

# Vylučování štěpných produktů globinových aduktů *N,N*-dimethylformamidu v lidské moči: experimentální objasnění zdánlivé kinetické anomálie

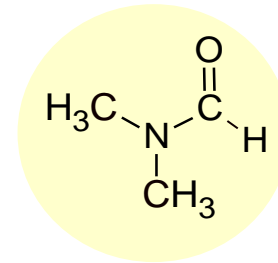


Mráz J., Hanzlíková I., Dušková Š.



*Centrum hygieny práce a pracovního lékařství  
Státní zdravotní ústav, Praha*

## N,N-Dimethylformamid (DMF)

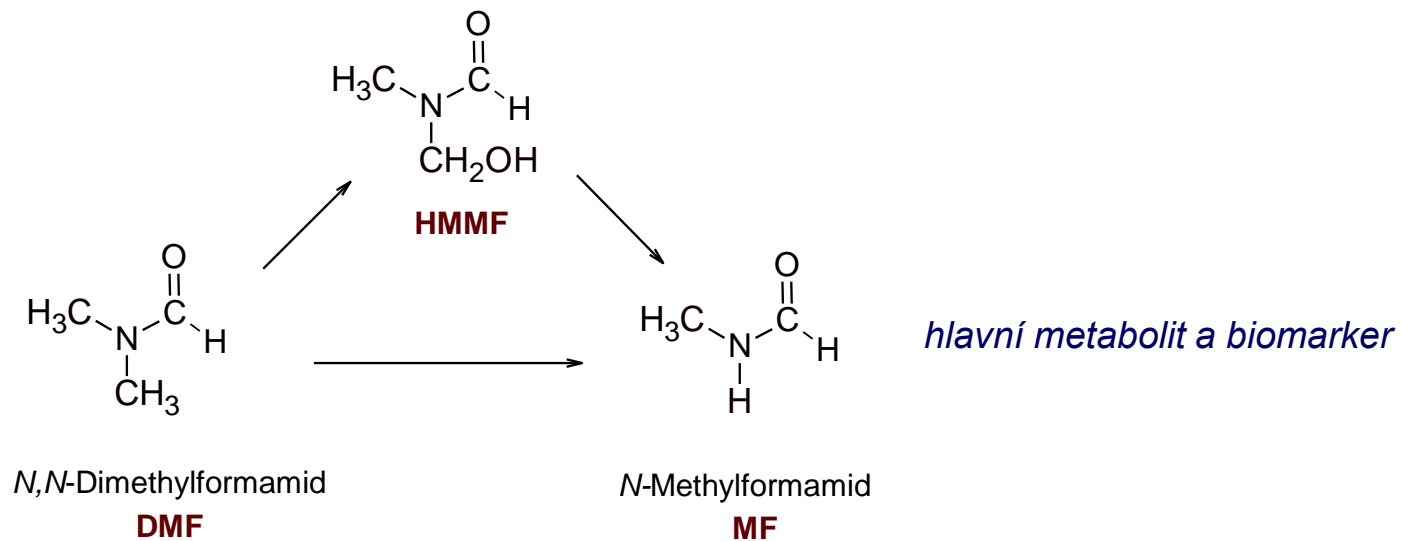


- významné průmyslové rozpouštědlo, mísitelné s vodou i většinou organických rozpouštědel
- využíván hlavně při výrobě polyurethanů
- způsobuje různé zdravotní potíže (hepatotoxicita, toxicita pro reprodukci, Antabusový efekt)
- podezřelý z karcinogenity (IARC: 2A)
- snadno vstřebáván do organismu vdechováním i pokožkou →

