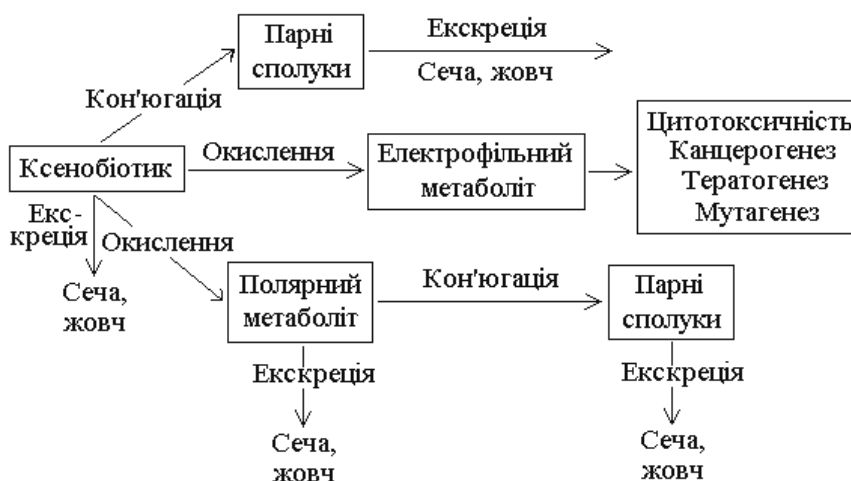


МЕТАБОЛІЗМ КСЕНОБІОТИКІВ

Ксенобіотики - це речовини, що надходять в організм з навколишнього середовища і не використовуються ним у якості джерел енергії, пластичних матеріалів чи каталізаторів. Вони можуть потрапити в організм з їжею, напоями, через шкіру або з повітрям під час дихання.

Протягом еволюції живі організми завжди зустрічались з чужорідними речовинами, тому виникли особливі системи для їх знешкодження. Останнім часом значення проблеми ксенобіотиків суттєво зросло. В навколишнє середовище, отож і в організм людини, надходить величезна кількість штучно створених сполук. Їх умовно поділяють на три групи:



- 1) продукти промисловості, сільського господарства, транспорту;
- 2) побутова хімія (миючі засоби, інсектициди, парфюмерія);
- 3) більшість лікарських засобів.

Живі істоти не здатні відокремити домішки чужорідних сполук від поживних речовин при їх

сумісному надходженні, але організм має здатність звільнитись від шкідливих речовин. Не всі ксенобіотики індиферентні для організму людини - серед них є і агресивні сполуки. На сьогодні хімічне забруднення розглядають як головну причину скорочення життя людей, тоді як ще недавно головною причиною передчасної смерті людей була інфекційна агресія. Вважають, що більше 90% пухлин у людини після 50 років викликані хімічним забрудненням.

Процеси, що ведуть до зниження концентрації певної речовини в крові, органах та тканинах називають **елімінацією**. Елімінація може здійснюватись шляхами:

- **екскреції** – виведення ксенобіотиків з організму з сечею чи жовчю (фекаліями). З сечею виводяться переважно водорозчинні речовини з низькою молекулярною масою, тоді як із жовчю в більшій мірі виводяться гідрофобні речовини, маса яких перевищує 500 дальтон.

- **біотрансформації (метаболізму)** – хімічного перетворення молекули ксенобіотика на водорозчинну сполуку. Це відбувається завдяки окисленню чи відновленню та (або) кон'югації ксенобіотика з полярними сполуками. Утворені метаболіти виводяться шляхом екскреції.

Біологічний сенс явища біотрансформації – це переведення речовини в форму, зручну для екскреції, і тим самим, скорочення терміну її дії на організм. В метаболізмі ксенобіотиків задіяні близько 30 ферментів, що забезпечують перебіг **трьох фаз**:

Перша фаза - модифікація, завдяки якій створюються або вивільняються функціональні групи шляхом окислення чи відновлення. Друга фаза - кон'югація – приєднання до проміжних метаболітів певних ендогенних молекул. Третя фаза – елімінація ксенобіотиків чи їх метаболітів з клітини.

