

Лекция

Общие закономерности метаболизма токсических соединений.

Микросомальная цитохром P₄₅₀-содержащая монооксигеназная система

План.

1. Общие закономерности метаболизма токсикантов.
2. Токсификация ксенобиотиков.
3. Микросомальная цитохром P₄₅₀-содержащая монооксигеназная система.
4. Методы искусственной детоксикации.

Общие закономерности метаболизма токсикантов.

Метаболизм (биотрансформация) – это совокупность химических превращений токсического вещества в клетках живого организма.

Метаболитические изменения токсикантов зависит от наличия ферментов, которые катализируют их превращения. Некоторые токсиканты не подвергаются в организме биотрансформации, так как необходимые ферменты отсутствуют, и их индукция не происходит. Эти токсиканты метаболически инертны. Их поведение в организме определяется процессами всасывания, транспорта, накопления и выделения.

Гидрофильные токсиканты вследствие низкой способности проникать через липидные барьеры мембран практически не метаболизируются. С кровью они попадают в почки, фильтруются в первичную мочу и, не реабсорбируясь в почечных канальцах, выводятся с мочой.

Токсиканты с высокой липофильностью легко проникают через мембраны в клетки печени и другие метаболически активные органы и ткани, но незначительно подвергаются биотрансформации и плохо превращаются в полярные метаболиты. Они частично фильтруются в первичную мочу, но реабсорбируются в почечных канальцах, и поэтому долго удерживаются в организме.

Большая часть токсикантов – это токсиканты средней липофильности. Они подвергаются биотрансформации в печени, а затем выводятся из организма. Лишь незначительная их часть попадает в системный кровоток и оказывает токсический эффект.

Многие ферменты, необходимые для биотрансформации ксенобиотиков, отсутствуют в организме. В этих случаях ксенобиотики инициируют синтез необходимых ферментов. Этот процесс называется индукцией ферментов, а ферменты - индуцированными ферментами. Способностью индуцировать ферменты обладают ядохимикаты, многие токсические вещества и лекарственные средства – барбитураты, анальгетики, анестетики. Этим можно объяснить привыкание человека и животных к некоторым лекарственным средствам и токсическим веществам. Например, первичное введение собакам фенилбутазона вызывает сильную интоксикацию. При повторном введении этого препарата токсический эффект менее выражен.

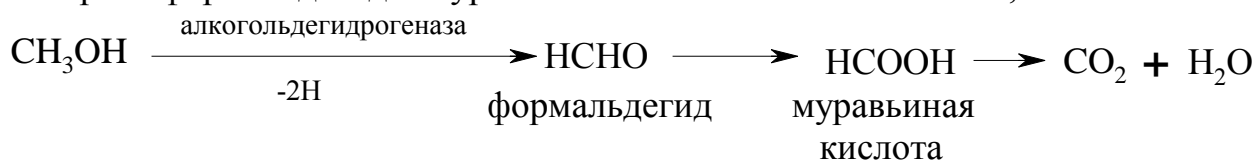
Индукцированные ферменты часто способствуют превращению других близких по строению к токсиканту веществ. Например, введение в организм пентабарбитурата вызывает усиление метаболизма всех барбитуратов и даже

препаратов, не относящихся к этой группе. Однако токсиканты могут быть не только индукторами, но и ингибиторами ферментов биотрансформации.

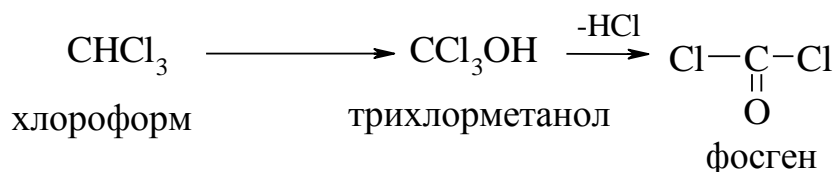
В целом биотрансформация – детоксикационный процесс, но может происходить и усиление токсических свойств – токсификация, или метаболическая активация.

Токсификация ксенобиотиков. В ряде случаев метаболиты оказывают более сильный токсический эффект, чем исходные ксенобиотики. Это явление называется токсификация, а в случае резкого усиления токсичности (иногда в десятки раз) - летальный синтез.

Примером является биотрансформация метилового спирта, метаболиты которого формальдегид и муравьиная кислота более токсичны, чем метанол.