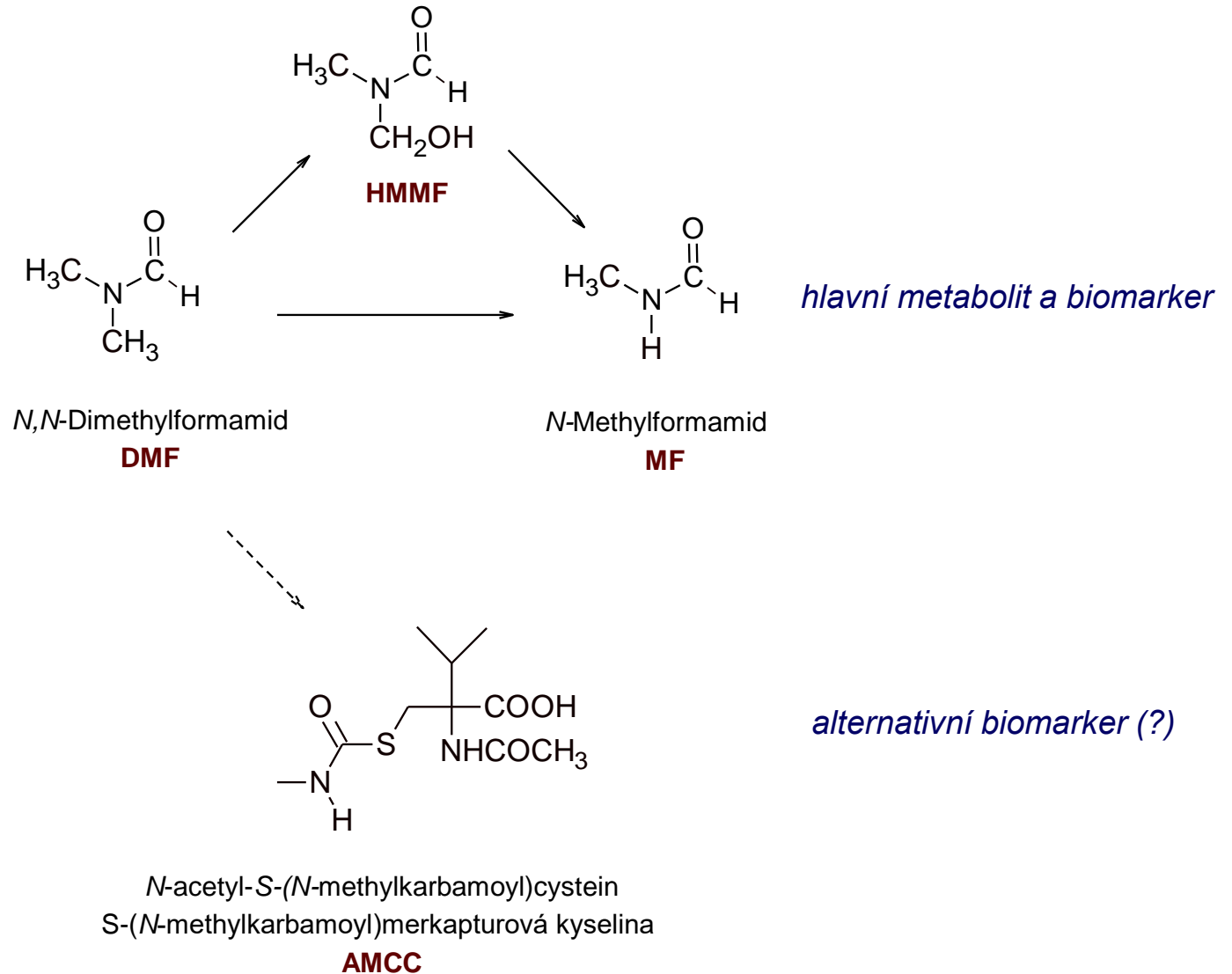
**Pro hodnocení profesionálních expozic DMF je biologické monitorování (biologické expoziční testy, BET) vhodnější než analýza pracovního ovzduší.**

**V naší laboratoři využíváme DMF i jako modelovou sloučeninu pro výzkum nových možností biologického monitorování.**

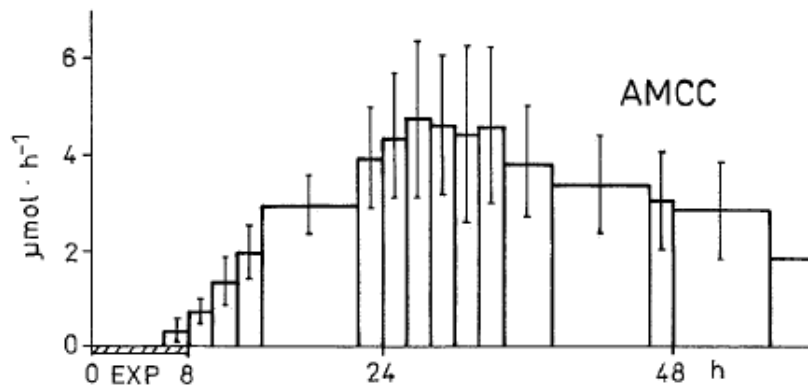
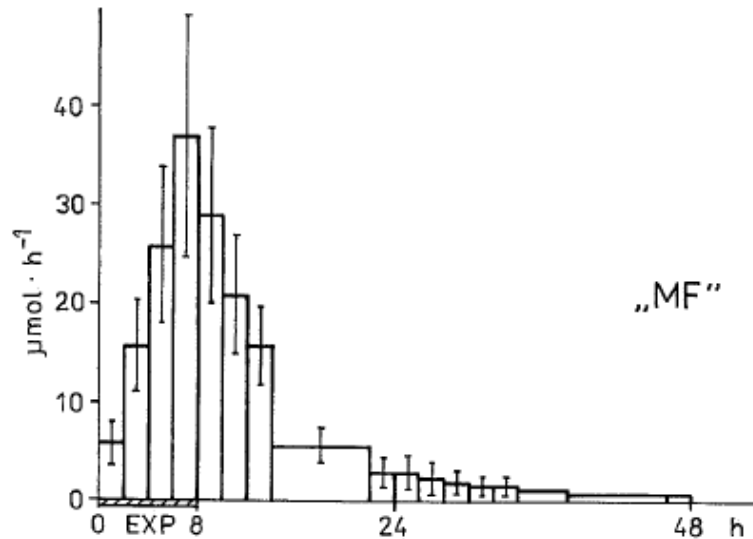
## Primární metabolické přeměny DMF (I)



