

## Биотрансформация токсикантов: фаза модификации и фаза конъюгации

План.

1. Фаза модификации
2. Фаза конъюгации
3. Факторы, влияющие на биотрансформацию ксенобиотиков

Биотрансформация токсикантов - это сложный многостадийный процесс, приводящий к потере токсичности, включающий две фазы.

Первая фаза – *модификация* молекулы токсиканта, в результате чего образуются или освобождаются функциональные группы (-OH, -NH<sub>2</sub>, -SH) и вещество становится полярным. Вторая фаза – *конъюгация* - синтетические реакции токсикантов с эндогенными веществами с образованием конъюгатов, которые выводятся из организма.

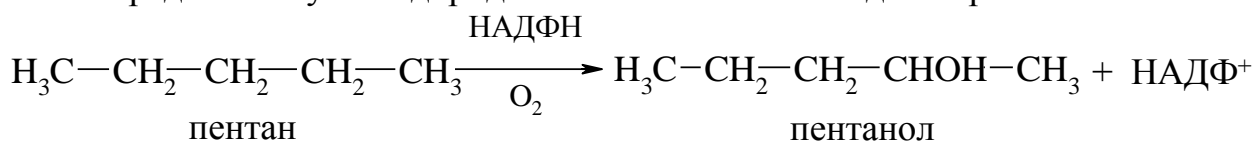
Если в молекуле токсиканта имеются свободные функциональные группы, то биотрансформация может начаться со второй фазы.

Реакции биотрансформации катализируют десятки ферментов, однако основная роль принадлежит изоферментам цитохрома P<sub>450</sub>. Многие реакции биотрансформации являются НАД и НАДФ-зависимыми.

**Фаза модификации.** Основные реакции фазы модификации - окисление, восстановление, гидролиз, дезаминирование, дезалкилирование (N-, O-, S-дезалкилирование)

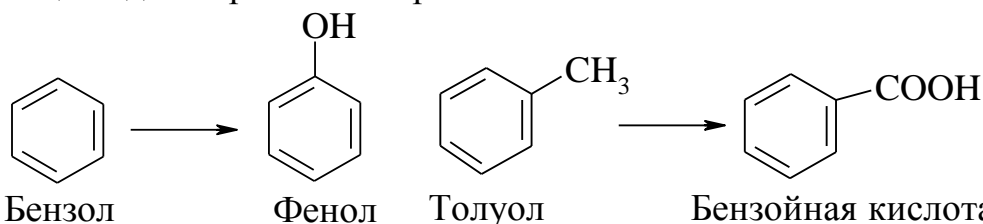
Реакции окисления. При окислении образуются метаболиты, содержащие гидроксильные группы. Поэтому реакции окисления называют реакциями гидроксирования. В процессе гидроксирования один из атомов активированного кислорода внедряется в молекулу окисляемого соединения, другой расходуется на образование воды.

Предельные углеводороды обычно окисляются до спиртов:

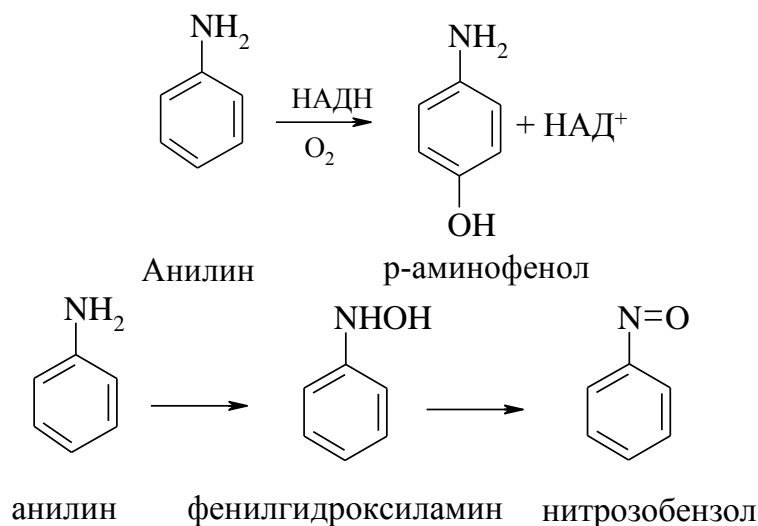


Это НАДФ-зависимая ферментативная реакция.

