstřebávání celých částic) (Nesměrák, 2007).

Schopnost látky distribuovat se v těle je charakterizována experimentální veličinou, která se nazývá distribuční objem. Je to pomyslný objem, ve kterém by byla potřeba látku rozpustit, aby výsledná koncentrace byla rovna počáteční koncentraci v krevní plazmě.

$$V_d = D_{iv} / c_o$$

V_d je distribuční objem

D_{iv} je dávka látky podaná intravenosně

c_o je počáteční koncentrace v krevní plazmě

Ukládá-li se látka v některých orgánech, bude její koncentrace v krvi nižší než by odpovídalo rozpuštění látky v celkovém objemu krve a distribuční objem potom bude větší než objem krve (Klusoň, 2006)

3 Biotransformační enzymy

Biotransformační enzymy se u savců nacházejí ve všech tkáních. Nejvíce jsou ale koncentrovány do jater, které následně představují hlavní detoxikační orgán těla. Dále se s vyšší koncentrací enzymů obou fází setkáme v gastrointestinálním traktu, plicích, mozku, srdci, kůži, placentě a ledvinách. V buňce nejčastěji probíhají reakce první fáze v endoplazmatickém retikulu. Proto se někdy enzymy první fáze označují jako enzymy mikrosomální frakce. Mikrosomy jsou částice micelárního charakteru, které získáme degradací endoplazmatického retikula a následnou frakcionací. Reakce druhé fáze většinou probíhají v cytosolu. Cytosolem označujeme roztok cytoplasmy a isolačního pufru (např. Ledvina et al., 2006).

3.1 Enzymy 1. fáze biotransformace

Mezi enzymy 1. fáze patří především jaterní mikrosomální monooxygenasy, nazývané cytochromy P450, dále flavinové monooxygenasy,

alkoholdehydrogenasy, aldehyddehydrogenasy, karbonylreduktasy, peroxidasy a další. Přehled buněčné lokalizace těchto enzymů je uveden v tabulce 1.

Tab. 1 Některé příklady buněčné lokalizace enzymů 1. fáze biotransformace. Převzato z Ledvina et al, 2006

Reakce	Enzym	Lokalizace
Oxidace	cytochromy P450 flavinové monooxygenasy alkohol-, aldehyddehydrogenasy peroxidasy	mikrosomy mikrosomy cytosol, mitochondrie mikrosomy, cytosol
Redukce	karbonylreduktasy	cytosol
Hydrolyza	esterasy, peptidasy	lysozomy

- **Enzym katalasa** – katalyzuje oxidaci alkoholů a některých aminů. Jako substrát využívá peroxid vodíku.
- **Enzymy dehydrogenasy** - **alkoholdehydrogenasa** (ADH) je lokalizována v cytoplasmě hepatocytů. Tento enzym katalyzuje oxidaci alkoholů na aldehydy.
 - **aldehyddehydrogenasa** (ALDH) je lokalizována v cytoplasmě hepatocytů a v endoplazmatickém retikulu a mitochondriích jater a mozku. (Koolman, 2005).

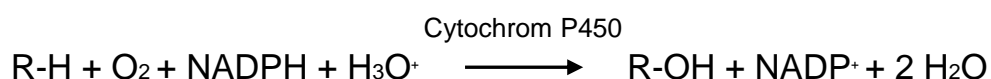
Nejvýznamnější místo zaujímají v problematice metabolismu xenobiotik cytochromy P450. Je to proto, že v játrech, kde biotransformace xenobiotik probíhá nejintenzivněji, jsou přítomny ve vysokých hladinách (v jaterních buňkách tvoří až pětinu hemoproteinů endoplazmatického retikula). Cytochromy P450 se vyskytují nejenom u savců, ale je jsou popsány i u ptáků, ryb, plazů, hmyzu, měkkýšů, plžů, členovců, dokonce je lze nalézt i v houbách, rostlinách a u bakterií (např. Nelson, 1998).

3.1.1 Cytochromy P450

Cytochromy P450 (CYP450) tvoří součást monooxygenasového systému, který katalyzuje celou řadu oxidačních, oxygenačních, popř. redukčních reakcí, přičemž využívá především molekulární kyslík. Obsahuje hem jako redox-aktivní koenzym. Jedná se o hemoprotein typu b, typ hemu

označený písmenem je odvozen od jeho struktury, resp. ligandu, navázaného na protoporfyrinovém jádře. Pod názvem cytochrom P450 se skrývá velká skupina enzymů, jejichž společnou vlastností je přítomnost hemu, jehož pátým ligandem je thiolátový anion, který pochází z cysteinu. Název P450 vznikl proto, že enzym byl objeven jako pigment absorbující v redukované formě v komplexu s oxidem uhelnatým (CO) při vlnové délce 450nm, což je pro hemoproteiny neobvyklé (běžné hemoproteiny absorbují při 420nm). Neaktivní, částečně denaturovaná forma cytochromu P450 absorbuje při 420nm (Klingenberg, 1958).

U savců jsou obsaženy ve všech typech tkání, kromě svalových buněk a erytrocytů. CYP450 můžeme zařadit mezi NADPH-O₂ dependentních monooxygenas. Donorem elektronů je NADPH (např. Knejzlík et al. 2000).



Z rovnice vyplývá, že se jedná o reakci, kdy jeden atom kyslíku pocházející z molekuly kyslíku vstupuje do molekuly substrátu (RH) za vzniku hydroxylovaného produktu (ROH). Druhý atom kyslíku se stane součástí vzniklé molekuly vody. CYP450 tedy katalyzují jak děj, při kterém vzniká oxygenovaný produkt (působí jako monooxygenasy), tak vznik molekuly vody (redukce). Proto se tyto systémy označují také jako MFO (mixed function oxidase), neboli oxidasy se smíšenou funkcí (např. Ioannides, 2002).

3.1.1.1 Názvosloví cytochromů P450

Během studií v sedmdesátých a osmdesátých letech bylo izolováno mnoho nových forem cytochromů P450, a tak z důvodu přehlednosti bylo nutné zavedení systematického názvosloví. Původní systémy však byly založeny na dílčích vlastnostech cytochromů P450. Až s rozvojem metod využívajících rekombinační DNA bylo umožněno vytvoření jednotné nomenklatury.

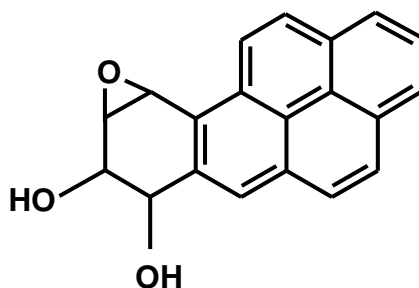
Všechny známé cytochromy P450 tvoří tzv. super rodinu nebo nadrodinu. Dále jsou jednotlivé formy cytochromu P450 rozděleny do rodin

podle podobnosti svých aminokyselinových sekvencí. Proteiny jedné rodiny by měly mít primární strukturu identickou z více než 40%, ale jsou i výjimky. Pokud je identita stejná z 55%, řadí se cytochromy do stejné podrodiny (Nelson et al, 1993). Příslušnost k super rodině se označuje zkratkou CYP, rodiny jsou označeny arabskými číslicemi 1-118, podrodiny se značí velkými písmeny A až Q, identita vlastního proteinu je dána jeho číslem. Číselné označení příslušné rodiny není náhodné, ale děje se podle předem daného schématu, vyšší živočichové (1-49), vyšší eukaryota (51-70), rostliny (71-100), bakterie (101174), nižší eukaryota (501-526) a rostliny (701-726) (Nelson et al., 1996).