## Primární metabolické přeměny DMF (II)



## Vylučování MF a AMCC u člověka po 8-h inhalační expozici DMF (30 mg/m<sup>3</sup> = 1×PEL)



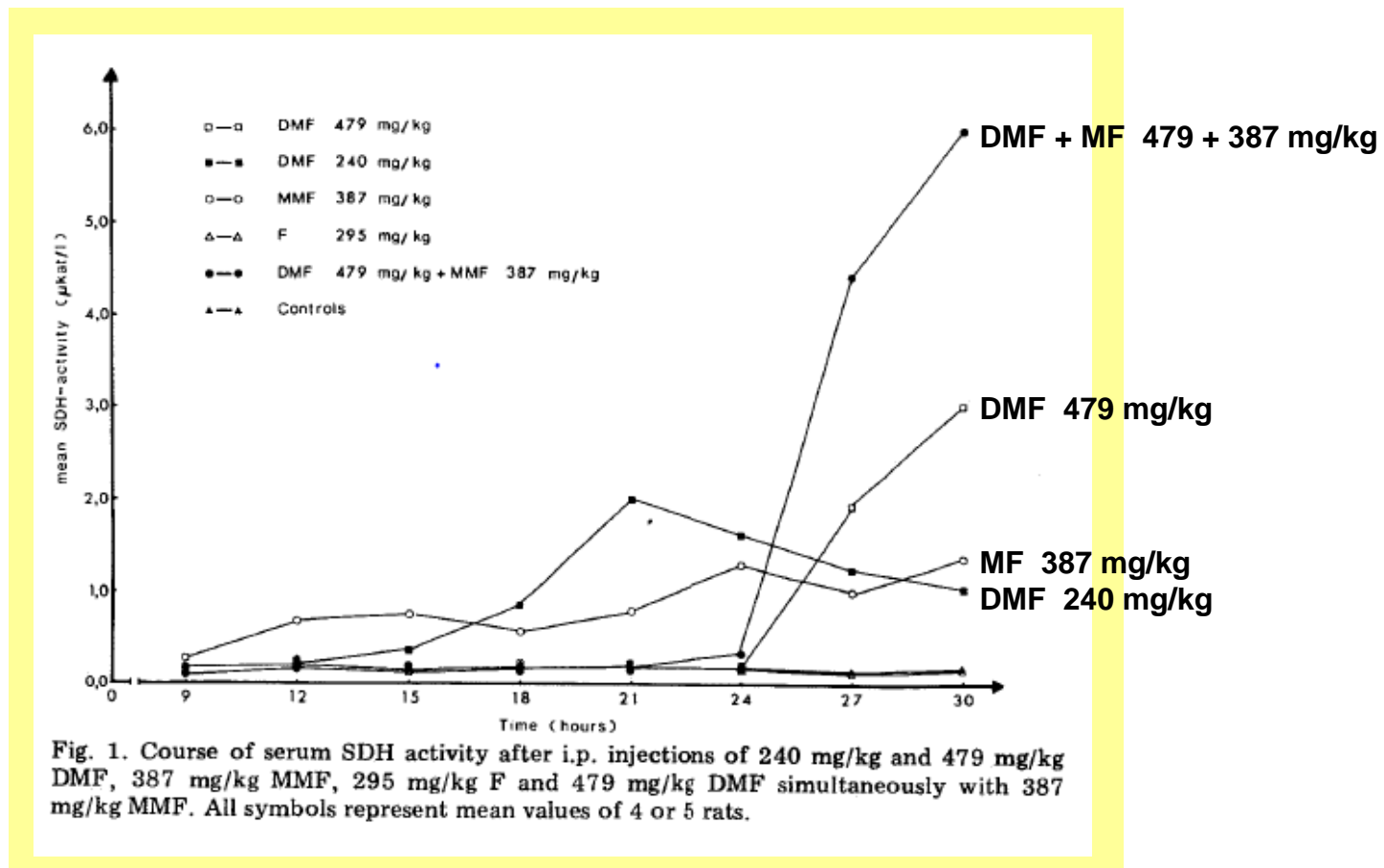
- zpožděný nástup vylučování (6-8 h od začátku expozice)
- dlouhý poločas vylučování  $t_{1/2}$  po expozici DMF: 24 h (po podání AMCC: 1 h)

## Vylučování AMCC po ip. podání DMF potkanům :

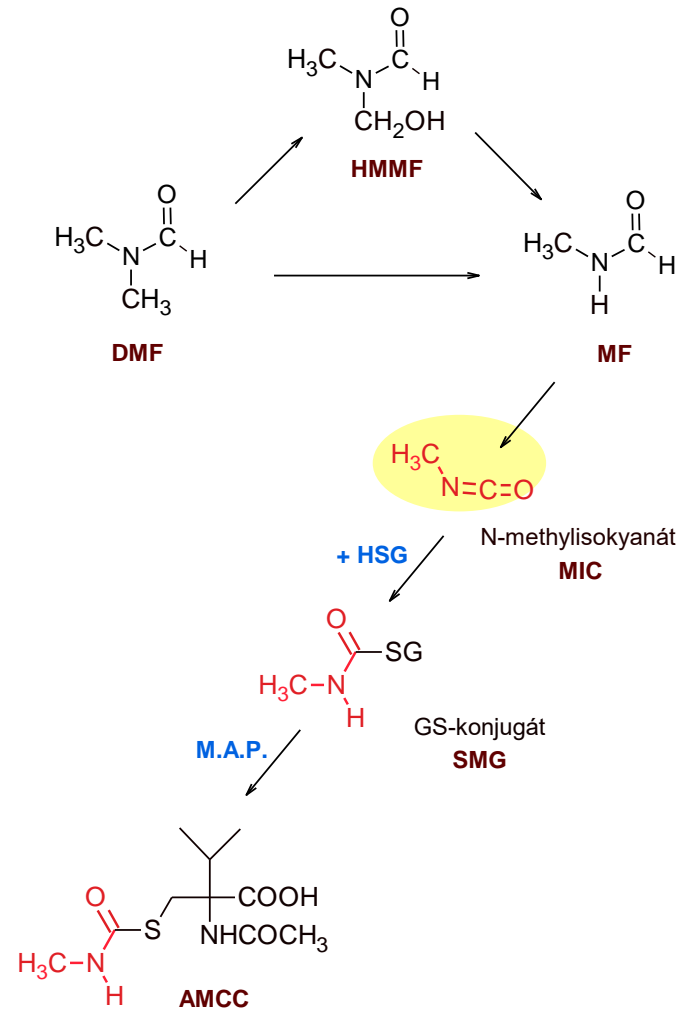
- po podání větších dávek DMF začátek vylučování později než u malých dávek
- po podání DMF  $\geq 500$  mg/kg začátek vylučování AMCC za  $\geq 24$  h