Фактори, що впливають на метаболізм ксенобіотиків

1. **Вікові особливості.** Чутливість до впливу ксенобіотиків змінюється протягом життя. У новонароджених в перший місяць має місце недостатність багатьох ксенобіотик-метаболізуючих ферментів, слабкість функції нирок, підвищена проникність гематоенцефалічного бар'єру. Тому новонароджені більш чутливі до таких речовин як

морфін, левоміцетин та ін. У літньому віці метаболізм ксенобіотиків сповільнюється: знижується функціональна активність печінки та швидкість екскреції нирками. Тому чутливість до більшості лікарських засобів підвищується, в зв'язку з чим їх доза повинна бути зменшена.

2. **Генетичні чинники.** Індивідуальні відмінності в метаболізмі ксенобіотиків і в реакціях на лікарські препарати пояснюють генетичним поліморфізмом, тобто існуванням в популяції різних варіантів (лізоформ) ферментів біотрансформації. Наприклад, при генетичній недостатності холінестерази плазми крові тривалість дії міорелаксанту дитіліну різко зростає і може досягати 6-8 год. і більше (в звичайних умовах дитілін діє протягом 5-7 хв).

3. **Статеві відмінності.** Встановлено, що активність ензимів метаболізму ксенобіотиків, особливо монооксигеназ, в значній мірі регулюють статеві гормони. Самці тварин швидше метаболізують такі речовини як гексабарбітал, амінопірин, амінофенол, водночас анілін та його аналоги трансформуються з однаковою швидкістю у тварин обох статей. У людини статевий диморфізм менш виразний, але також має місце.

4. **Чинники навколишнього середовища.** Істотний вплив на метаболізм ксенобіотиків справляють іонізуюча радіація, склад їжі, інші ксенобіотики, у тому числі і лікарські речовини.

Індуктори та інгібітори ферментів метаболізму ксенобіотиків

Особливістю більшості ферментів біотрансформації ксенобіотиків, є їх здатність до індукції. **Індукція ферментів** – це посилення синтезу молекул фермента при надходженні субстратів цього ферменту в організм. Отже, коли чужорідні сполуки потрапляють до організму, починається прискорений синтез відповідних ферментів **як першої, так і другої фаз**. Біологічне значення цього явища зрозуміле – організм приймає заходи для найшвидшого видалення чужорідної речовини. Ефект індукції лежить в основі явища послаблення дії лікарських засобів при їх тривалому використанні. Це так званий „ефект Мітрідата”, - царя античних часів, який систематично вживав невеличкі дози отрут, щоб запобігти гострому отруєнню. В результаті, він мусив скористатися мечем, щоб уникнути ганебного полону – жодна отрута не приносила йому бажаної смерті.

Кожний тип ксенобіотик-метаболізуючих ферментів має свої індуктори, серед яких найбільш відомими є барбітурати, стероїдні гормони, поліциклічні вуглеводні (бензпірен, метилхолантрен), етиловий спирт, ацетон, тютюновий дим. Лікарю необхідно враховувати явище індукції ферментів метаболізму ксенобіотиків призначаючи лікування: наприклад, снодійні препарати вже через лічені дні втрачають здатність викликати сон, а щоб приспати алкоголіка потрібно в декілька разів збільшити дози засобів для наркозу.

Існує велика кількість речовин-**інгібіторів**, здатних пригнічувати активність ферментів, метаболізуючих ксенобіотики. За механізмом дії речовини-інгібітори поділяють на декілька груп:

- **конкурентні** (альтернативні субстрати). Наприклад, етанол - інгібітор метаболізму метанолу чи етиленгліколю (спирти метаболізуються ферментом алкогольдегідрогеназою); нікотинамід пригнічує N-деметилування амінопірину;

- **неконкурентні** (пригнічують активність ензиму, модифікуючи останній). Так, дисульфірам (антабус), інгібітор альдегіддегідрогенази, обумовлює зростання вмісту ацетальдегіду і, відповідно, токсичну реакцію у людини, яка вживає етанол. Цей ефект використовується для лікування алкоголізму.