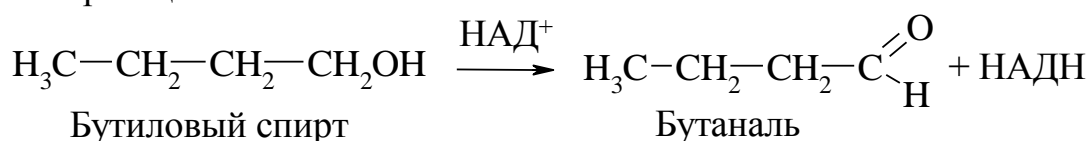
Бензол гидроксилируется до фенола, гомологи бензола окисляются по боковой цепи до спиртов или карбоновых кислот:



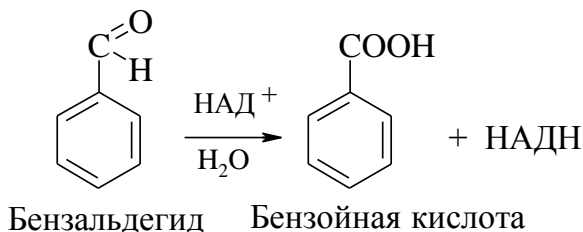
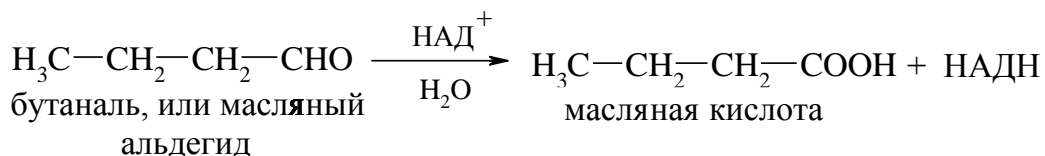
Окисление ароматических аминов (анилин) может происходить по бензольному кольцу и по аминогруппе. Этот так называемое N-гидроксирование. Окисление анилина - это НАДН-зависимая реакция.



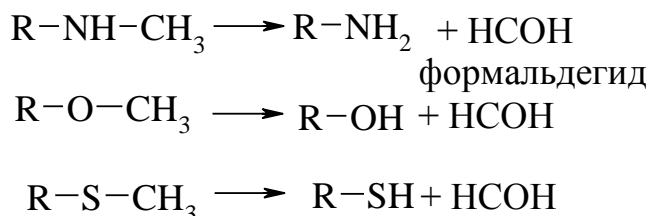
Первичные спирты окисляются до альдегидов. Это обычно НАД-зависимая реакция.



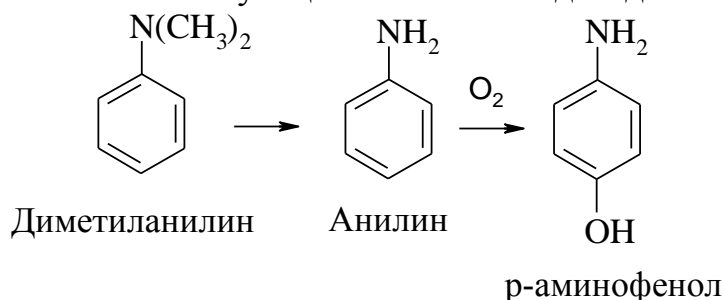
Альдегиды под действием ферментов цитохром P<sub>450</sub>-зависимой системы окисляются до карбоновых кислот.