3.1.1.2 Hlavní funkce cytochromů P450

Nejdříve byly cytochromy P450 považovány zcela za detoxikační enzymy. Jejich produkty jsou polárnější a mohou být tedy lépe vyloučené z organismu. Později byl objeven cytochrom, který přeměňuje PAH na karcinogeny. Cytochromů je v současné době známo kolem 2000, u člověka bylo nalezeno 60 genů pro různé formy (Anzenbacher, Anzenbacherová, 2001).

Cytochromy P450 detoxikují cizorodé látky v organismu, ale také aktivují netoxické látky na látky vysoce jedovaté. Příkladem může být benzo(a)pyren, který může být přeměněn na benzo(a)pyren-7,8-dihydrodiol-9,10-epoxid, který může vést k rozvoji rakoviny (je kancerogenní) (např. Gibson, Skett, 2001).



Obr. 1 Benzo(a)pyren-7,8-dihydrodiol-9,10-epoxid

Kromě metabolismu látek tělu cizích, mají cytochromy P450 také důležitou úlohu při metabolismu některých látek tělu vlastních. Například v ledvinách se nachází izoforma, která je zodpovědná za hydroxylaci endogenních steroidů a v tukové tkáni je izoforma, která se podílí ω-oxidací mastných kyselin (Ledvina et al., 2006).

3.1.1.3 Lidské cytochromy P450

Lidské cytochromy P450 můžeme na základě povahy jejich substrátů rozdělit do tří hlavních skupin. Do první skupiny se řadí zástupci z rodin 1-3, které mají obecně nižší afinitu k substrátu a vykazují významný genetický polymorfismus. Tyto cytochromy P450 se účastní biotransformace xenobiotik a jsou zodpovědné za 70-80% metabolických přeměn klinicky používaných léčiv (Ingelman-Sundberg, 2004). Do druhé skupiny patří 4. rodina, jejíž zástupci metabolizují jak deriváty mastných kyselin, tak i některá xenobiotika. Do třetí skupiny patří enzymy ze zbývajících rodin, které se vyznačují velkou afinitou k substrátu a evoluční stálostí. Jejich úlohou je zpracování endogenních látek.

Šest základních forem cytochromu P450 se podílí na biotransformaci přibližně 98 % xenobiotik, u kterých je znám biotransformační proces, jsou to CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 a CYP3A4. Nejdůležitější se jeví forma CYP3A4 (Guengerich, 1997). Na druhou stranu se tato forma nenachází například v srdci, na rozdíl od formy CYP2D6 (metabolizují též některé beta-blokátory), která je popisována v pravé síni stejně jako forma CYP2E1, která je lokalizována v srdečních síních i komorách a větších cévách (metabolizují též některé blokátory kalciových kanálů).

Tato skutečnost může být velmi důležitá při výběru a dávkování léčiv. Substráty pro formu CYP1A2 jsou planární (poly)aromatické/heterocyklické aminy a amidy. Substráty pro formu 17, CYP2C9 jsou slabé kyseliny, sloučeniny s možností tvorby vodíkových můstků; pro formu CYP2C19 jsou to neutrální molekuly nebo slabé lipofilní báze, podobně jako u CYP2C9 sloučeniny s možností tvorby vodíkových můstků. Pro formu CYP2D6 jsou to bazické sloučeniny, nejčastěji s molekulou dusíku ve své molekule. Pro formu CYP2E jsou to neutrální sloučeniny s malou molekulovou hmotností a pro formu

CYP3A4 jsou to sloučeniny s velkou molekulovou hmotností (Dostálek, 2006). Zastoupení nejdůležitějších forem cytochromu P450 je znázorněno v tabulce 2.

Tab. 2 Zastoupení nejdůležitějších forem cytochromu P450, jejich podíl na biotransformačních procesech, lokalizace v organismu a variabilita v aktivitě (převzato z Dostálek, 2006)

Formy	% CYP450	Variabilita	% podíl na metabolismu	Lokalizace v organismu
CYP1A1	< 1		2,5	játra, mozek, kůže, GIT, ledviny, placenta, lymfocyty, srdce
CYP1A2	~ 13	40x	8,2	?
CYP1B1	< 1		?	játra, mozek, slezina, kůže, ledviny, prostata, uterus, plod
CYP2A6	~ 4	30–100x	2,5	játra, plíce, nazální sliznice
CYP2B6	< 1	50x	3,4	játra, mozek, ledviny, GIT, plíce
CYP2C8/ 9	~ 18	25–100x	15,8	játra, GIT, plíce, hrtan, kůže
CYP2C18/ 19	~ 1	25–100x	8,3	játra, GIT, plíce, hrtan
CYP2D6	2,5	1000x	18,8	játra, mozek, GIT, plíce
CYP2E1	7	20x	4,1	játra, mozek, plíce, srdce, endotelie, kostní dřeň, placenta
CYP2F1	< 1		~ 1,3	játra, mozek, plíce, placenta
CYP3A4/5	28	20x	34,1	játra, ledviny, GIT, placenta, plod, endotel, lymfocyty
CYP4A11	?		?	ledviny
CYP4B1	?		?	plíce, placenta

Množství cytochromu P450 v jednotlivých tkáních není absolutní. Jejich obsah v lidských tkáních závisí na mnoha faktorech, například na genetickém polymorfismu, vlivu vnějšího prostředí, výživě, věku, pohlaví, kouření, konzumaci alkoholu, působení podávaných léčivých přípravků.

Některá léčiva vyvolávají zvýšenou enzymatickou aktivitu, tzv. indukci, jiná léčiva naopak metabolickou enzymatickou aktivitu tlumí a způsobují tzv. inhibici. Protože se nejedná o specifický děj, velmi často se tato změna metabolické aktivity projevuje i v biotransformačních přeměnách jiných látek, pak hovoříme o indukci zkřížené (Dostálek, 2006).

3.1.1.4 Nejvýznamnější zástupci

CYP3A4 – jedná se o nejdůležitější jaterní cytochrom P450, jeho zastoupení v játrech je největší a navíc metabolizuje největší množství léčiv. Kromě jater se nachází také ve zvýšené míře ve střevní stěně. Široká substrátová specifičnost naznačuje, že se během evoluce vyvinul proto, aby ochránil organismus před škodlivými xenobiotiky, která se do organismu dostávají s potravou. Vlastnosti cytochromu jsou velice citlivé na změny vyvolané některými látkami, včetně těch, které jsou obsaženy v potravě.

Spektrum léčiv, které metabolizují, je široké, příkladem může být kortizol, erytromycin, cyklosporin A (látka používána k potlačení imunity při transplantacích), sildenafil (Viagra), ethinylestradiol (hormonální kontraceptiva) a další.

V současné době jsou známy tři formy CYP3A: CYP3A4, CYP3A5 a CYP3A7. CYP3A7 převažuje u plodu do narození, po porodu přejímá hlavní funkci CYP3A4. CYP3A5 se nachází převážně v játrech, substrátová specifita je podobná s CYP3A4, ale aktivita CYP3A5 je nižší (Gibson, Skett, 2001).

CYP1A – zástupci podrodiny, formy CYP1A1 a CYP1A2, se velmi významně podílejí na biotransformačních procesech xenobiotik u člověka. Katalyzují podobné reakce a mají rovněž až ze 70 % shodnou aminokyselinovou sekvenci. Aktivita formy CYP1A2 je lehce ovlivnitelná jak fyziologickými a patologickými pochody v organismu, tak velkým množstvím exogenních faktorů.