В результате метаболизма хлороформа образуется токсичное вещество фосген, который использовался в качестве БОВ:



Иногда токсификация возникает в результате синтеза летальных молекул, нарушающих естественные метаболические пути. При отравлении фторэтанолом в результате метаболизма образуется более токсичный фторацетат, который включается в цикл Кребса и в результате синтезируется фторлимонная кислота. Фторлимонная кислота блокирует фермент аконитатгидратазу, катализирующий вторую стадию цикла Кребса (превращение лимонной кислоты в изолимонную), и цикл Кребса останавливается.

Метаболиты, вызывающие эффект токсификации, обычно являются либо свободными радикалами, либо электрофильными частицами. Свободнорадикальные короткоживущие метаболиты генерируют образование активных форм кислорода, инициируют перекисное окисление ненасыщенных жирных кислот, нарушают течение естественных метаболических процессов. Электрофильные метаболиты ковалентно взаимодействуют с нуклеофильными функциональными группами белков, нуклеиновых кислот и других биологически важных молекул.

Принцип метаболической активации позволяет объяснить и иммунологический эффект низкомолекулярных токсикантов. Связывание метаболитов с белками приводит к образованию естественных конъюгированных антигенов и синтезу к ним антител, что приводит к развитию аутоиммунных реакций, проявляющихся в виде гломерулонефрита, острого интерстициального нефрита, гепатита.

Чаще всего реализуются следующие варианты действия образовавшихся метаболитов на организм.

1) Токсическое действие и образование активных метаболитов происходит в одном органе. К таким веществам относятся ароматические амины (бензидин, α -нафтиламин), галогеналканы (CCl_4 , CHCl_3). Образование активных метаболитов и повреждающее действие происходит в клетках печени, т.е. там, где происходит биотрансформация.

2) первичное превращение токсических веществ происходит в одном органе, а биотрансформация метаболитов - в других органах. Например, при первичном метаболизме бензола в печени образуются гидрохиноны, которые в клетках костного мозга превращаются в активные хиноны, повреждающие мозг.

3) Орган вообще не участвует в биотрансформации ксенобиотиков, но очень чувствителен к продуктам их метаболизма. Это периферические нервные стволы, практически не содержащие ферментов биотрансформации ксенобиотиков, легкие, где такая биотрансформация происходит довольно интенсивно. Общим является то, что органы не могут метаболизировать данное химическое соединение. Так, например, этиленгликоль метаболизируется в печени, а его активный метаболит оксалат повреждает почечные каналы. Биотрансформация гексана происходит в печени, а активный метаболит 2,5-дикетон повреждает клетки нервных стволов.

Микросомальная цитохром P₄₅₀-содержащая монооксигеназная система – это универсальная система, присутствующая в каждой клетке, и в которой осуществляется метаболизм ксенобиотиков. Эта система осуществляет так называемое свободное, то есть несопряженное с фосфорилированием, окисление субстратов без образования АТФ. Биологическая роль свободного окисления состоит в метаболизме ксенобиотиков и токсических веществ. Микросомальная система осуществляет не только метаболизм ксенобиотиков (лекарственных средств, канцерогенов), но и эндогенных субстратов (стероидных гормонов, тироксина, простагландинов, факторов роста, нейротрансмиттеров, жирных кислот, биогенных аминов, лейкотриенов).

Монооксигеназная микросомальная система располагается в шероховатом эндоплазматическом ретикулуме. Поверхность шероховатого ретикулума, обращенная к цитоплазме, усеяна рибосомами, где происходит биосинтез ферментов оксигеназ, участвующих в метаболизме ксенобиотиков.

Оксигеназами называют группу ферментов, активирующих молекулярный кислород, а затем внедряющих один или два атома кислорода в различные субстраты. Ферменты, внедряющие один атом кислорода, – монооксигеназы, два – диоксигеназы. Поэтому процесс получил название монооксигеназного, а ферменты стали называть оксидазами со смешанной функцией, микросомальными монооксигеназами, ферментами свободного окисления. Микросомальной этой системы называется потому, что в электронном микроскопе обрывки мембран эндоплазматического ретикулума видны как шарики (микросомы).

