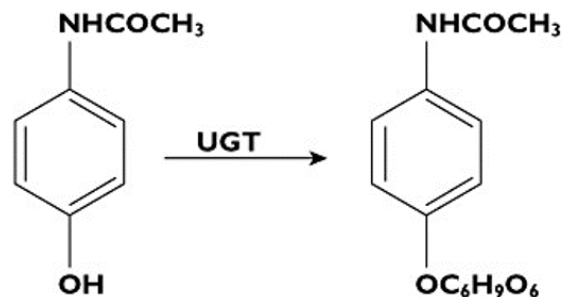


MEDIDA DE LAS ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS DE LAS UGTs

GLUCURONIDACIÓN

- Consiste en la adición de un ácido glucurónico a un sustrato
- Es una de los mecanismos metabólicos de Fase II más importantes.
- Facilita la detoxificación y eliminación de muchos xenobióticos y compuestos endógenos.
- Las enzimas responsables de esta reacción son las UDP-glucuronosiltransferasas (UGTs), ya que catalizan el enlace covalente del ácido glucurónico con los sustratos.
- Existen varias isoformas de las UGTs con distintas especificidades en cuanto a sustratos. En el hígado predomina la isoforma UGT1A1, pero también existe actividad UGT en la mayor parte de los tejidos.



Ejemplo de reacción de glucuronidación

UPLC-MS/MS ANALYSIS

- La Unidad Analítica ha desarrollado y validado una metodología UPLC-MS/MS para la evaluación de las principales actividades de las enzimas UGTs.
- Esta capacidad se evalúa de forma indirecta, a través de la determinación analítica de los metabolitos de fase II formados tras la incubación con un **cocktail de sustratos modelo** específicos para cada isoforma.

UGT	Sustrato	Metabolito de Fase II
1A1	Estradiol	β -Estradiol 3 glucurónido
2B7	Estradiol	β -Estradiol 17 glucurónido
1A6	Naftol	1 - Naftol β -glucurónido
1A9	Propofol	Propofol glucurónido
2B7	Naloxona	Naloxona 3-glucurónido
varios	4-metilumbeliferona	4-metilumbeliferona glucurónido

- ✓ **Evaluación in vitro de las principales actividades de las UGTs en el metabolismo de xenobióticos**
- ✓ **Evaluación del efecto de nuevas entidades químicas sobre las actividades de las UGTs**
- ✓ **Caracterización metabólica de cultivos celulares (hepatocitos, líneas celulares, células madre pluripotentes inducidas, etc.)**

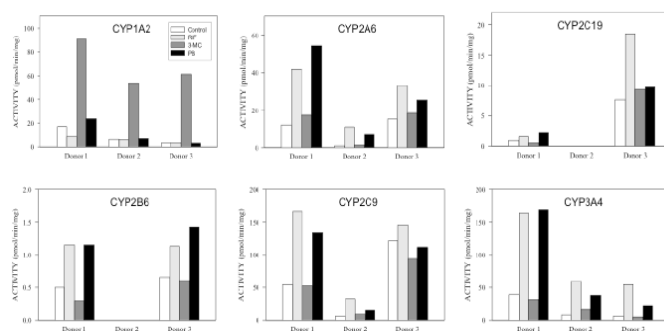


Fig. 1. Effects of model inducers (i.e., rifampicin, RIF, 3-methylcholanthrene, MC, and phenobarbital, PB) on CYP activities in cultured human hepatocytes using the cocktail approach. CYP activities were determined in hepatocyte cultures from three different donors by incubating intact cell monolayers with a cocktail of selective substrates: phenacetin (CYP1A2), coumarin (CYP2A6), benzoxyresorufin (CYP2B6), diclofenac (CYP2C9), S-mephenytoin (CYP2C19), and midazolam (CYP3A4).

REFERENCES

M.T. Donato, S. Montero, J.V. Castell, M.J. Gómez-Lechón, A. Lahoz, (2010). *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 396(6):2251-63