Na katalytickou aktivitu formy CYP1A2 má vliv například věk, pohlaví, těhotenství, a dále řada inhibitorů a induktorů. Indukována je heterocyklickými aminy a polycyklickými aromatickými uhlovodíky (v mase upraveném za vyšších teplot na dřevěném uhlí), kouřením a některými druhy zeleniny, například květákem a brokolicí.

Bylo prokázáno, že zvýšená aktivita této formy ovlivňuje výskyt nádorů (počet i růst) plic, prsu a kůže. Podobně jako v případě CYP1A1 i přítomnost CYP1A2 ve tkáních koreluje s rizikem vzniku rakoviny. S výskytem formy CYP1A2 souvisí vznik kolorektálních nádorů a nádorů močového měchýře (Dostálek, 2006).

CYP2C – jaterní formy, dají se rozdělit na formy CYP2C8, CYP2C9/10 a CYP2C19. Zatím nebyla zjištěna toxická látka, která by byla touto formou cytochromu aktivována. V kavkazské a asijské populaci se vyskytují poruchy genů – tzv. pomalí metabolizátoři, je nutné jim podávat vyšší dávky léků (Dostálek, 2006).

CYP2D6 – zpracovává velké množství substrátů, není indukovatelný. Je to jediná forma z podrodiny CYP2D, která se vyskytuje u člověka. Má velký význam pro metabolismus léčiv, protože přeměňuje mnohá antidepresiva a léky kardiovaskulárního systému (Dostálek, 2006).

CYP2E1 – lze ho indukovat ethanolem, acetonem, hladověním, ale indukovat ho může i diabetes. Mezi substráty patří ethanol, organická rozpouštědla a některé léky. Aktivuje nitrosaminy na reaktivní kancerogeny. Podílí se také na metabolismu paracetamolu (Anzenbacher, Anzenbacherová, 2001).

3.2 Enzymy 2. fáze biotransformace

Druhé fáze přeměny cizorodých látek se účastní například UDP-glukuronyltransferasy, sulfotransferasy, glutation-S-transferasy, N-acetyltransferasy, methyltransferasy nebo enzymy konjugace s aminokyselinami. Následující tabulka 3 ukazuje rozmístění těchto enzymů v buněčných strukturách.

Tab. 3 Příklady buněčné lokalizace enzymů 2. fáze biotransformace. Převzato z Ledvina et al, 2006

Reakce	Enzym	Lokalizace
Konjugace	UDP-glukuronyltransferasy glutacion-S-transferasy sulfonyltransferasy N-acetyltransferasy methyltransferasy	mikrosomy cytosol, mikrosomy cytosol mitochondrie cytosol

- **UDP-glukuronyltransferasy** – nacházejí se v endoplazmatickém retikulu v blízkosti CYP450, katalyzují konjugaci kyseliny glukuronové s xenobiotikem, reakce se nazývá glukuronidace
- **Sulfotransferasy** – katalyzují sulfatace, odtrhnou z aktivovaného sulfátu kyseliny sírové, tzv. PAPS, sulfátovou skupinu a přenesou ji na xenobiotikum
- **Glutathion-S-transferasy** – katalyzují konjugaci s glutationem za vzniku merkapturových kyselin
- **N-acetyltransferasy** – cytosolové enzymy, nachází se v různých tkáních, zprostředkovávají konjugaci acetylací (reakcí s acetyl-CoA)
- **Methyltransferasy** – katalyzují přenos methylové skupiny z S-adenosylmethioninu na vhodný substrát, dochází spíše k inaktivaci xenobiotika než změně rozpustnosti (Balíková, 2005).

4 Biotransformace xenobiotik placentou

Vyvíjející se organismus je velice citlivý k přítomnosti chemických látek. Podle současných informací není pro drtivou většinu léčiv placenta významnou bariérou a do fetálního oběhu přestupují prakticky všechna. Výjimkou jsou látky s velkou molekulou (nad 1000 D), jako např. insulin nebo heparin. Metodickým nedostatkem je, že průchod placentou byl u většiny léčiv zkoumán po jednorázové aplikaci, což neodpovídá reálné situaci (Audus, 1999). Oproti dřívějším předpokladům se nezdá, že by fyzikálně-chemické vlastnosti léků byly pro průchod placentou podstatné. Placentou například velmi dobře proniká jak lipofilní propranolol tak hydrofilní atenolol. Proto je velice důležité upravování lékové terapie těhotné ženy v souladu s jejím zdravotním stavem, aby nebyl ohrožen plod ani žena. Těhotné ženy jsou však vystaveny stálému a nekontrolovatelnému působení xenobiotik ze zevního prostředí. Jak už bylo zmíněno, placenta nepředstavuje bariéru pro většinu xenobiotik a jejich metabolitů, nejčastější přestup xenobiotik placentou se uskutečňuje prostou difuzí. Zda látka projde placentou, závisí na řadě faktorů, například na lipofilně látky, stupni ionizace, molekulární hmotnosti (látky s molekulární hmotností

větší než 1000D neprocházejí), vazbě na proteiny, aktivitě metabolismu plodu a matky, závisí také na prokrvenosti (uteroplacentární průtok krve se snižuje při každé kontrakci, při normálním porodu však brzy následuje fáze zvýšeného prokrvení placenty, kdy léčivo rychle prostupuje podle koncentračního gradientu. Negativní vliv stresových hormonů a vazoaktivních látek, uvolňovaných do krve u stresovaných rodiček, na vlastní transport a vstup jiných v krvi přítomných látek placentou byl jednoznačně prokázán a potvrzen v mnoha klinických studiích (Hartley et al., 1993)), věku (difuze léků je nejpomalejší ve II. Trimestru, nejrychleji procházejí látky v I. a III. trimestru, protože v těchto obdobích je trofoblast ztenčen) a metabolismu xenobiotik v placentě. Prostou difuzí prostupují placentou látky lipofilní, tak lze například celková i lokální anestetika detekovat v plodu již několik sekund po podání matce. U barbiturátů je tato doba několik minut, u sulfonamidů jsou to hodiny, u penicilínu a tetracyklinu je interval delší, protože jsou méně polární (Bridges, Chasseaud, 1977). Alkohol prochází placentou také prostou difuzí a má přímý toxický vliv na plod, stejně tak sloučeniny, které jsou obsaženy v tabáku a marihuaně. Opiáty způsobují zpomalení růstu plodu, kokain má vazokonstrikční účinek a snižuje zásobování kyslíkem.

U plodů mnoha druhů laboratorních zvířat nebyla detekována aktivita biotransformačních enzymů, takže se lipofilní xenobiotika nezměnila a mohla být transportována zpět placentou. U lidského plodu a v placentě byla aktivita některých biotransformačních enzymů zjištěna, tím vzniká možnost, že se xenobiotika vlivem těchto enzymů chemicky změní, stanou se polárnějšími a hůře, nebo vůbec neprocházejí placentou a hromadí se v plodu (Kvasničková, 1995, 2005).

4.1 Enzymy placenty

Aktivita biotransformačních enzymů v placentě je menší než stejných enzymů v játrech novorozenců i dospělých. Biotransformační enzymy placenty mohou ovlivňovat transport xenobiotik i metabolitů membránou.