Основным звеном микросомальной оксигеназной системы является цитохром P₄₅₀. Он состоит из апофермента (белковой части) и протетической группы (гема). Обычно железо гема находится в степени окисления +3 (Fe^{3+}),

связывая лиганды (кислород), оно восстанавливается до Fe^{2+} . Гем переводит молекулярный кислород из неактивной формы в активную и использует его в реакциях окисления. Гем цитохрома P₄₅₀ работает в составе окислительно-восстановительной цепи, поставляющей необходимые для активации кислорода электроны. Апофермент выполняет регуляторную функцию и может связывать сотни разных ксенобиотиков и эндогенных веществ.

Известно около 400 изоформ этого фермента, кодируемых различными генами. Они различаются по молекулярной массе, субстратной специфичности, скорости ферментативных реакций, спектральным характеристикам (P-450, 451, 449 нм и др.). Каждый токсикант метаболизируется определенной изоформой или различными изоформами, то есть наблюдается перекрывающаяся субстратная специфичность. Этот генетический полиморфизм объясняет разную индивидуальную чувствительность к различным токсикантам и лекарственным средствам. Например, некоторые β -блокаторы, антиаритмические препараты, антидепрессанты по-разному метаболизируются различными изоформами и не одинаково действуют на организм.

Цитохромы P₄₅₀ подразделяются на конституитивные и индуцибельные. Конституитивные продуцируются постоянно, индуцибельные – по мере необходимости при попадании в организм чужеродных и токсических веществ. Это значительно усиливает детоксикационную функцию организма.

В микросомах находятся ферментные системы окисления веществ. Они представлены двумя короткими цепями переноса электронов и протонов, смонтированных в мембране эндоплазматической сети или микросом.

Основной является монооксигеназная цепь окисления, в которой источником электронов и протонов является восстановленный НАДФН. Другая цепь – редуктазная цепь окисления, в которой поставщиком протонов и электронов служит восстановленный НАДН.

Монооксигеназная цепь является универсальной системой окисления липофильных соединений любого происхождения, так как основное ее звено цитохром P₄₅₀ встроен в липидный слой мембран. Монооксигеназная цепь окисления окисляет более 10 000 различных соединений. Однако универсальность монооксигеназной цепи, ее способность нейтрализовать огромное количество токсических веществ имеет обратную сторону. Своеобразной платой за эту универсальность является эффект токсификации, когда в процессе биотрансформации образуются более токсичные метаболиты. Так, не токсичный бензипирен окисляется монооксигеназной цепью до гидроксипирена, являющегося канцерогеном.

НАДН-зависимая редуктазная цепь имеется в мембранах эндоплазматического ретикулума, в наружной мембране митохондрий, ядерной мембране, клеточной мембране эритроцитов.

В сравнительно небольших размерах биотрансформация токсических веществ может происходить и в других клеточных структурах: лизосомах, митохондриях, пероксисомах.

Механизм микросомального окисления ксенобиотиков у высших животных и человека дополняется иммунологическими механизмами нейтрали-

зации. В большинстве случаев токсиканты являются низкомолекулярными соединениями, не способными вызвать полноценный иммунологический ответ образованием антител. С помощью цитохрома P₄₅₀ происходит синтез специфических антигенов - гаптенов, в котором роль антигенной детерминанты выполняет метаболит токсического вещества. Они вызывают появление циркулирующих в крови антител со специфически активными центрами, взаимодействующими с антигенами – ксенобиотиками.

Примерно две трети от общего количества токсических веществ метаболизируются и нейтрализуются в печени. Поэтому от состояния этого органа во многом зависит развитие токсического эффекта. Вследствие истощения запасов гликогена в печени её детоксицирующая роль значительно ослабляется. Затем по степени участия следуют желудочно-кишечный тракт, почки, легкие, кожа. Активность микросомальных ферментов в почках примерно в 100 раз ниже, чем в печени. В коже максимальная степень биотрансформации наблюдается в эпидермисе. Цитохром P₄₅₀ обнаружен в эндоплазматическом ретикулуме эпителиальных клеток трахеи и бронхов. В селезенке микросомальная монооксигеназная система обеспечивает распад гема. В клетках селезенки содержится цитохром P₄₅₀ и НАДН-цитохром С-редуктаза, участвующая в метаболизме геминных структур.