## Hladina SDH v séru (ukazatel hepatotoxicity) po ip. podání MF a DMF potkanům:

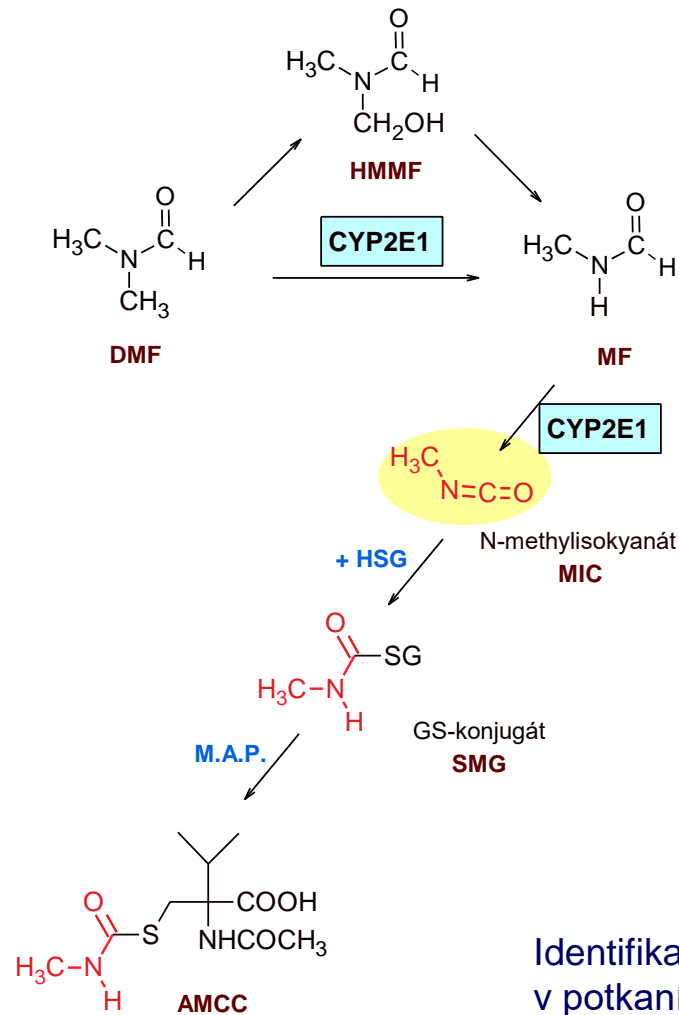
- u DMF později než u MF, u DMF po větší dávce později než po menší dávce



## Metabolická dráha od DMF k AMCC



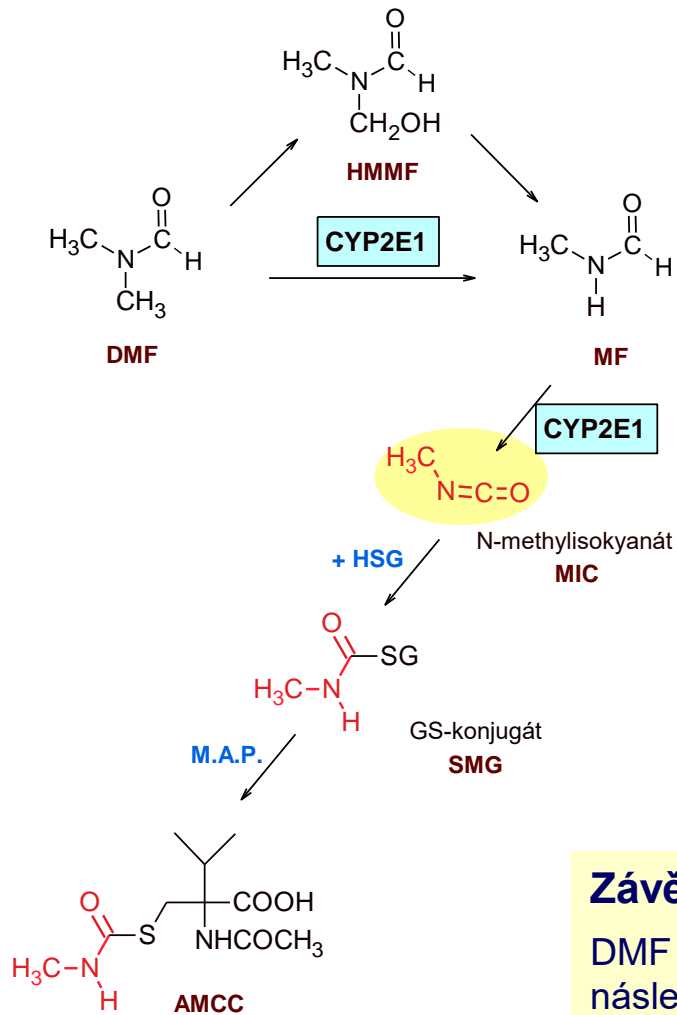
## Metabolická dráha od DMF k AMCC - biochemie



Identifikace izozymů cytochromu P450 provedena v potkaních a lidských jaterních mikrosomech



## Studium enzymové kinetiky dílčích reakcí metabolismu DMF



Kinetické parametry enzymových reakcí, studované na potkaních jaterních mikrosomech