V placentě byla zjištěna velmi nízká aktivita benzyren hydroxylasy, to je enzym, který hydroxyluje řadu polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH),

které se vyskytují v zevním prostředí jako produkty hoření, cigaret nebo výfukových plynů. Pokud se jedná o matku kuřačku, bylo zjištěno, že aktivita tohoto enzymu v placentě je mnohonásobně zvýšena, indukována právě PAH. Je známo, že metabolity PAH jsou často kancerogenní a mutagenní, proto kouření v těhotenství představuje značné riziko pro vyvíjející se organismus.

Z dalších enzymů byla v placentě zjištěna O-deethylační aktivita mikrosomálních monooxygenas a z konjugačních enzymů byla nalezena aktivita UDP-glukuronidasy, acetylace p-aminobenzoové kyseliny a glycinová konjugace (Kvasničková, 1995, 2005).

5 Biotransformace xenobiotik u plodu

Lidský plod se liší svou biotransformací xenobiotik od plodů běžných laboratorních zvířat. Na konci 60. Let byla zjištěna schopnost lidského plodu oxidovat cizí látky (chlorpromazin, p-nitrobenzoovou kyselinu a hexobarbital (Pelkonen, 1969). Arvela et al (1970) dokázal přítomnost benzo[a]pyran hydroxylasy v játrech lidského plodu. Tyto objevy byly publikovány v r. 1971. Yaffe et al (1970) demonstroval, že preparát získaný z jater lidského plodu obsahuje cytochrom P-450 a enzymový systém, který je schopen metabolizovat některé endogenní látky. Juchau (1971) dokázal redukci nitroskupiny u p-nitrobenzoové kyseliny v játrech a nadledvinkách plodu.

U plodu, který je v prenatálním období vystaven působení teratogenů, se mohou postnatálně projevit různé morfologické nebo funkční abnormality. Tyto změny bývají obvykle trvalé. Teratogeny mohou být různé chemické látky, léčiva, infekční agens nebo i fyzikální faktory (Yaffe, Briggs, 2004).

Obecnými principy teratologie se zabývali Wilson a Fraser (1977-1978), zjistili, že účinek léčiva jako potencionálního teratogenu je závislý na více faktorech:

- období těhotenství v době expozice matky léčivu – pro vznik většiny strukturální vad je nutné, aby léčivo na plod působilo v období organogeneze. Ale například požívání alkoholu kdykoliv během těhotenství může mít za následek vznik defektů mozku u plodu.
- délce expozice

- genotypu matky a plodu – většina vrozených vad má genetický podklad
- dávce účinné látky, která působí na plod – dávka léčiva způsobující dysfunkci plodu je nižší (nebo stejná) než dávka vyvolávající intrauterinní růstovou retardaci, která je nižší než dávka způsobující malformace. Nejvyšší je letální dávka.

5.1 Biotransformační enzymy plodu

Ve velmi časných stádiích vývoje nebyla aktivita biotransformačních enzymů zjištěna. V období diferenciaci tkáně jater, plic, ledvin a střev se objevují metabolické přeměny některých látek.

Již v 6. až 7. týdnu po početí je detekovatelný monooxygenasový systém plodu (Pávek, Fendrich, 1998). Lidský plod obsahuje stejnou enzymovou výbavu jako dospělý, ovšem jeho význam je neporovnatelný s biotransformací v organismu matky. Nižší aktivita (v porovnání s játry) byla zjištěna v nadledvinkách plodu. Aktivita mikrosomálních monooxygenas plodu se indukuje řadou xenobiotik, jako je alkohol, cigaretový kouř a řada aromatických uhlovodíků. Indukce těchto enzymů je řádově nižší než indukce v placentě. Z výsledků studií, které pracovaly s izolovanými jaterními buňkami plodů, vyplývá vysoká aktivita sulfatas i glukuronidas, převážně v metabolismu steroidních hormonů, bilirubinu, antibiotik, ale i řadě drog.

Z konjugačních enzymů byly zjištěny konjugace s glycinem, glutationem a se sulfátem. Sulfátová konjugace v době porodu nabývá vyšších aktivit než u dospělého člověka (Cummings, Whitelaw, 1981; Rane, Thomson 1980) Velmi nízká byla zjištěna aktivita konjugace s UDP-glukuronovou kyselinou (Kvasničková, 1995).

Dominantní formou P-450 v játrech plodu je CYP3A7, který má významný detoxikační efekt. Jeho exprese se snižuje ihned po narození a v pozdějším období již není detekován (Kvasničková, 2005).

6 Metabolismus léčiv v těhotenství

Podle průzkumů 40 až 90% všech těhotných žen užívá nějaké léky. Léky ovšem mohou představovat určité riziko pro plod. Nejzranitelnější je mezi 20. až 55. dnem těhotenství v období organogeneze, kdy se morfologicky vyvíjí všechny důležité tělesné orgány. V tomto období si však většinou budoucí matka není vědoma svého těhotenství a nemůže tedy aktivně zabránit případně škodlivému vlivu farmakoterapie (www.zdravcentra.cz/cps/rde/xbcr/zc/05_2002.pdf, 2002).

Prvním impulsem k bezpečné farmakoterapii v těhotenství byla thalidomidová aféra v 50. letech. Thalidomid (Contergan) byl v roce 1956 uveden jako bezpečný lék určený k léčbě ranní nevolnosti těhotných žen. Za dobu používání thalidomidu bylo v 28 zemích spotřebováno více než 100 000 kg tohoto léčiva a fokomelií bylo postiženo více než 10 000 dětí. Thalidomidová tragédie ozřejmila dva důležité poznatky teratogenity léčiv. Prvním je vysoká mezidruhová variabilita v teratogenitě léků a z toho vyplývající nedokonalá prediktivní hodnota experimentálních modelů. Druhým je existence tzv. teratogenního okna, což je okamžik maximální zranitelnosti vyvíjejícího se plodu, ve které stačí jednorázová dávka teratogenu k vyvolání příslušné malformace (Newman, 1985). V následující tabulce 4 jsou vypsána prokázaná škodlivá léčiva v období fetálního vývoje.

Tab. 4 Prokázaná škodlivá léčiva v období fetálního vývoje. Převzato z www.zdravcentra.cz/cps/rde/xbcr/zc/05_2002.pdf

- inhibitory ACE -renální selhání, oligohydramnion
- beta-blokátory (atenolol) - zpomalení růstu
- thyreostatika (karbimazol, thiamazol, propylthiouracil) - hypothyreóza
- benzodiazepiny, barbituráty, opioidy - vznik závislosti, útlum CNS
- nesteroidní antirevmatika - konstrikce ductus arteriosus
- anticholinergika - novorozenecký mekoniový ileus
- tetracykliny - porucha vývoje skloviny, kostní hmoty
- warfarin - intrakraniální krvácení
- kyselina acetylsalicylová (ve vyšších dávkách) - neonatální krvácení
- perorální antidiabetika - novorozenecká hypoglykémie
- cytostatika

Nejpoužívanějšími skupinami léků jsou antibiotika, chemoterapeutika, analgetika, antipyretika, anxiolytika, hypnotika a antiemetika. Nejčastějším důvodem pro užití léků je léčba astmatu, diabetu a infekčních onemocnění. Aby léky mohly vyvolávat centrální účinky, musí samozřejmě překročit hematoencefalickou bariéru a v CNS se pak navázat a působit na cílové struktury, např. na příslušné receptory. Jestliže však má lék schopnost procházet hematoencefalickou bariérou, má i schopnost procházet placentou do krevního oběhu plodu a odtud hematoencefalickou bariérou do jeho mozku. Tak může být v mozku plodu nebo novorozence dosaženo vysokých koncentrací. Účinky vysokých koncentrací léčiv mohou u novorozence snížit Apgar-skóre (bodový systém, vyvinutý americkou lékařkou Virginií Apgarovou, umožňuje objektivní hodnocení životní síly novorozence. Pro každé z pěti kritérií je ohodnocení nula, jeden nebo dva body. Optimální ohodnocení u zcela zdravého dítěte je deset bodů. Když celkový součet nedosáhne osmi bodů, musí být dítě neustále sledováno), tlumit respiraci, způsobit hypoxii a některé cirkulační obtíže (www.zdravcentra.cz/cps/rde/xbcr/zc/05_2002.pdf, 2002). Nežádoucí účinky a novorozenecký farmakogenní útlum spojený s poruchami časné poporodní adaptace (snížení skóre dle Apgarové hypotonie, ventilační a cirkulační poruchy, centrální patologie ve smyslu útlumu CNS, či hyperexcitace s výskytem křečí) byl v minulosti již jednoznačně prokázán po aplikaci opioidů matce v průběhu porodu (Davidsons, 1995).