*Реакции дезалкилирования* - окисления алкильной группы, присоединенной к N, O, или S-атомам ксенобиотиков (соответственно, N-дезалкилирование, O-дезалкилирование, S-дезалкилирование). Систему N-дезалкилирования часто называют системой метаболизма лекарственных веществ, так как большинство её субстратов широко используется в медицинской практике. В общем виде реакции дезалкилирования можно представить следующим образом:

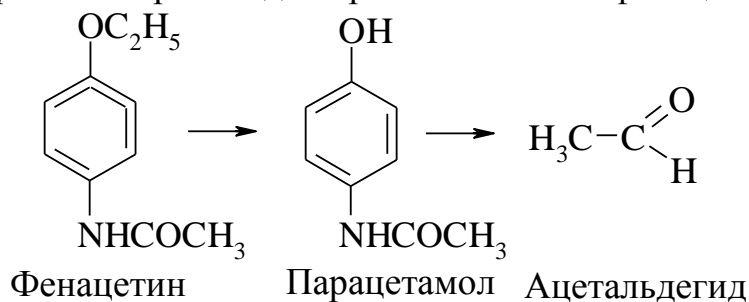


*N*-деалкилированию подвергаются вторичные и третичные амины, в результате образуются соответствующие амины и альдегиды.

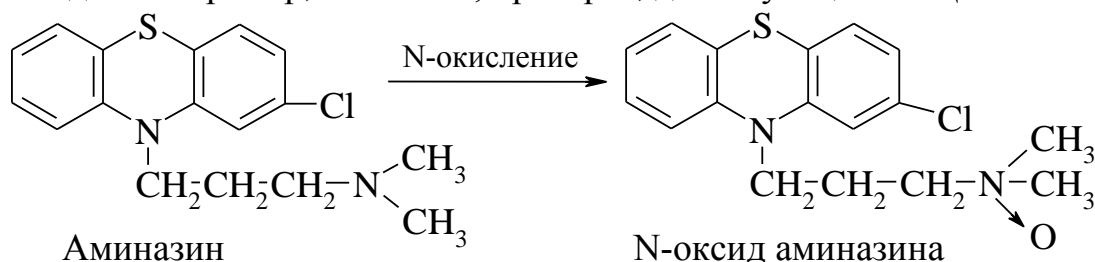


В организме *N*-деалкилированию подвергается морфин и его производные (образуется норморфин).

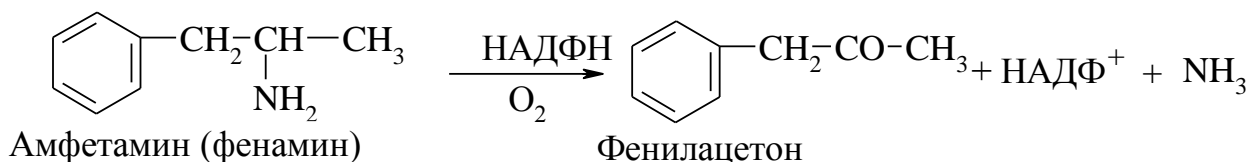
*O*-деалкилирование происходит при метаболизме фенацетина.



*N* и *S*-окисление. Ксенобиотики, содержащие атомы азота или серы, в организме подвергаются микросомальному окислению до *N*-оксидов или сульфоксидов. Например, аминазин, препарат, действующий на ЦНС.



*Окислительное дезаминирование* - отщепление аминогруппы в виде  $NH_3$ . Окислительному дезаминированию подвергается большое число лекарственных средств, например, психотропный препарат амфетамин.



*Восстановление ксенобиотиков*

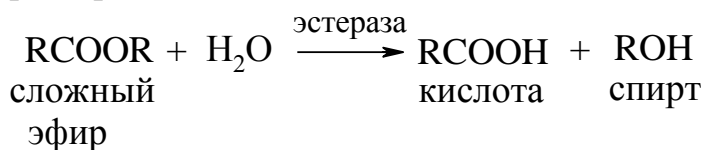
Ароматические нитро- и азосоединения восстанавливаются в амины.



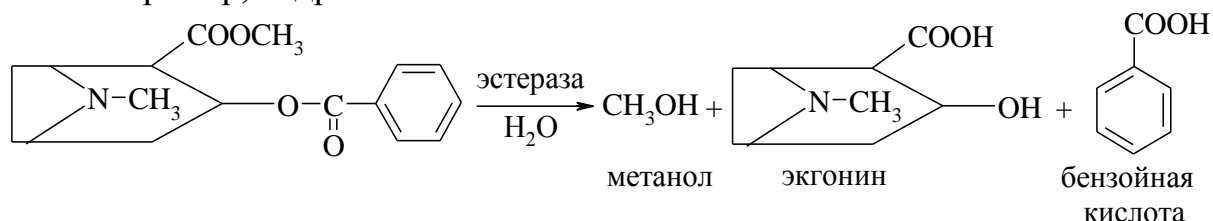
*Реакции гидролиза.* Большая группа ксенобиотиков содержит эфирные, амидные, гликозидные группы, которые в процессе биотрансформации под-