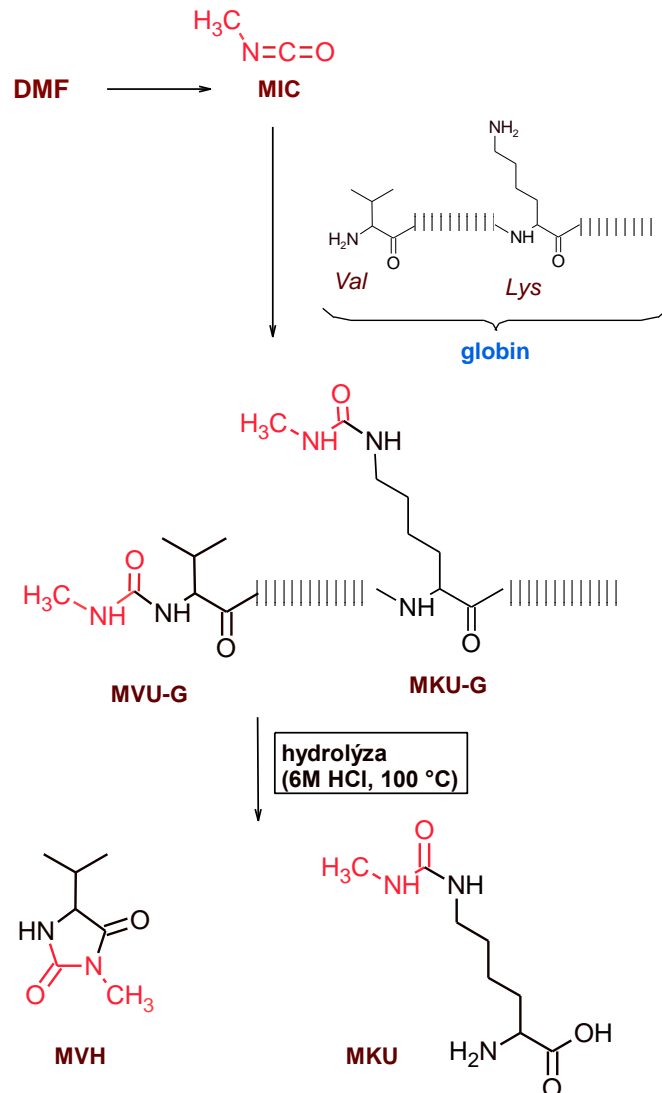
Reakce	$K_m$ (mM)	$V_{max}$ (nmol/mg prot x min)
DMF → MF	0.20	0.54
MF → SMG	4.44	0.34
HMMF → SMG	2.52	0.02

Čím nižší hodnota  $K_m$ , tím silnější afinita substrátu k enzymu.

### Závěr:

DMF efektivně inhibuje přeměnu MF (HMMF) na MIC a tedy následnou tvorbu dalších metabolitů a projevy hepatotoxicity. Čím větší dávka DMF, tím delší prodleva.

## Tvorba aduktů DMF s globinem

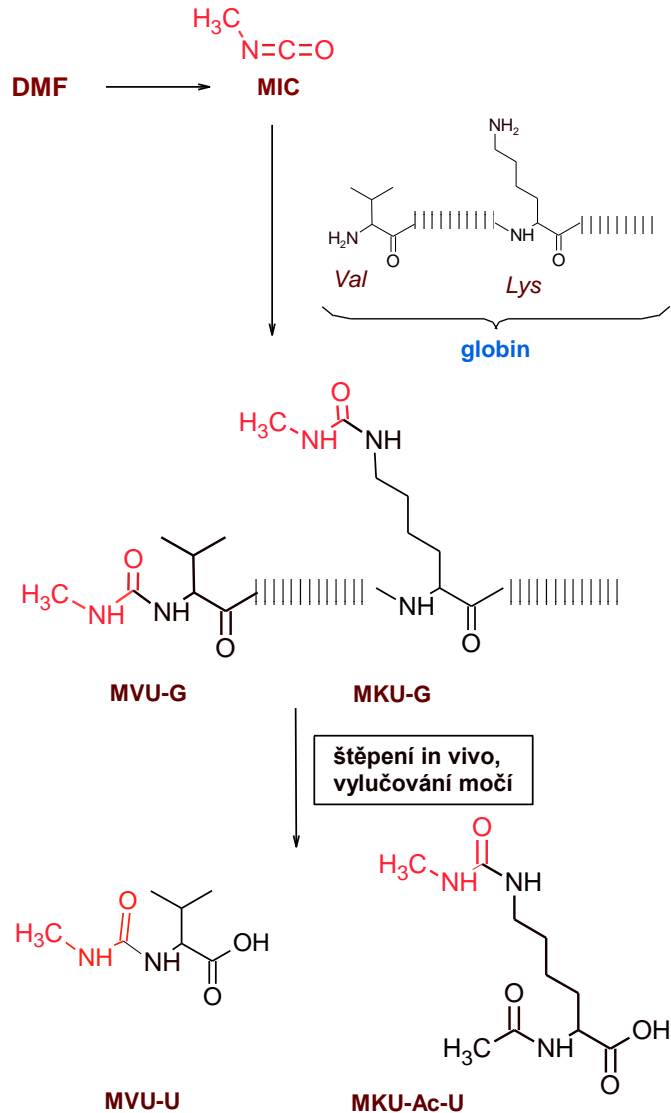


Mráz et al. 2002, 2004, 2006

### Adukty s globinem jako biomarkery expozice

- Dlouhodobá persistence v organismu po celou dobu života erythrocytů (u člověka ca. 125 dní)
- Dostupnost globinu v dostatečném množství (140 mg/ml krve)
- Zavedené analytické postupy
- Doporučené pro hodnocení expozice na pracovištích (biologické limity, BET)
- Zakotveno v legislativě