Příjem léků plodem závisí především na následujících faktorech:

- rozpustnost látky ve fetální krvi
- množství a distribuce fetální krve v intervilózním prostoru
- koncentrace látky v umbilikálních arteriích
- existence gradientu mezi mateřskou a fetální krví

Distribuce léčiva ve fetální krvi se děje fetálním krevním oběhem. Než látka, která přestoupí placentou, dosáhne arteriální stranu oběhu, je značně naředěna. Koncentrace v umbilikální arterii závisí na těchto podmínkách:

- množství látky v krevním oběhu plodu
- příjmu látky fetálními tkáněmi
- distribučním objemu

- fetální hodnotě pH
- vazbě na proteiny ve fetální krvi
- fetálním metabolismu farmaka (www.porodnici.cz/perinatalni-farmakologie, 2006-8).

Distribuce léčiva ve fetálních tkáních a tělesných tekutinách se v průběhu těhotenství a v časném postnatálním období významně mění a poměr jednotlivých tělesných kompartmentů se od starších dětí a dospělých významně liší.

Celková tělesná voda (CTV) tvoří v časném fetálním období až 92% tělesné hmotnosti plodu a její obsah s rostoucím stupněm těhotenství postupně klesá až na přibližně 75% v termínu porodu.

Extracelulární tekutina (ECT) v časném období těhotenství tvoří přibližně 65 % hmotnosti plodu a postupně klesá na přibližně 35–45% v termínu porodu. V postnatálním období obsah extracelulární tekutiny dále klesá a na konci prvního roku života dosahuje hodnot 26-30% tělesné hmotnosti.

Obsah intracelulární tekutiny (ICT) u plodu naopak v průběhu těhotenství stoupá z přibližně 25% na přibližně 33% ve 38–40. týdnu těhotenství a ve 4. měsíci života dosahuje přibližně 37% tělesné hmotnosti. V dalším období je obsah intracelulární tekutiny relativně stabilní a po celý život se pohybuje okolo 40% tělesné hmotnosti.

Změny poměru CTV, ECT a ICT u plodu v průběhu těhotenství mají významný dopad na velikost jednotlivých distribučních prostorů pro hydrofilní látky. V případě materno-fetálního transportu se proto musí počítat s větším relativním distribučním prostorem (ml/kg) než je u dospělých. Plazmatické koncentrace těchto látek mohou být proti dospělým pacientům v časném postnatálním období při stejném dávkování na kg tělesné hmotnosti významně sníženy.

Obsah tukové tkáně plodu narůstá v průběhu těhotenství z přibližně 1% v časných fázích těhotenství až na 15% v termínu porodu. V postnatálním období se podíl tukové tkáně na celkové tělesné hmotnosti postupně dále zvyšuje, ale hodnot srovnatelných s dospělými dosahuje až na konci puberty. Pro lipofilní látky je tedy u plodu a novorozence jejich distribuční objem ve srovnání s

dospělými pacienty výrazně snížen (www.porodnici.cz/perinatalni-farmakologie, 2006-8).

Vazba na plazmatické bílkoviny závisí na jejich absolutním množství, na afinitě látky k vazebným místům plazmatických bílkovin, na počtu volných vazebných míst a na fyzikálně-chemických vlastnostech dané látky. Většina léků se váže na albumin a kyselý α 1-glykoprotein. U plodu je množství plazmatických bílkovin přímo úměrné délce těhotenství. Vazba na plazmatické bílkoviny může být u plodu ovlivněna rovněž přítomností látek, které vzájemně soupeří o stejná vazebná místa. Klinicky se tato kompetice uplatňuje u látek, u kterých je podíl vázané frakce vyšší než 80–90 % (barbituráty, trankvilizéry, indometacin a jiná nesteroidní antirevmatika). V této kompetici se nemusí nutně uplatňovat pouze exogenní látky, ale i endogenní bilirubin a volné mastné kyseliny. Hladiny obou těchto látek mohou být u plodu výrazně vyšší než u dospělých. Vazbu na plazmatické bílkoviny ovlivňují rovněž některé patologické stavy, jako je hypotermie, acidóza, hypoglykémie, hypoxémie, sepse a hyperkapnie (Olkola, Hamunen, Maunuksela, 1995, Besunder, Reed, Blumer, 1988).

6.1 Vliv některých léků na plod

Opioidy

Opioidy mají nízkou molekulovou hmotnost, a proto snadno prostupují placentou. Mohou poškodit plod nepřímo tím, že způsobí dechovou depresi u matky spojenou s fetální hypoxií a acidózou. Účinky opioidů lze eliminovat aplikací jejich antagonisty – naloxonu, ale jeho podání by mělo být vyhrazeno pouze na případy řešení nežádoucích účinků opioidů. Ale jeho biologický poločas je u novorozence kratší, než je biologický poločas většiny opioidů, proto je nutné k eliminaci účinků opioidů aplikovat naloxon opakovaně.

Morfin - při intramuskulární aplikaci morfinu rodiče vrcholí jeho hladina v plazmě plodu během 5–10 minut. Tato hladina je nižší než u matky. Pro epidurální aplikaci je morfin v porodnictví nevhodný. Subarachnoidální aplikace 1–2 mg morfinu matce působí depresi novorozence.

Pethidin je syntetický opioid, který je široce používán k porodnické analgosedaci. Již za 2 minuty po parenterálním podání matce dosahuje jeho hladina u plodu svého vrcholu a látku lze prokázat u novorozence až do šestého dne po porodu. Přenos se zvyšuje při acidóze plodu. Nepříznivý vliv pethidinu i jeho metabolitů na plod a novorozence zahrnuje: změny srdeční frekvence silným přímým kardiodepresivním účinkem, snížené Apgar-skóre pro zpožděný nástup spontánní ventilace novorozence (deprese dechového centra), snížení pH spojené se vzestupem PCO₂ (deprese dechového centra matky), změny neurologických testů 3 dny po porodu, změny EEG až do 4 dnů života (centrální útlum).

Sufentanil je syntetický opioid s nejvyšší účinností z klinicky používaných opioidů. Je vysoce lipofilní a selektivní pro μ -receptory; z tohoto důvodu je pro epidurální podání velmi často používán. Má vysokou vazbu na proteiny matky a nižší na proteiny plodu, což je pravděpodobně způsobeno sníženým množstvím vazebného α 1-glykoproteinu u plodu. Dávky do 30 μ g jsou detekovatelné ve fetální krvi pouze stopově, kolem 0,05 μ g/l, a jsou bez vlivu na novorozence. Ve vyšších dávkách ovlivňuje sufentanil neurologické testy novorozence. U novorozenců je zvýšena volná frakce sufentanilu a rovněž je zvýšen jeho distribuční objem. Biotransformace probíhá jeho demethylací a dealkylací v játrech (www.porodnici.cz/perinatalni-farmakologie, 2006-8).