вергаются гидролизу. Эти реакции катализируются специфическими и неспецифическими гидролазами (эстеразами, амидазами), содержащимися в эндоплазматическом ретикулуле гепатоцитов и в некоторых других тканях.

Гидролиз эфиров проходит по схеме:



Например, гидролиз кокаина:

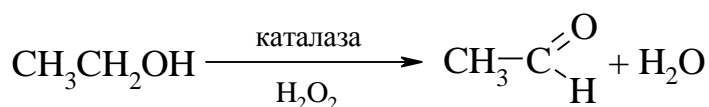


Амиды гидролизуются до карбоновых кислот и аммиака.

Ксенобиотики метаболизируются также *немикросомальными ферментными системами*. В митохондриях, например, находятся аминоксидазы, которые превращают амины в альдегиды. Ферменты аминоксидаза и эстераза обнаружены в плазме крови. И, наконец, существует много метаболических превращений ксенобиотиков, для которых ферменты и локализация их ещё не известны.

Немикросомальному окислению могут подвергаться первичные спирты с образованием соответствующих альдегидов. Алифатические и ароматические альдегиды окисляются в соответствующие карбоновые кислоты, которые затем подвергаются β-окислению.

В пероксисомах возможно окисление этанола пероксидом водорода при участии фермента каталазы:



### Фаза конъюгации

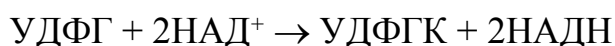
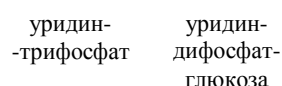
Конъюгационная, или синтетическая фаза приводит к образованию нетоксических и легковыводимых из организма продуктов метаболизма ксенобиотиков. Конъюгация представляет собой биосинтез, при котором токсические соединения или их метаболиты соединяются с легкодоступными эндогенными субстратами. В результате молекула становится более полярной, менее липофильной и поэтому легко выделяется из организма.

В организме животных и человека наиболее распространенными являются следующие виды конъюгации: глюкуронидная, сульфатная, тиосульфатная, конъюгация с аминокислотами, ацетилирование, метилирование, конъюгация с углеводами.

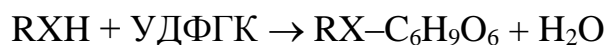
*Глюкуронидная конъюгация* - наиболее важный вид конъюгации в организме животных и человека. Глюкуроновая кислота  $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_7$  относится к уроновым кислотам и представляет собой альдегидкарбоновую кислоту. Образуется из глюкозы. Глюкуроновая кислота со спиртами, фенолами, карбо-

новыми кислотами, тиолами, аминами и многими веществами образует конъюгаты, которые называют глюкуронамидами. Карбоксильная группа в их молекуле остается свободной. Поэтому в плазме крови и моче они ионизированы и существуют в виде анионов.

При образовании глюкуронидов конъюгирующим агентом выступает уридиндифосфатглюкуроновая кислота (УДФГК). Синтез УДФГК происходит из глюкозо-1-фосфата, основным источником которого является гликоген печени. При сильных интоксикациях, при которых происходит усиленный распад УДФГК как основного поставщика глюкуроновой кислоты и отмечается снижение гликогена в печени. Поэтому у истощенных животных при тяжелых формах печеночной патологии, происходит торможение глюкуроноидной конъюгации из-за недостатка синтеза УДФГК.