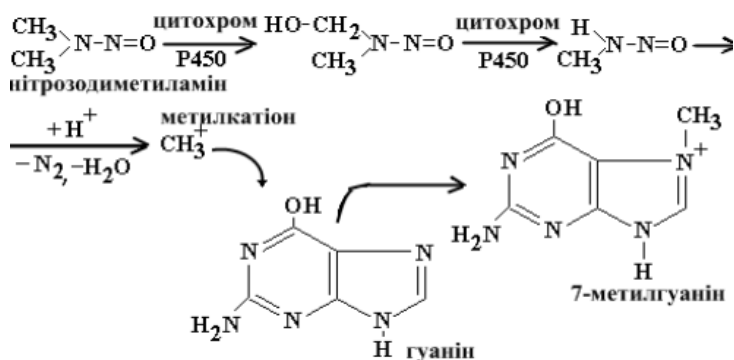
- **інгібітори синтезу кофакторів або простетичних груп ензимів**. Наприклад, кобальт блокує синтез гему, який є коферментом цитохромів.

Серед інгібіторів ферментів, метаболізуючих ксенобіотики багато лікарських препаратів. Наприклад, левоміцетин і бутадіон пригнічують активність ферментів окислення .

Метаболічна активація ксенобіотиків.

Біотрансформація веде, як до втрати ксенобіотиками своєї біологічної активності, так і до її посилення. Якщо токсичність метаболіту є нижчою ніж у вихідної речовини то говорять про **детоксикацію** чи **інактивацію** ксенобіотика. Якщо ж токсичність метаболіту перевищує токсичність вихідної речовини то говорять про **метаболічну активацію** чи **токсифікацію**.

В багатьох випадках метаболіт не є стабільним продуктом і потребує подальшого перетворення. Його ще називають **реактивним** метаболітом. Саме реактивні метаболіти відповідають за токсичні ураження клітин. Загальною властивістю більшості реактивних метаболітів є їх електронodefіцитний стан (тобто, вони є органічними катіонами). Завдяки високій електрофільності такі метаболіти реагують з багатими на електрони нуклеофільними молекулами – білками та нуклеїновими кислотами, окислюють їх або



приєднуються до них ковалентними зв'язками. На рисунку представлені реакції метаболічної активації **нітрозодиметиламіну**, одного з найсильніших канцерогенів. В процесі окислення та деметилювання за участю цитохрому P450 нітрозодиметиламіну і

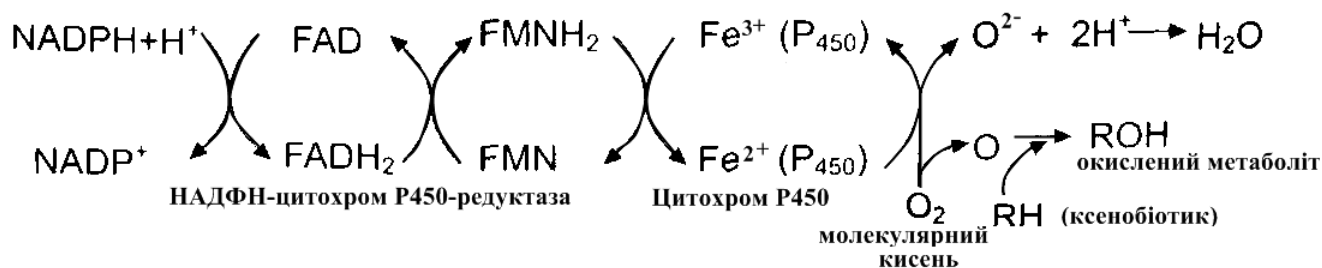
перегрупування утвореного продукту, вивільнюється електрофільний метаболіт - карбкатион, який атакує неподілені пари електронів атомів азоту в нуклеотидах ДНК і алкілює їх, перетворюючи гуанін на 7-метилгуанін. Зміна структури ДНК – це мутація і може привести до виникнення пухлини.

Так, наприклад в реакції окислення хлороформ (засіб для наркозу), він перетворюється на бойову отруйну речовину - фосген, а анальгетик парацетамол – на N-ацетилпарабензохінонімін, який викликає некроз печінки. До речовин, здатних утворювати токсичні метаболіти відносяться канцерогени (бензпірен, нітрозаміни), мутагени, гепатотоксини. Утворення токсичних метаболітів може відбуватись і в реакціях кон'югації II фази, але рідше, ніж в реакціях I фази.