Anestetika

Thiopental je standardním anestetikem pro celkovou anestezii i při porodnických operacích. Je vysoce lipofilní, přibližně ze 75 % je vázán na plazmatický albumin a méně než z 50 % ionizován při fyziologickém pH. Po intravenózním podání matce je prokazatelný v pupečnickové žíle za 30 vteřin a jeho hladina ve fetální krvi dosahuje vrcholu o 2–3 minuty později. Při porodu je koncentrace v umbilikální venózní krvi obvykle nižší než v mateřské venózní krvi, ale ve fetálních tkáních je prokázán vzestup hladiny ještě dalších 40 minut, takže thiopental může vyvolat novorozeneckou depresi, zejména při prodloužení doby porodu. Dávky 4–7 mg/kg nemění Apgar-skóre ani umbilikální pH a ani hladiny krevních plynů. Přesto jsou pozorovány změny, jako je snížený svalový tonus, snížená excitabilita a převaha spánku během 1. dne života.

Ketamin je méně lipofilní než thiopental, je slabou bází a je méně než z 50 % vázán na proteiny. Přestupuje placentu rychle. Použití ketaminu v porodnictví je limitováno, protože dávka do 1 mg/kg, která je bezpečná pro novorozence, je příliš nízká k dosažení dostatečně hluboké anestezie. Vyšší dávky vedou ke snížení Apgar-skóre a ke ztuhlosti příčně pruhovaného svalstva hrudníku novorozence.

Inhalační anestetika

Všechna inhalační anestetika rychle procházejí placentou a způsobují v anestetických koncentracích depresi plodu. Míra této deprese je závislá na hloubce a trvání anestezie.

Neuromuskulární blokátory

Neuromuskulární blokátory jsou plně ionizovány a nejsou lipofilní. Proto přestupují placentu velmi pomalu a omezeně. Ve všech případech byla nejvyšší koncentrace u plodu 10 % ve srovnání s koncentrací v mateřské krvi. Klinický efekt na plod můžeme pozorovat u novorozenců, kteří se narodili matkám s abnormální aktivitou pseudocholinesterázy nebo při nízkých hladinách cholinesterázy po plazmaferéze. Fyziologické snížení cholinesterázy v termínu porodu je klinicky nevýznamné (www.porodnici.cz/perinatalni-farmakologie, 2006-8).

Benzodiazepiny

Benzodiazepiny mohou mít výrazně negativní účinek na plod a novorozence. Lehce přestupují placentu a jejich koncentrace ve fetální krvi a tkáních dosahuje vysokých hladin. Eliminace benzodiazepinů je u novorozence výrazně prodloužena a jejich nežádoucí účinky mohou přetrvávat i řadu dnů. Při dlouhodobém podávání benzodiazepinů matce v průběhu těhotenství se u novorozence může rozvinout po porodu i klasický novorozenecký abstinenční syndrom, vyžadující déletrvající léčbu. Po aplikaci benzodiazepinů byly v minulosti již opakovaně popsány případy paradoxní reakce ve smyslu dráždění CNS (třesy, snížený práh dráždivosti, neklid, hypertonie, případně i konvulzivní projevy). Nežádoucí účinky benzodiazepinů je v kritických případech možno

ovlivnit aplikací jejich antagonisty – flumazenilu (www.porodnici.cz/perinatalni-farmakologie, 2006-8).

Diazepam: během 5 minut je hladina diazepamu v krvi plodu stejná jako v krvi matky. Plod je schopen metabolizovat diazepam jen v malém množství, a proto může po vysokých dávkách přetrvávat farmakologicky aktivní hladina diazepamu a jeho metabolitů v krvi plodu nejméně týden. V malých dávkách podaných během porodu může dojít k výkyvům tepové frekvence plodu a ke snížení rektální teploty novorozence. Jestliže celková dávka překročí 30 mg, následují nežádoucí účinky jako snížené Apgar-skóre, snížený tonus, ospalost, porušení termoregulace s hypotermií, obtíže se sáním, hypoaktivita, apnoické ataky, vzestup hladiny bilirubinu. Dlouhodobý přívod diazepamu v těhotenství nebo vysoké dávky před porodem vedou ke stavu popsanému jako “floppy infant” syndrom, který je možné zjednodušeně popsat jako extrémní hypotonii dítěte. Příznaky někdy přetrvávají až jeden měsíc po porodu, kdy je nutná intenzivní péče o novorozence a v některých případech dokonce ventilační podpora (umělá plicní ventilace). Použití diazepamu v neonatologii je velmi omezené, právě vzhledem k jeho velmi dlouhému biologickému poločasu a špatně odhadnutelné klinické odpovědi na jeho podání. Mimo výše popsané nežádoucí účinky se u novorozence může uplatnit jeho kardiodepresivní účinek a mírný relaxační účinek na hladké svalstvo cévní stěny (hypotenzivní účinek). Na rozdíl od starších dětí není v neonatologii diazepam lékem první volby při křečových stavech (Besunder, Reed, Blumer, 1988; Olkkola, Hamunen, Maunuksela, 1995).

Lokální anestetika

Lokální anestetika jsou slabé báze, středně až vysoce lipofilní, s rozdílnou vazbou na α 1-glykoprotein. Jejich přenos je ovlivněn rozdílnou vazbou na proteiny v mateřské a fetální cirkulaci a zvyšuje se při fetální acidóze. Látky s vysokou vazbou na proteiny prostupují placentou v menším množství než látky s nízkou vazbou. Tato skutečnost je sporná v případech, kde dochází k disociaci lokálních anestetik z vazby na proteiny. Klinicky velmi důležitá je nízká vazba na proteiny ve fetální krvi, která je pravděpodobně způsobena omezeným množstvím vazebného α 1-glykoproteinu v plazmě plodu. To je důvodem relativně vysokého podílu lokálního anestetika ve volné – aktivní

formě ve fetální krvi. Ionizace, která se zvyšuje při acidóze plodu, znemožňuje zpětnou pasáž placentou do mateřské krve, a tím zvyšuje koncentraci látky ve fetální krvi. Estery se kvantitativně liší od amidů ve schopnosti průchodu placentou. V krvi matky rychle hydrolyzují a dostávají se k plodu pouze v nepodstatném množství (www.porodnici.cz/perinatální-farmakologie, 2006-8).

7 Biotransformace xenobiotik u novorozenců

Novorozenec má sníženou kapacitu metabolizovat a detoxikovat některé látky pro ještě ne dostatečně rozvinutý mechanismus biotransformace v játrech; je to především mikrosomální systém umožňující oxidaci, redukci a hydrolyzu, a dále konjugační reakce v hladkém endoplazmatickém retikulu. Pro novorozence je velmi nebezpečná toxická odpověď na aplikaci chloramfenikolu nebo derivátů benzoylalkoholů. Snížená aktivita superoxidodismutázy a glutathionperoxidázy spolu s nedostatkem vitamínu E zvyšuje náchylnost k poškození reaktivními formami kyslíku a dusíku (Masopust, 2003)

Postnatální aktivita enzymatického systému reakcí 1. fáze stoupá velmi rychle, ale tento nárůst bývá negativně ovlivněn patologickými stav (hypoxie, acidóza, sepse). Systém reakcí 2. fáze vyžívá později (10-17. týden) a hodnot srovnatelných s hodnotami dospělých je dosaženo až po 2. roce života.