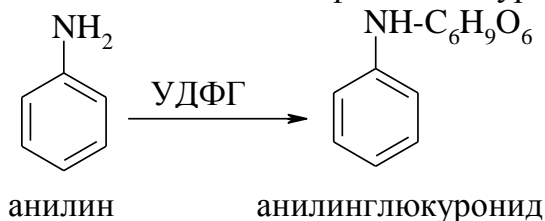
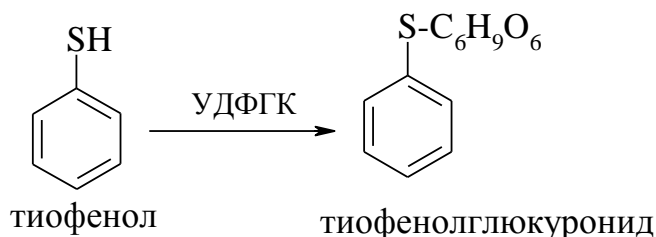
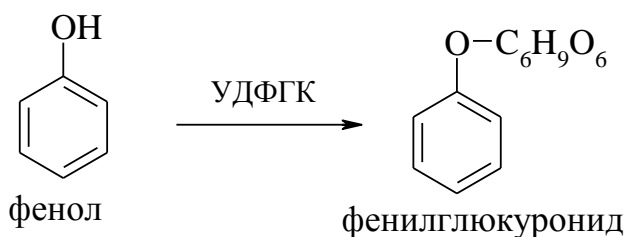
Глюкуроноидная конъюгация происходит под действием ферментов трансглюкуронилаз (глюкуронилтрансфераз), находящихся в микросомальной фракции в печени и в меньшей степени в почках, в желудочно-кишечном тракте, коже. У кошек вследствие низкой активности конъюгирующих ферментов этот вид конъюгации является второстепенным. В общем виде уравнение глюкуроноидной конъюгации имеет вид:



токсикант

глюкуроноид  
токсиканта

Конъюгация может происходить по O-, N-, S – атому:

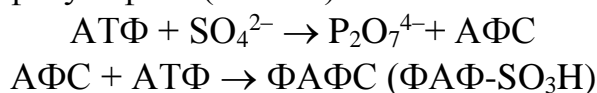


Глюкуронидной конъюгации подвергаются многие лекарственные вещества.

*Сульфатная конъюгация.* Эволюционно наиболее древний вид конъюгации. При взаимодействии серной кислоты с ксенобиотиками или их метаболитами образуются сложные эфиры серной кислоты.

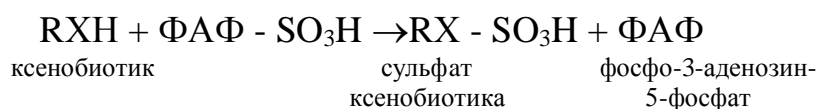
На первом этапе неорганический сульфат взаимодействует с АТФ с образованием аденозин-5'-фосфосульфата (АФС).

АФС взаимодействует ещё с одной молекулой АТФ с образованием 3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфата (ФАФС):

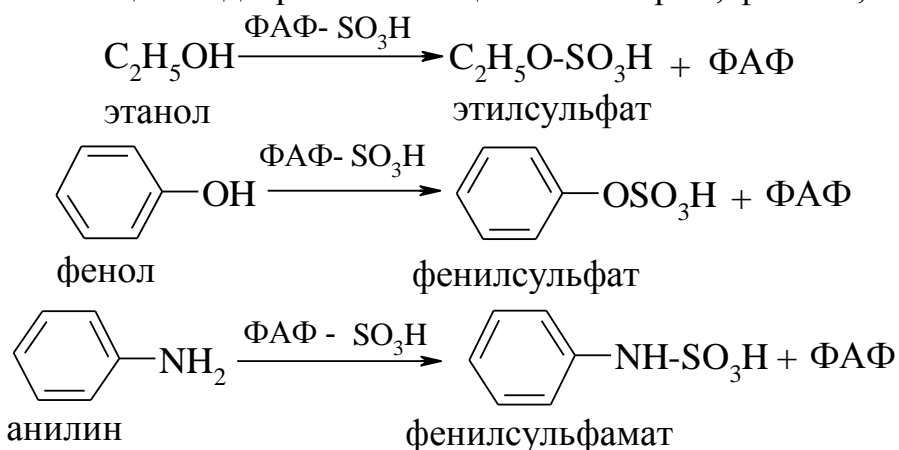


ФАФС является источником подвижных сульфатных групп, используемых для конъюгации ксенобиотиков.