Перегрузка микросомальной монооксигеназной системы ведет к повышению внутриклеточной концентрации липофильных регуляторов метаболизма (гормонов, простагландинов и др.). Монооксигеназная система не успевает разрушить их с необходимой скоростью. Это приводит к усилению их действия и способствует ускоренному росту и развитию. По мнению некоторых ученых именно такой механизм лежит в основе наблюдаемого в последнее время феномена акселерации.

Так как организм стремится компенсировать слабости микросомальной системы за счет иммунных реакций, то возможно развитие различных аллергических состояний. Поэтому широкое распространение последних также может быть связано с перегрузкой монооксигеназной цитохром P₄₅₀-зависимой микросомальной системы.

Методы искусственной детоксикации

Если монооксигеназная цитохром P₄₅₀-зависимая микросомальная система не справляется с детоксикацией, прибегают к методам искусственной детоксикации. К ним относятся гемодиализ, гемофорез, плазмасорбция и некоторые другие. *Гемодиализ* используется в ранней токсикогенной стадии отравления. Он основан на способности токсических веществ диффундировать из крови через полупроницаемую мембрану в диализирующую жидкость. Его используют при тяжелых отравлениях соединениями тяжелых металлов, барбитуратами, метанолом, дихлорэтаном, этиленгликолем. Гемодиализ проводят с помощью аппарата «искусственная почка».

Гемосорбция. Метод основан на сорбции токсических соединений твердыми сорбентами - ионообменными смолами (иониты) или активированным углем, покрытыми белками сыворотки крови или специальными синтетическими пленками.

Лимфодиализ и лимфосорбция основаны на очищении лимфы от токсических веществ с помощью диализа в аппарате «искусственная почка» или методом лимфосорбции на поверхности твердой фазы. Метод позволяет предупредить возможную потерю белков, липидов и электролитов.

Из методов естественной детоксикации широко используется форсированный диурез с последующим подщелачиванием с целью усиления выведения токсических веществ через почки. Он заключается во введении больших объемов физиологического раствора или 4,5% раствора глюкозы с последующим применением диуретиков (мочевина, фуросемид и др.). Его проводят при отравлении барбитуратами, морфином, хинином, дихлорэтаном, солями тяжелых металлов и другими веществами, выводимыми через почки.

Детоксикация с использованием антидотов. Антидоты – химические соединения, которые нейтрализуют действие яда; являются антагонистами токсикантов. Химическими антидотами являются хелатирующие вещества, используемые при интоксикации тяжелыми металлами - ЭДТА и димеркаптопропанол. В результате взаимодействия с ними образуются водорастворимые малотоксичные комплексы, легко выделяющиеся через почки. К числу химических антидотов относятся также иммунные сыворотки, содержащие антитела, связывающие токсины (ботулотоксин, сердечные гликозиды и др.). Биохимические антидоты препятствуют взаимодействию токсикантов с мишенями или способствуют разрушению уже образовавшихся связей. Так, например, при отравлении угарным газом антидотом будет кислород. Однако вследствие того, что сродство оксида углерода (II) к гемоглобину намного выше, хороший эффект получают при гипербарической оксигенации, что значительно увеличивает связывание кислорода с гемоглобином. Также биохимическими антидотами являются реактиваторы холинэстеразы, которые разрушают обратимый комплекс ФОС с ферментом, т.е. фосфорилируют холинэстеразу. К таким химическим веществам относятся пралидоксим (2 ПАМ). Аналогичным действием обладает атропин, который блокирует холинорецепторы.

Физиологические антидоты используются, как правило, при отравлении нейротоксическими ядами, которые нарушают проведение нервных импульсов в центральных и периферических синапсах. Метаболические антидоты усиливают превращение, если в результате образуются менее токсичные соединения, или ослабляют, если образуются более токсичные соединения. В качестве метаболических антидотов могут быть использованы индукторы и ингибиторы микросомальных ферментов, активаторы процессов конъюгации. К ним относятся тиосульфат натрия, который активировывает процессы биотрансформации цианидов в гораздо менее токсичные тиоцианаты. Метиловый спирт под действием ферментов алкогольдегидрогеназы (АДГ) и альдегиддегидрогеназы (АлДГ) превращается в более токсичные продукты – формальдегид и муравьиную кислоту. В качестве противоядия используется этиловый спирт, который имеет большее сродство к указанным ферментам, в результате чего ферменты метаболизируют этиловый спирт, оставляя метиловый спирт в нативном состоянии, и его токсичность снижается.