Kapacita běžných konjugačních enzymů (př. UDP-glukuronyltransferasy) je u novorozence snížena a proto se významnější měrou mohou na biotransformaci v tomto období podílet alternativní konjugační reakce (s fosfátem, nebo glycinem).

Renální exkrece je u novorozence hlavní cestou eliminace naprosté většiny látek. Hlavním faktorem ovlivňujícím exkreční funkce ledvin je průtok krve ledvinami. Perfúze ledvin se velmi dramaticky mění (narůstá) v souvislosti s celkovou přestavbou krevního oběhu během prvních hodin po porodu. Rychlost glomerulární filtrace narůstá dramaticky během druhého týdne postnatálního života, ale hodnot dospělých dosahuje až ve druhé polovině prvního roku dítěte. Tubulární funkce vyžívají rovněž až postnatálně. Tubulární sekrece vyžívá během prvních 7 měsíců postnatálního života, tubulární reabsorbce až v průběhu prvních dvou let.

Biliární exkrece je u novorozenců významně omezena a je ovlivňována funkčním stavem GIT. U nedonošených novorozenců je nutno počítat s nedokonalou funkcí vegetativní inervace, to vede k nepravdělné peristaltice střeva i žlučníku, teprve postupně vyzrávají funkce kartáčového lemu (Švihovec, 2008)

7.1 Biotransformační enzymy novorozence

V prvních hodinách po narození byly detekovány aktivity CYP2E1, CYP2D2, CYP3A4 a CYP2C, které rychle vzrostly v prvních dnech života. Během 1–3 měsíců dosáhly hodnot aktivity srovnatelné s hodnotami dospělých (s ohledem na pohlaví, váhu a zdravotní stav). (Kvasničková, 2005).

8 Závěr a shrnutí

Prostředí, ve kterém žijeme, obsahuje velké množství látek organismu cizích – xenobiotik, které jsou různého chemického složení a jejich množství v posledním desetiletí vzrůstá. Jsou to vedlejší produkty rozvinutého chemického průmyslu, součástí potravin (konzervancia, barviva), insekticidy, kosmetické přípravky, zplodiny aut a cigaret, potravinové doplňky, ale i léčiva potřebná i zneužívaná. Vyvíjející organismus je velmi citlivý k exogenním vlivům; kromě infekcí a záření i k působení xenobiotik včetně léků. Léková terapie matky je přísně kontrolována a je používána jen v nezbytných a závažných případech, což je jistě výsledkem poučení z thalidomidové katastrofy v minulém století.

V jedné z francouzských studií bylo zjištěno, že ze 100 těhotných žen 99 užilo během celého těhotenství více než jeden lék na předpis (Yaffe et al. 2004). Zanedbatelná není ani skutečnost, že těhotné ženy jsou vystaveny nekontrolovatelnému vlivu látek ze zevního prostředí, možných teratogenů. V současnosti se předpokládá, že teratogeny vnějšího prostředí přispívají ke vzniku anatomických malformací (až 5%) a mají vliv na fyziologické funkce plodu (Yaffe et al. 2004).

Cílem této práce bylo stručně popsat aktivity biotransformačních enzymů placenty, plodu i novorozenců, které zpravidla přispějí ke změně transportu polárnějších metabolitů xenobiotik lipofilními membránami a event. i k prodloužení účinku metabolitů, které mohou mít nežádoucí efekt na vyvíjející se tkáň (např. androgeny, některá antibiotika, ACE inhibitory, induktory typu PAH...).

Placenta není bariérou pro většinu xenobiotik, které jsou transportovány difuzí. Na chemické přeměně těchto substrátů se podílí enzymy placenty omezeně. Většího významu dosahují enzymy, které metabolizují některé polycyklické aromatické uhlovodíky (PAH) vyskytující se převážně v kouři matek-kuřaček a jsou indukovatelné. Struktura placenty se během těhotenství mění, v pozdějším období se zvyšuje aktivita konjugačních enzymů.

Dominantní úlohu v přeměně xenobiotik plodu hraje CYP3A7, jehož úlohou je detoxikace xenobiotik a ochrana před teratogeny. Jeho exprese vymizí po narození. Od 4 – 10 týdne vývoje plodu se zvyšuje aktivita některých

cytochromů P450 (CYP1A1 a postupně isoenzymy 3A) a enzymů konjugace. Některé P450 jsou indukovatelné polycyklickými aromatickými uhlovodíky – jejich kancerogenní metabolity jsou nebezpečím pro vyvíjející se plod (např. Shehata a Nelson-Piercy, 2000).

U novorozenců je pozornost zaměřena zvláště na enzymy, které metabolizují léky nezbytné v intensivní péči jako např. midazolam, paracetamol, morfin, pethidin a další. V prvních hodinách po narození byly detekovány aktivity CYP2E1, 2D2, 3A4, 2C, glukuronidas a sulfatas. Údaje o aktivitách enzymů novorozenců se velmi různí v závislosti na fyziologickém nebo patologickém stavu dítěte, na porodní váze a věku.

V porovnání s laboratorními zvířaty byly enzymy lidské placenty, plodu i novorozenců známy mnohem později. Přesto již ve 40. letech minulého století byly pozorovány závažné patologické projevy u dětí po podání některých léčiv rozpuštěných v diethylenglykolu. Ale teprve v 60. letech začala být aktivita biotransformačních enzymů a dopad jejich metabolické aktivity vědecky zkoumány, výsledky jsou v medicíně postupně využívány a přispívají ke zdravému vývoji plodu a novorozence (např. Cazeneuve et al., 2001). Zásadní roli hraje životní styl gravidní ženy, její fyziologický nebo patologický stav, nekontrolované užívání léků, alkoholu, drog a dalších xenobiotik, jak je dokázáno v mnoha studiích – některé jsou zmíněny i v tomto stručném přehledu.

9 Literatura

- Anzenbacher, P., Anzenbacherová, E. :Cytochromes P450 and metabolism of xenobiotics, *Cell Mol. Life Sci.* (2001), 58, 737-747
- Arvela, P., Vorne, M., Järvinen, P., Kärki, N., in *Proc. Regional Congress Int. Union Physiol. Sci.*(1970), p. 48, Brasov (Romania). Převzato z Bridges, Chasseaud, 1977
- Audus KL. *Controlling drug delivery across the placenta.* *Eur J Pharma Sci* 1999; 8: 161-165.). Převzato z www.zdravcentra.cz/cps/rde/xchg/zc/xsl/81_1247.html
- *Balíková, M.: Výuka 1. LF UK Praha, Přednášky 2005*
- Besunder, J. B., Reed, M. D., Blumer, J. L. Principles of drug biodisposition in the neonate. A critical evaluation of the pharmacokinetic-pharmacodynamic interface. Part II. *Clin. Pharmacokinet.*, 14, 1988, p. 189–216, 261–286. Převzato z www.porodnici.cz/perinatalni-farmakologie
- Bridges, J. W., Chasseaud, L. F., *Progress in drug metabolism*, Bristol: the Stonebridge Press 1977, 348 s., ISBN 0-471-99442-1
- Cazeneuve C., Pons G., Rey E. Biotransformation of caffeine in human liver microsomes from foetuses, neonates, infants and adults.(1994), 37, 405-412
- Cummings, A. J., Whitelaw A. G., L. Br. J. *Clin Pharmacol* 1981;12:511-15. Převzato z Pávek, P., Fendrich, Z., *Farmakoterapeutické aspekty těhotenství. Gynekolog* 1998, 3:134-141
- Davidsons, W. C.: *A Practise of Anaesthesia.* Edward Arnold, 1995, p. 400–417. Převzato z www.porodnici.cz/perinatalni-farmakologie
- *Dostál, J.: Výuka LF MU Brno, Přednášky 2006*
- Dostálek, M., Enzymatický systém cytochromu P450 [online], vystaveno 3. 2. 2006
Dostupné z: www.zdravotnickenoviny.cz/scripts/detail.php?id=170727
- Gibson, G. G., Skett, P.: *Introduction to drug metabolism*, 3. Vyd., Cheltenham: Nelson Thornes Publishers, 2001, 256s., ISBN 0-7487-6011-3
- Guengerich, F. P.: Role of cytochrome P450 enzymes in drug-drug interactions. *Adv Pharmacol*, 1997, 43, p. 7-35. Převzato z Dostálek, M., Enzymatický systém cytochromu P450 [online], vystaveno 3. 2. 2006