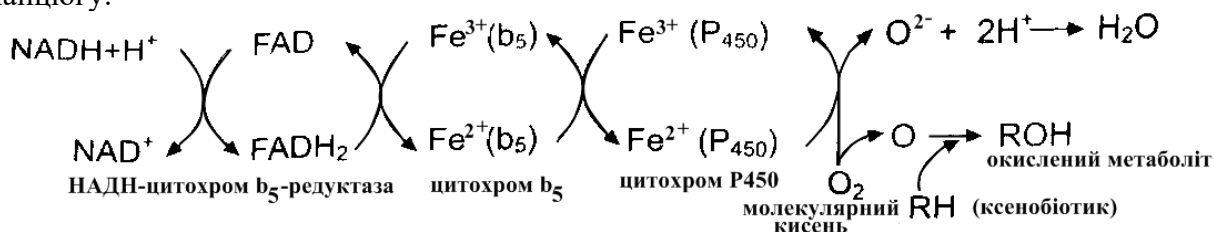
Перша фаза метаболізму ксенобіотиків

Більшість реакцій першої фази метаболізму ксенобіотиків відбувається в ендоплазматичному ретикулумі (ЕР) печінки, легенів, слизової оболонки тонкої кишки – **“бар'єрних”** органів, які стоять на шляху проникнення ксенобіотиків в організм. Найбільш потужною є система цитохрому P450, яку називають **мікросомальною монооксигеназною системою** (мікросоми це тільки які утворюються з мембран ендоплазматичного ретикулуму в процесі гомогенізації тканин). Вона включає кілька білків, об'єднаних у два електронно-транспортні ланцюги, в яких цитохром P450 є головним діючим елементом. Цитохром P450 безпосередньо передає електрони на молекулу кисню і є монооксигеназою, тобто ферментом, що впроваджує в субстрат один атом кисню з двоатомної його молекули .

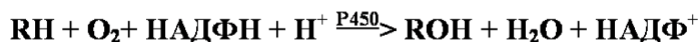
До складу **першого ланцюга** входить НАДФН-цитохром P450-редуктаза, фермент який переносить електрони і протони від НАДФН на флавінові коферменти (ФАД і ФМН). Електрони від ФМН₂ переходять на цитохром P450, який віддає їх на кисень (відновлює його). При цьому молекула кисню (O₂) дисоціює, атомарний кисень (O) впроваджується в молекулу ксенобіотика за участю цитохрому P450, а іон кисню (O²⁻) після взаємодії з протонами утворює молекулу води.



Другий ланцюг розпочинається з НАДН-цитохром- b_5 -редуктази. Фермент переносить електрони і протони від НАДН на ФАД. Утворений ФАДН₂ віддає електрони на цитохром b_5 , який далі їх транспортує на цитохром Р-450. Далі все повторюється як у попередньому ланцюгу.



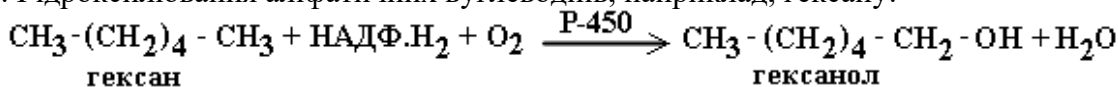
Сумарне рівняння реакції мікросомального окислення за участю цитохрому Р450 таке:



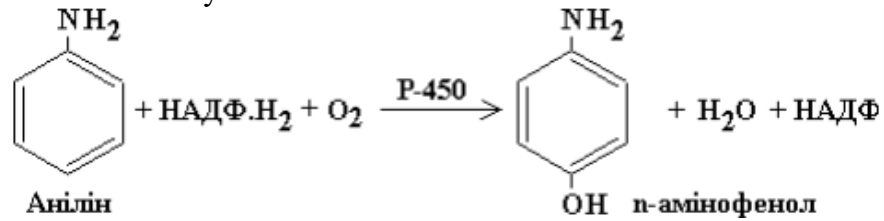
Цитохром Р-450 належать до гемопротейнів, а точніше до гемотіолатних білків, оскільки його простетична група зв'язана з залишком цистеїну білкового ланцюга через координаційний зв'язок атому гемового заліза. Свою назву він отримав тому, що його комплекс з СО поглинає світло при довжині хвилі 450 нм. Цитохром Р450 - це група білків, яка налічує більше 300 сімейств та підсімейств і більше 2000 окремих білків. У людей нараховується 57 генів та 58 псевдогенів різних ізоформ цитохрому Р450. Ізоформи між собою відрізняються за будовою апоферменту (білкової частини). Вважають, що цитохром Р450 був першим ферментом у аеробів, які започаткували використання кисню (це відбулось більше 1,2 млрд. років). Поява множинних форм можливо відбулись 400 млн. років тому назад, як наслідок боротьби між рослинами та тваринами (рослини синтезували алкалоїди для захисту від поїдання тваринами, а тварини утворювали ферменти, що знешкоджували ці алкалоїди). Субстратами цитохромів Р450 є не лише ксенобіотики, але і ендogenous речовини – холестерол, стероїдні гормони, жовчні кислоти, вітамін Д, жиророзчинні вітаміни, спирти, жирні кислоти, ейкозаноїди. Основний вклад в метаболізм ксенобіотиків вносять цитохроми Р450 підсімейств СYP 1A, 2A, 2B, 2C, 2D, 2E та 3A. Більшість лікарських засобів в організмі людини та тварин метаболізуються ферментами цих підсімейств. Найбільша активність ферменти цитохрому Р450 проявляють в печінці, легенях, нирках, слизовій кишечника. В серці, м'язах та мозку вони відсутні. Слід вказати, що не завжди окислення ксенобіотиків це благо для організму, адже нерідко утворюються реакційно-здатні електрофільні метаболіти, які пошкоджують білки, нуклеїнові кислоти і стають причиною цитотоксичності, мутагенезу, канцерогенезу, автоімунних реакцій. Більшість канцерогенів (бензопірен, діоксин, нітрозаміни) набувають здатності викликати переродження клітин завдяки їх окисленню цитохромами Р450.

Монооксигенази залежні від цитохрому Р450 каталізують широке коло реакцій: а) ароматичне та гетероциклічне гідроксилювання і N-, S-, чи P-окислення; б) епоксидацію; в) N,O,S-деалкілювання; г) десульфування та дегалогенування; д) відновлення; е) розщеплення складних ефірів та інші реакції. Розглянемо декілька прикладів цитохром Р-450 – залежних реакцій.

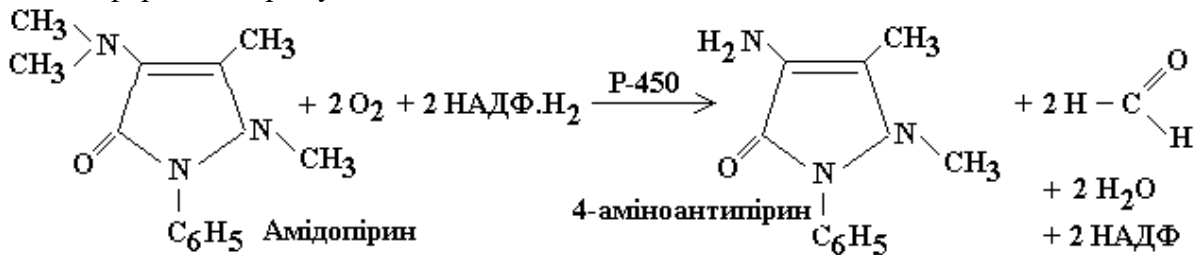
1. Гідроксилювання аліфатичних вуглеводнів, наприклад, гексану:



2. Гідроксилювання аніліну:



3. Деалкілювання (видалення метильних груп) амідопірину. З амідопірину утворюється кілька метаболітів, серед них найбільше - 4-аміноантипірину. Амідопірин використовується не тільки як засіб від головного болю чи жару, але і у якості тест-препарату: якщо людині (тварині) ввести амідопірин, а потім визначити, яка частина його перетворилась на 4-аміноантипірин, можна оцінити загальну N-деметилазну активність відповідних форм цитохрому P450.



Частина реакцій I фази каталізуються не цитохром P450, а іншими ферментами:

1. Окислення пуринів (ксантинооксидаза) та амінів (моно- та діамінооксидази), відновлення альдегідів (альдегідредуктази), деякі реакції N-, S- та P-окислення (флавінвімісні монооксигенази).