Сульфатной конъюгации подвергаются эндогенные вещества, например, токсические продукты гниения белков в кишечнике – индол, скатол, гормоны, многие ксенобиотики, содержащие –ОН и NH<sub>2</sub> – группы. Реакции сульфатной конъюгации происходят с участием специальных ферментов сульфотрансфераз по схеме:



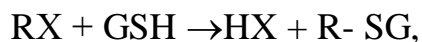
Сульфатной конъюгации подвергаются чаще всего спирты, фенолы, амины.



*Глутатионовая конъюгация.* Глутатион – это трипептид – гамма-глутамил – цистеинил – глицин. В тканях существует в восстановленной (GSH) и окисленной формах (GS-SG). Глутатионовая конъюгация широко представлена в тканях животных и человека. Известно более 40 типов различных химических соединений, способных образовывать глутатионовые конъюгаты (эпоксиды, альдегиды, нитропроизводные, полициклические соединения). Их объединяет наличие электрофильной группы (акцептора электронной пары), способной реагировать с SH – группой глутатиона.

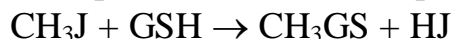
Реакции ксенобиотиков или их метаболитов с глутатионом катализируют микросомальные ферменты глутатион-S-трансферазы. Эти ферменты обладают низкой специфичностью. Под их действием глутатион взаимодействует с конъюгируемым соединением, образуя тиоэфир, который превраща-

ется в меркаптуровую кислоту, которая экскретируется с мочой. В неизменном виде конъюгаты экскретируются с желчью.



Ксенобиотик

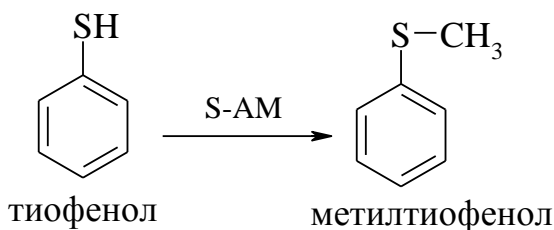
R – ароматический, алифатический или гетероциклический радикал.



иодметан

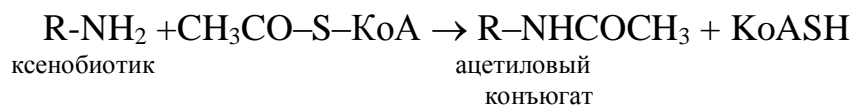
**Метильная конъюгация.** Реакция заключается в переносе метильной группы на метаболит. Донором метильной группы служит активная форма метионина – S-аденозилметионин (S-AM).

В зависимости от того, какой атом метилируется, образуется N-, O- и S-метильные конъюгаты.

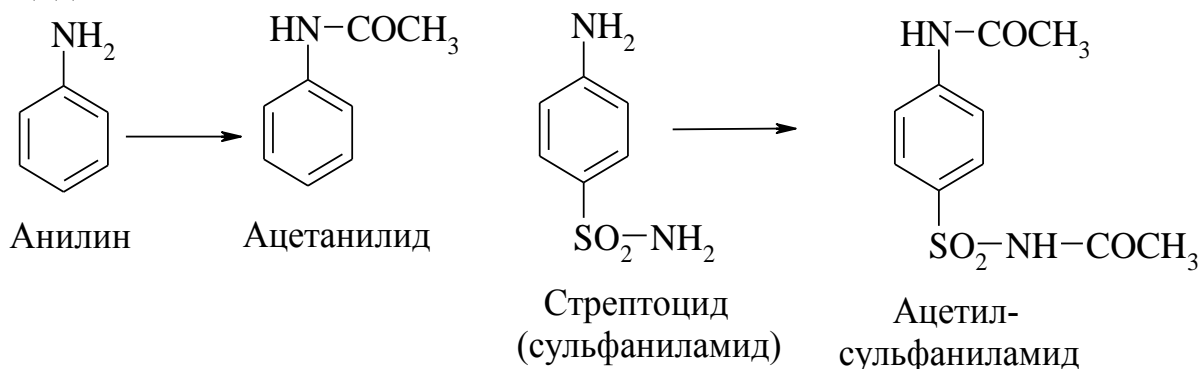


Метилированию могут подвергаться как различные токсиканты, так и эндогенные вещества, например норадреналин.