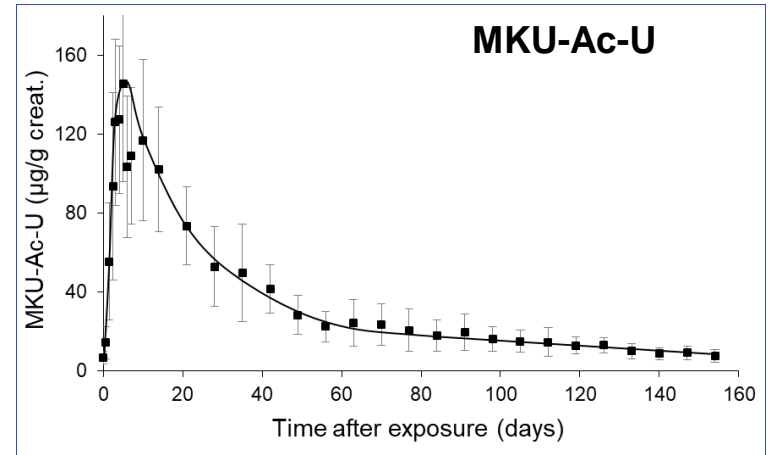
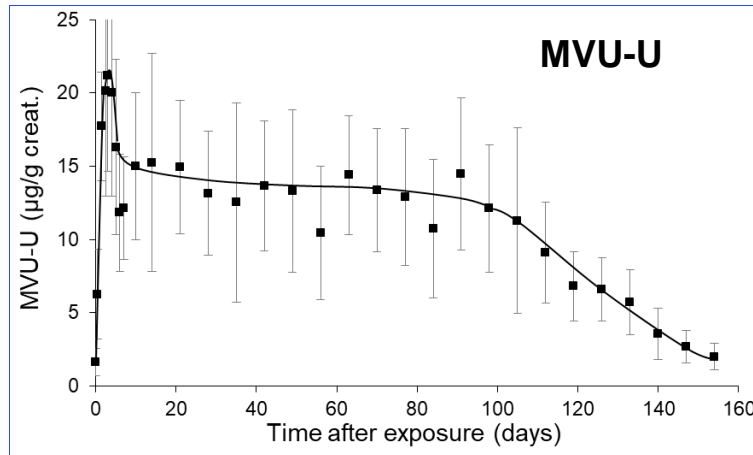
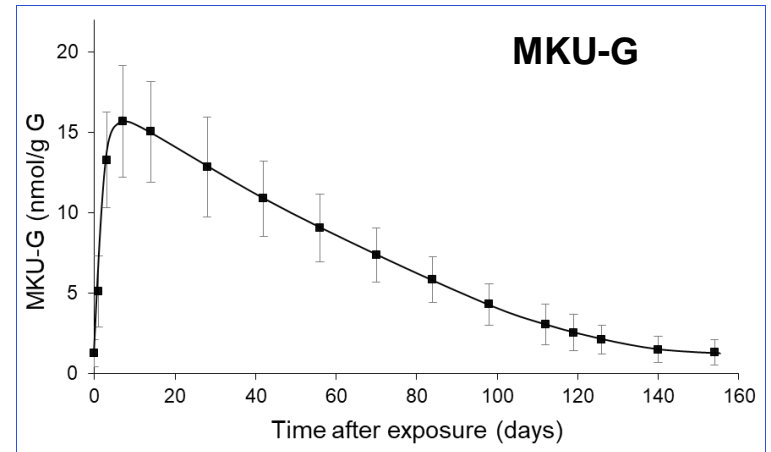
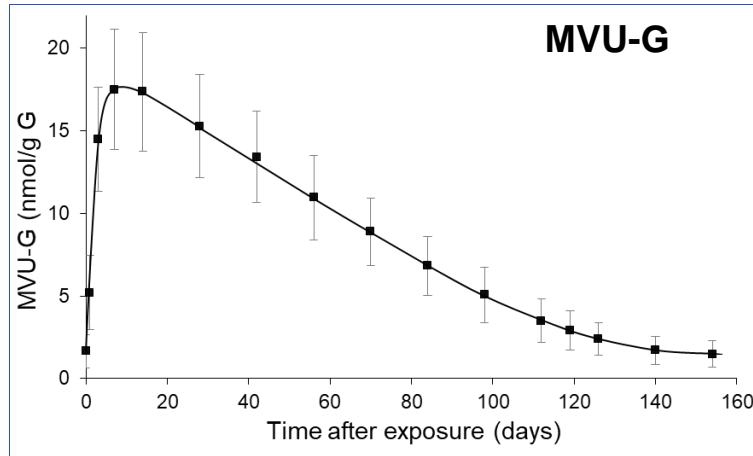
## Štěpné produkty globinových aduktů DMF



### Kompartimentový toxikokinetický model pro vznik a odbourávání aduktů s globinem a jejich štěpných produktů

- Životnost aduktů s globinem je dána dobou života erythrocytů (u člověka 120 d)
- Erythrocyty stejného stáří označujeme za kompartmenty. Populace všech erythrocytů v krvi je tedy rozdělena na 120 kompartmentů
- Hladina aduktů v krvi odráží průměrnou kumulativní zátěž všech kompartmentů
- Štěpné produkty se z aduktů uvolňují až po ukončení života nejstarších kompartmentů
- Hladina štěpných produktů v moči odráží kumulativní zátěž nejstaršího kompartmentu

## Kinetika globinových aduktů DMF a jejich štěpných produktů v moči člověka po požití 500 mg DMF



### Překvapivé pozorování:

časné vylučování štěpných produktů velmi krátce po expozici

## Jak vysvětlit časně vylučování štěpných produktů MVU-U a MKU-Ac-U velmi krátce po expozici ?

(během prvního dne vyloučeno větší množství štěpných produktů, než kolik mohlo vzniknout výchozích aduktů MVU-G a MKU-G)

### Hypotéza 1

Jen část vyloučených MVU-U a MKU-Ac-U jsou opravdu štěpnými produkty globinových aduktů, zbytek vzniká jiným způsobem.