2. Простагландинсинтезазні реакції утворення простагландинів з арахідонової кислоти.

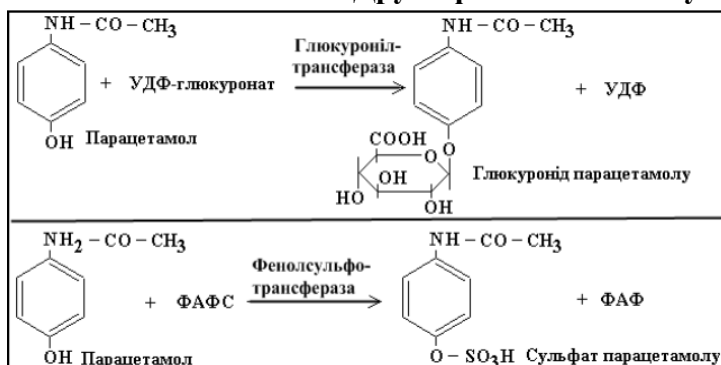
3. Алкогольдегідрогеназна реакція, забезпечує окислення спиртів до альдегідів.

4. Альдегіддегідрогеназна реакція, каталізує окислення альдегідів до кислот.

5. Естеразна, в якій відбувається гідроліз складних ефірів за участю естераз. Під їх впливом руйнуються такі лікарські засоби як новокаїн, анестезин, аспірин, та ін.

Активність естераз у деяких осіб генетично може бути дуже низькою, тому їм не слід застосовувати сукцинілдихолін (препарат з властивостями отрути кураре), який викликає зупинку дихання. При низькій активності фермента руйнування сукцинілдихоліну сповільнюється, що може викликати передозування і загибель хворого.

Друга фаза метаболізму ксенобіотиків



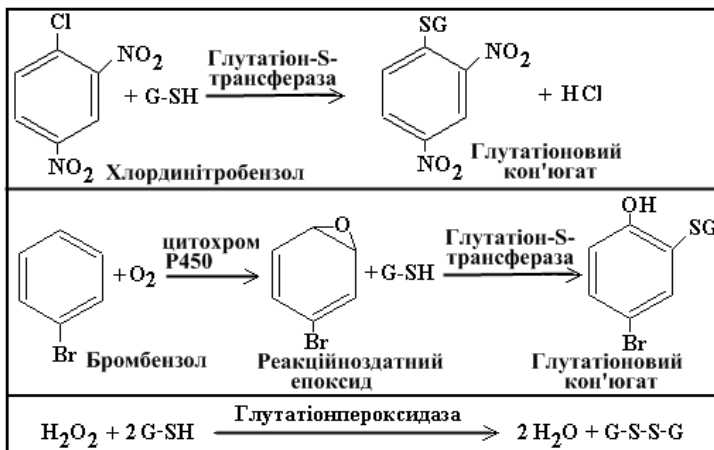
Всі ферменти II фази належать до класу трансфераз. Вони переважно знаходяться в цитоплазмі клітин, за винятком глюкуронілтрансфераз та ацилтрансфераз, які зосереджені в ЕПР та мітохондріях. Вони метаболізують лише ті сполуки, які мають функціональні групи. На відміну від ензимів I фази,

трансферази: а) функціонують у всіх клітинах; б) в більшості випадків завершують детоксикацію, але можуть і починати її.

1. Кон'югація з активною формою **глюкуронової кислоти** – УДФ-глюкуронатом каталізується УДФ-глюкуронілтрансферазою.

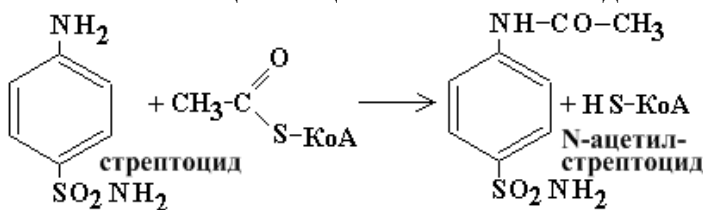
2. Кон'югація з активною формою **сірчаної кислоти** – фосфаденозин-5-фосфосульфатом (ФАФС) каталізується ферментом фенолсульфотрансферазою. Шляхом зв'язування з глюкуроною чи сірчаною кислотами знешкоджуються ксенобіотики фенольної та аміної природи. Розглянемо це на прикладі парацетамолу:

Знешкодженню за участю глюкуронової та сірчаної кислот піддаються також речовини ендogenous походження. Наприклад, прямий білірубін – це глюкуронідний кон'югат білірубину, а індикан – кон'югат індолу з сірчаною кислотою. У вигляді сульфатних чи глюкуронідних метаболітів з сечею виводяться стероїдні гормони наднирників та статевих залоз.