- Hartley, R., Quinn, M., Green, M., et al. Morphine glucuronidation in premature infants. *Br. J. Clin. Pharm.*, 35, 1993, p. 314–317. Převzato z www.porodnici.cz/perinatalni-farmakologie
- Ingelman-Sundberg M.: Human drug metabolising cytochrome P450 enzymes: properties and polymorphisms, *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2004, 369(1): 89-104
- Ioannides, C., *Xenobiotic Metabolism: An Overview*, in: *Enzyme Systems that Metabolise Drugs and Other Xenobiotics*, John Willey & Sons, Ltd. 2002, 1-32
- Juchau, M. R.: *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* (1971), 194, 346. Převzato z Bridges, J. W., Chasseaud, L. F., *Progress in drug metabolism*, Bristol: the Stonebridge Press 1977, 348 s., ISBN 0-471-99442-1
- Klingenberg, M.: Pigments of rat liver microsomes. *Arch. Biochem. Biophys.* (1958), 75, 376-386
- Klusoň, P.: *Výuka VŠCHT Praha, Přednášky 2006*
- Knejzlík Z., Káš J., Ruml T.: Mechanismus vstupu xenobiotik do organismu a jejich detoxikace, *Chem. Listy* 2000, 94:913 – 918
- Koolman, J., Röhm, K. H.: *Color Atlas of Biochemistry*, 2nd edition, Stuttgart: Thieme, 2005, 467 s., ISBN 3-13-100372-3
- Kvasničková E.: *Xenobiochemie*, 1. Vyd., Praha: Karolinum, 1995, 49 s. ISBN 80-7066-993-4
- Kvasničková, E.: Aktivita biotransformačních enzymů v průběhu intrauterinního vývoje a dětí, *Přednášky 2005*
- Ledvina M., Stoklasová A., Cerman J.: *Biochemie pro studující medicíny*, 2. Díl, 1. Vyd., Praha: Karolinum, 2006, 562 s. ISBN 80-246-0850-2
- Masopust, J., Vyšetření funkce jater v pediatrii, *Pediatric pro praxi* 2003, 2:60-62
- Mirkin, B. L., *Clin. Pharmacol. Ther.*, 1973, 14, 643. Převzato z Bridges, J. W., Chasseaud, L. F., *Progress in drug metabolism*, Bristol: the Stonebridge Press 1977, 348 s., ISBN 0-471-99442-1
- Nelson, D. R., Kamataki, T., Waxman, D. J., Guengerich F. P., Estabrook, R. W., Feyereisen, R., Gonzales, F. J., Coon, M. J., Gunsalus, I. C., Gotoh, O., Okuda, K., Nebert, D. W. :The P450 superfamily: Update on new sequences, gene mapping, accession numbers, early trivial names of enzymes, and

- nomenclature (1993). *DNA Cell Biol.* 12, 1-51. Převzato z Testa, B. :The metabolism of drugs and other xenobiotics – Biochemistry of redox reactions, San Diego: Academic Press, 1995, 471s., ISBN 0-12-685391-6
- Nelson, D. R., Koymans, L., Katamaki, T., et al. P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenetics*, 1996, 6, p. 1-42. Převzato z Dostálek, M., Enzymatický systém cytochromu P450 [online], vystaveno 3. 2. 2006
 - Nelson, D. R.: Metazoan cytochrome P450 evolution. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol* (1998), 369, 15-22. Převzato z Dostálek 2006
 - Nesměrák, K.: Výuka PřF UK Praha, *Přednášky 2007*
 - Newman, C. G. H., Clinical aspects of thalidomide embryopathy: A continuing preoccupation. *Teratology* 1985; 32: 133-44. Převzato z www.zdravcentra.cz/cps/rde/xbcr/zc/05_2002.pdf
 - Olkkola, K. T., Hamunen, K., Maunuksela, E. L. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of opioid analgetics in infants and children. *Clin. Pharmacokinet.*, 28, 1995, 5, p. 385–404. Převzato z www.porodnici.cz/perinatalni-farmakologie
 - Pávek, P., Fendrich, Z., Farmakoterapeutické aspekty těhotenství. *Gynekolog* 1998, 3:134-141
 - Pelkonen, O., Krauer, B., Krauer, F., Hytten, F. E. del Pozo E, eds. Drugs and Pregnancy. London: *Academic Press*, 1984. Převzato z Pávek, P., Fendrich, Z., Farmakoterapeutické aspekty těhotenství. *Gynekolog* 1998, 3:134-141
 - Pelkonen, O., Vorne, M., Kärki, N. T.: *Acta Physiol. Scand.* (1969), 77, 330, 69. Převzato z Bridges, J. W., Chasseaud, L. F., *Progress in drug metabolism*, Bristol: the Stonebridge Press 1977, 348 s., ISBN 0-471-99442-1
 - Perinatální farmakologie [online], dostupné z www.porodnici.cz/perinatalni-farmakologie, 2006-8
 - Rane A, Thomson G. Eur. J. *Clin Pharmacol* 1980; 18:9-15. Převzato z Pávek, P., Fendrich, Z., Farmakoterapeutické aspekty těhotenství. *Gynekolog* 1998, 3:134-141
 - Rizika farmakoterapie v těhotenství [online], vystaveno 28. 7. 2005. Dostupné z: www.zdravcentra.cz/cps/rde/xbcr/zc/05_2002.pdf

- Shehata, H. A., Nelson-Piercy C.: Drugs to avoid in pregnancy, *Current Obstet. Gynecol.* (2000), 10, 44-52
- Švihovec, P., *Perinatální farmakologie*, Výuka 1. LF UK Praha, Přednášky 2008
- Testa, B. :The metabolism of drugs and other xenobiotics – Biochemistry of redox reactions, San Diego: Academic Press, 1995, 471s., ISBN 0-12-685391-6
- Yaffe, S. J., Briggs, G. G., Rizika podávání léčiv v těhotenství, *BPharm.* Převzato z *Gynekologie* po promoci 2004, 3/4:35-40
- Yaffe, S. J., Rane, A., Sjöqvist, F., Boreus, L. O., Orrenius, S., *Life Sci.* (1970), 9, 1189. Převzato z Bridges, J. W., Chasseaud, L. F., *Progress in drug metabolism*, Bristol: the Stonebridge Press 1977, 348 s., ISBN 0-471-99442-1