### Hypotéza 2

MVU-U a MKU-Ac-U vznikají též reakcí MIC s volnými aminokyselinami Val a Lys přítomnými v plasmě. *(Ale jak to prokázat...?)*

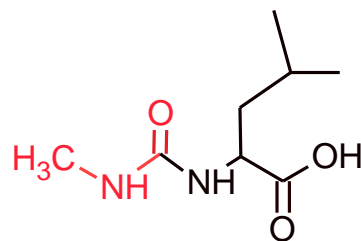
### Hypotéza 3

Jestliže s MIC reagují volné Val a Lys v plasmě, pak by měly reagovat a tedy poskytovat analogické MIC-produkty i ostatní aminokyseliny v plasmě.

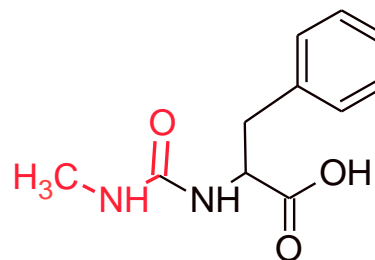
### Řešení

Byly připraveny a hledány v moči produkty reakce MIC s aminokyselinami Leu a Phe („indikátorové produkty“).

## „indikátorové produkty“



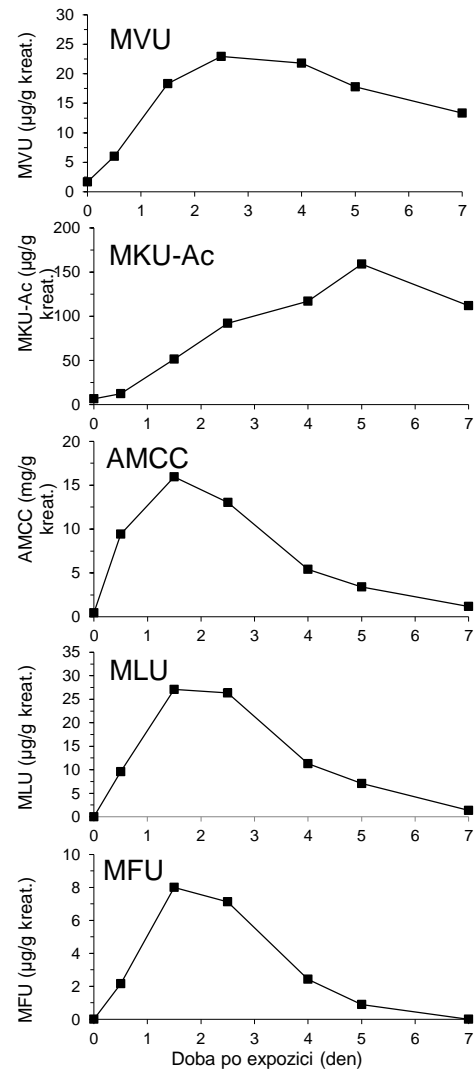
MIC-Leu  
**MLU**



MIC-Phe  
**MFU**

## Vylučování štěpných a indikátorových produktů v moči (člověk, po požití 500 mg DMF)

0-7 d

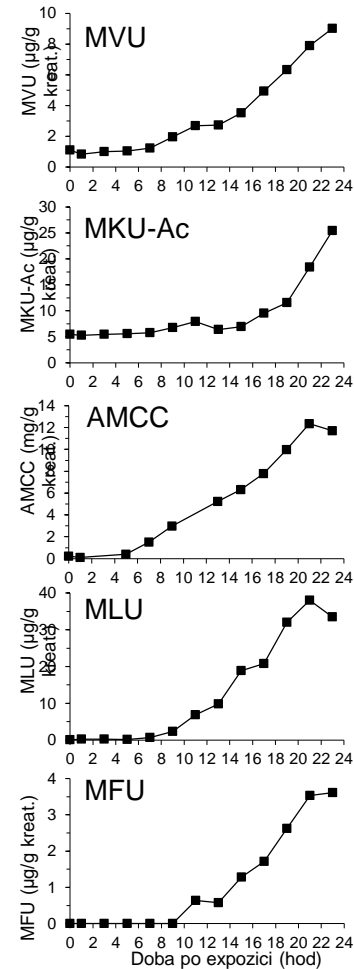
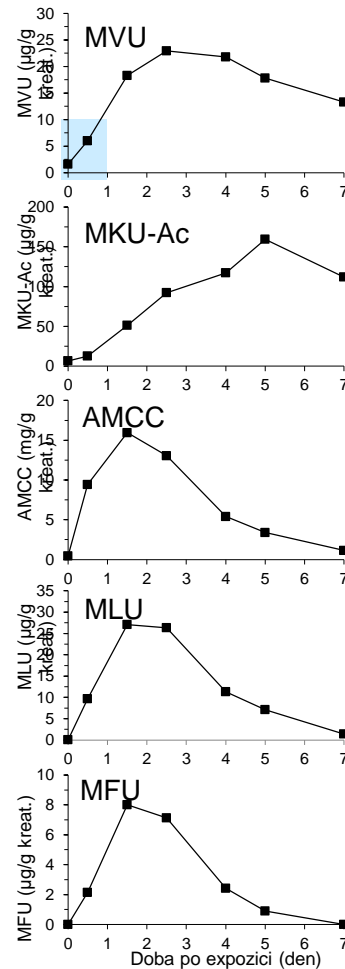