особливо токсичних ксенобіотиків. Відновлений глутатіон має вільну HS-групу, яка безпосередньо бере участь, наприклад, в реакціях знешкодження хлординітробензолу та реакційно здатного епоксидного метаболіта бромбензолу. Глутатіон також захищає клітину і від токсичної дії пероксиду водню. Ця реакція здійснюється за допомогою фермента – глутатіонпероксидази.

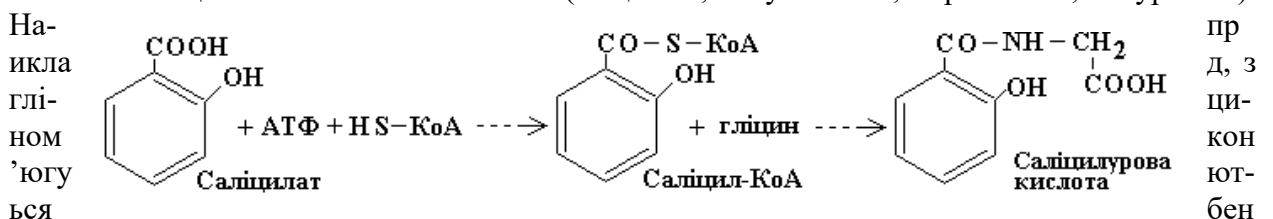
4. Кон'югація з ацетил-КоА. Знешкодження ароматичних амінів - сульфаніламідів, протитуберкульозних засобів (ПАСК, ізоніазид), відбувається таким шляхом. Тривалість дії цих препаратів залежить від швидкості їх ацетилювання – чим вища швидкість, тим коротшою буде лікувальна дія. За здатністю до ацетилювання люди діляться на швидких і повільних ацетиляторів.



3. **Кон'югація з глутатіоном** каталізується групою ферментів зі спільною назвою глутатіон-S-трансферази. В цих реакції за допомогою відновленого глутатіону відбувається знешкодження реакційно здатних метаболітів та

Встановлено, що у повільних ацетиляторів часто розвиваються токсичні реакції на протитуберкульозний препарат ізоніазид. Тому перед застосуванням необхідно визначити швидкість його ацетилювання організмом хворого і провести корекцію дози препарату.

5. Кон'югація з амінокислотами (гліцином, глутаміном, орнітином, таурином).



зойна та саліцилова кислоти, аспірин:

6. Метилювання за участю S-аденозилметіоніну (SAM). Метилюванню підлягають адреналін, норадреналін, амфетамін, ефедрин та ін. В цій реакції SAM перетворюється на S-аденозилгомоцистеїн (SAH). Сумарне рівняння реакції: **SAM + ROH \rightarrow ROCH₃ + SAH**

Третя фаза метаболізму ксенобіотиків. Білки транспортери.

Третя фаза метаболізму полягає в виведенні ксенобіотиків з клітини спеціальними транспортними білками з використанням енергетично залежних реакцій. Головними функціями цих білків є транспорт метаболітів ліпідів, жовчних кислот, токсичних речовин, пептидів, антигенів. У людини на сьогодні відомо 48 транспортних білків, які за природою є глікопротеїнами. Найбільш відомим є Р-глікопротеїн, також відомий як MDR-1 (білок множинної лікарської резистентності), ланцюг якого складається з 1280 амінокислот і утворює 12 трансмембранних доменів та два АТФ-зв'язуючих центри. Функція Р-глікопротеїну полягає в екскреції іонів хлору та гідрофобних сполук, деяких протипухлинних засобів. Ще один транспортний білок (MRP-1) забезпечує елімінацію

алкоголю. Вважається, що ендогенний етанол причетний до регуляції емоційного статусу людини.