**Ацетильная конъюгация.** Основной путь биотрансформации ароматических аминов, сульфаниламидов и некоторых чужеродных аминокислот. Источником подвижных ацетильных групп служит ацетил-КоА. Под влиянием ферментов N-ацетилтрансфераз происходит перенос ацетильной группы от ацетил-КоА к соответствующим метаболитам, подвергающимся конъюгации. При этом освобождается КоASH. В общем виде реакцию ацетилирования можно представить так:



Примерами могут служить реакции ацетилирования анилина и стрептоцида



N-ацетилтрансферазы (NAT) - микросомальные ферменты, находятся в печени и в небольшом количестве в других тканях млекопитающих, за исключением собак и лис, которые неспособны к N-ацетильной конъюгации.

*Конъюгация с аминокислотами.*





пути и образуется основной метаболит. Некоторые ксенобиотики могут вступать в различные реакции конъюгации. Чаще всего глюкуронидная конъюгация сочетается с глутатионовой или сульфатной. Двойные конъюгаты образуются легче, если конъюгация по одной функциональной группе не увеличивает полярность молекулы настолько, чтобы вызвать её быстрое выведение из организма.

### ***Факторы, влияющие на биотрансформацию ксенобиотиков***

Метаболизм одних и тех же ксенобиотиков может протекать по-разному в зависимости от генетических (индивидуальных), физиологических (возраст, пол, беременность) и других факторов.

Метаболизм ксенобиотиков находится под генетическим контролем. В геноме человека имеется от 500 до 1200 различных генов, ответственных за процесс биотрансформации. Особенности генома обуславливают индивидуальные особенности метаболизма ксенобиотиков. Так, известно, что у одного из 1,5-2 тысяч человек резко снижена активность фермента, разрушающего дитилин (лекарственное средство, расслабляющее на несколько минут скелетную мускулатуру). В результате действие дитилина удлинняется до нескольких часов и может вызвать тяжелое отравление.

У некоторых людей имеется генетически обусловленная недостаточность фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. При недостатке этого фермента в эритроцитах не обеспечивается необходимый биосинтез восстановленного глутатиона, изменяется проницаемость клеточной мембраны. Она становится проницаемой для окислителей, происходит инактивация ферментов гликолитического пути, денатурация гемоглобина, и в конечном итоге наступает гемолиз эритроцитов.

Аналогичные явления наблюдаются при дефиците такого фермента как 6-фосфоглюконатдегидрогеназа. Эта особенность делает эритроциты малоустойчивыми к ряду ксенобиотиков и фармацевтических препаратов (сульфаниламидам, аспирину, фенацитину, некоторым антибиотикам), так как они усиливают гемолиз. Вследствие распада эритроцитов у таких людей на фоне лекарственного лечения возникает гемолитическая анемия и желтуха.

У некоторых людей наблюдается слабость такого вида конъюгации, как ацетилирование. Поэтому биотрансформация ксенобиотиков и фармацевтических препаратов нарушается, что может обусловить наличие токсического эффекта, как, например, при использовании противотуберкулезного препарата изониазида.

Наблюдаются значительные видовые особенности биотрансформации токсических веществ, обусловленные биологическими особенностями, присущие животным каждого вида.

Обычно существует обратная зависимость между массой тела животного и скоростью метаболизма ксенобиотиков. Мелкие лабораторные животные, как правило, менее чувствительны к токсикантам, чем крупные.

Известно, что глюкуронидная конъюгация осуществляется у большинства млекопитающих, но почти не происходит у кошек. Ацетилирование ароматических аминов происходит у человека, кроликов и крыс, но отсут-

ствуется у собак. Глютаминовая конъюгация происходит у человека и шимпанзе, но отсутствует у других животных. Кролики легко выдерживают дозы атропина, в 100 раз превышающие смертельную дозу человека. Выяснено, что их кровь содержит специфическую эстеразу, которая гидролизует атропин, но она отсутствует в крови человека.