## Vylučování štěpných a indikátorových produktů v moči (člověk, po požití 500 mg DMF)

0-7 d

zoom

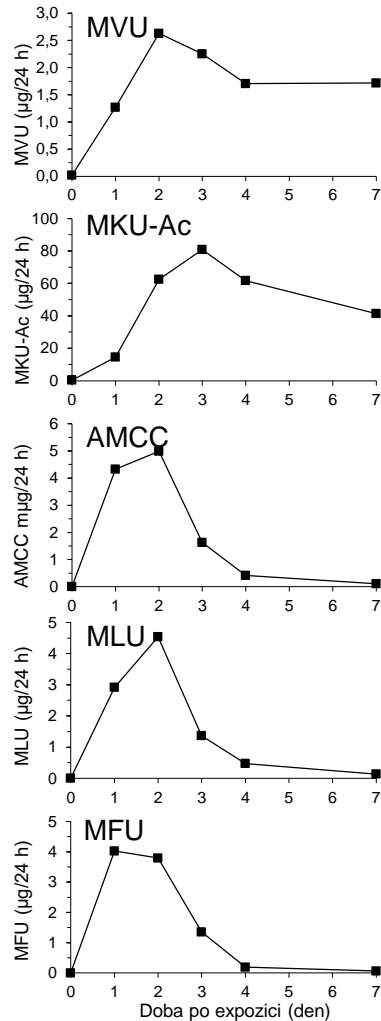
0-24 h



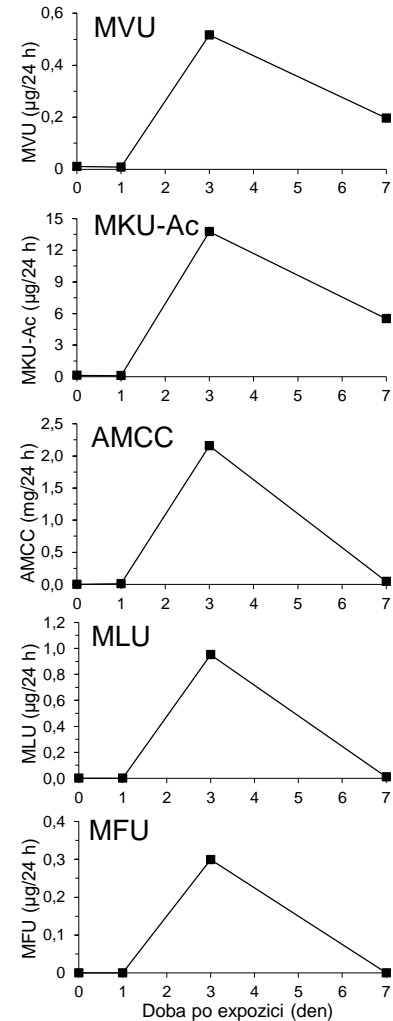


## Vylučování štěpných a indikátorových produktů v moči

potkan  
(ip. podání MF, 500 mg/kg)



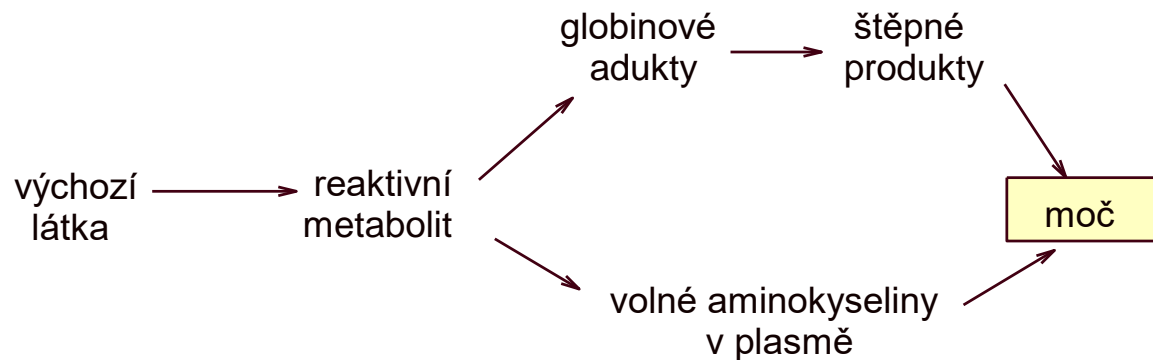
potkan  
(ip. podání DMF, 500 mg/kg)



## Závěr:

Část z celkového množství látek považovaných za štěpné produkty globinových aduktů (DMF) v moči vzniká i přímou reakcí reaktivního metabolitu s volnými aminokyselinami v plasmě.

Zřejmě vždy přitom vzniká a vylučuje se močí i řada analogických produktů s ostatními aminokyselinami.



# Poděkování

**Ministerstvu zdravotnictví ČR  
za institucionální podporu**

**Státní zdravotní ústav (SZÚ), IN 75010330**