Животные, занимающие более высокое положение в эволюционном ряду, чувствительнее к большинству нейротропных препаратов, действующих преимущественно на центральную нервную систему. Так, высокие дозы фосфорорганических соединений на морских свинок действует в сотни раз сильнее, чем на лягушек.

Человек более чувствителен ко многим токсическим веществам, чем теплокровные животные. Он в 25 раз чувствительнее к действию серебра, чем крысы. К героину, морфину человек чувствительнее в десятки раз.

Не только доза, но и характер проявления токсического действия у различных видов не одинаковы. На собак морфин оказывает, как и на человека, наркотическое действие, а у кошек вызывает сильное возбуждение и судороги. Бензол у кроликов и человека угнетает кроветворную систему, но не оказывает такого действия на собак. Даже у человека и обезьян ответная реакция на одни и те же токсиканты может сильно различаться.

На биотрансформацию ксенобиотиков и проявление токсического эффекта оказывают влияние различные физиологические факторы – возраст, пол, беременность и др.

Молодняк более подвержен отравлению, чем взрослые животные. Это обусловлено недостаточным становлением микросомальной монооксигеназной системы. У новорожденных животных и человека цитохром P<sub>450</sub> отсутствует. У человека он достигает нормальной активности к концу второго месяца жизни, а у крыс – к 30 дню.

Способность новорожденных синтезировать конъюгаты значительно ниже, чем у взрослых. Поэтому многие токсиканты и фармацевтические препараты более токсичны для детей, и дозы лекарственных средств для детей устанавливаются ниже, чем для взрослых. Ребенок хуже переносит такие яды, как никотин, алкоголь, стрихнин, алкалоиды опия.

Метаболизм токсикантов и проявления токсичности зависят и от пола. Самки крыс более устойчивы к действию оксида углерода (II), ртути, свинца, наркотических и снотворных препаратов, тогда как самцы устойчивее к действию ФОС, соединений мышьяка, никотина, что связано со скоростью биотрансформации ядов в эндоплазматическом ретикулуме клеток печени.

На биотрансформацию ядов в сильной степени влияет гормональный фон организма. При беременности, особенно в конце ее, ухудшается глюкуронидная конъюгация ксенобиотиков, так как в организме накапливается женский половой гормон прогестерон, который ингибирует активность глюкуронидазы, что приводит к нарушению биотрансформации токсикантов.

На метаболизм ядов оказывают влияние также внешние условия (температура, влажность и др.), хотя деление условий на «внешние» и «внутренние» является довольно условным. Показано, что снижение барометрическо-

го давления усиливает токсическое действие оксида углерода (II). Повышение барометрического давления усиливает токсичность этилового спирта, некоторых пестицидов и наркотических средств. Ионизирующая радиация подавляет активность микросомальных ферментов, нарушает процессы гидроксилирования, угнетает глюкуронидную конъюгацию.

На биотрансформацию ксенобиотиков оказывают влияние такие «внешние» факторы, как рацион и наличие заболеваний. При дефиците в рационе белка и кальция возрастает токсичность аспирина и других лекарственных средств. При голодании усиливается токсичность барбитуратов, нарушается глюкуронидная конъюгация вследствие истощения запасов гликогена в печени. При различных заболеваниях (особенно патологии печени) наблюдается повышенная чувствительность к ксенобиотикам.

На процессы метаболизма ксенобиотиков могут влиять сами чужеродные соединения, оказывая в некоторых случаях стимулирующий или ингибирующий эффект. Так, например, фенobarбитал усиливает активность монооксигеназной микросомальной системы, увеличивает количество цитохрома P<sub>450</sub> и НАДН-цитохром-с-редуктазы за счет усиления скорости синтеза ферментов. При этом повышается скорость гидроксилирования, диметилирования, восстановления азосоединений и других микросомальных биотрансформаций.

Некоторые чужеродные соединения способны ингибировать микросомальную монооксигеназную систему, что приводит к усилению токсического действия. Механизм их действия изучен недостаточно. К таким веществам относятся, например, 4-диметиламиноазобензол, который ингибирует процессы детоксикации в печени.