

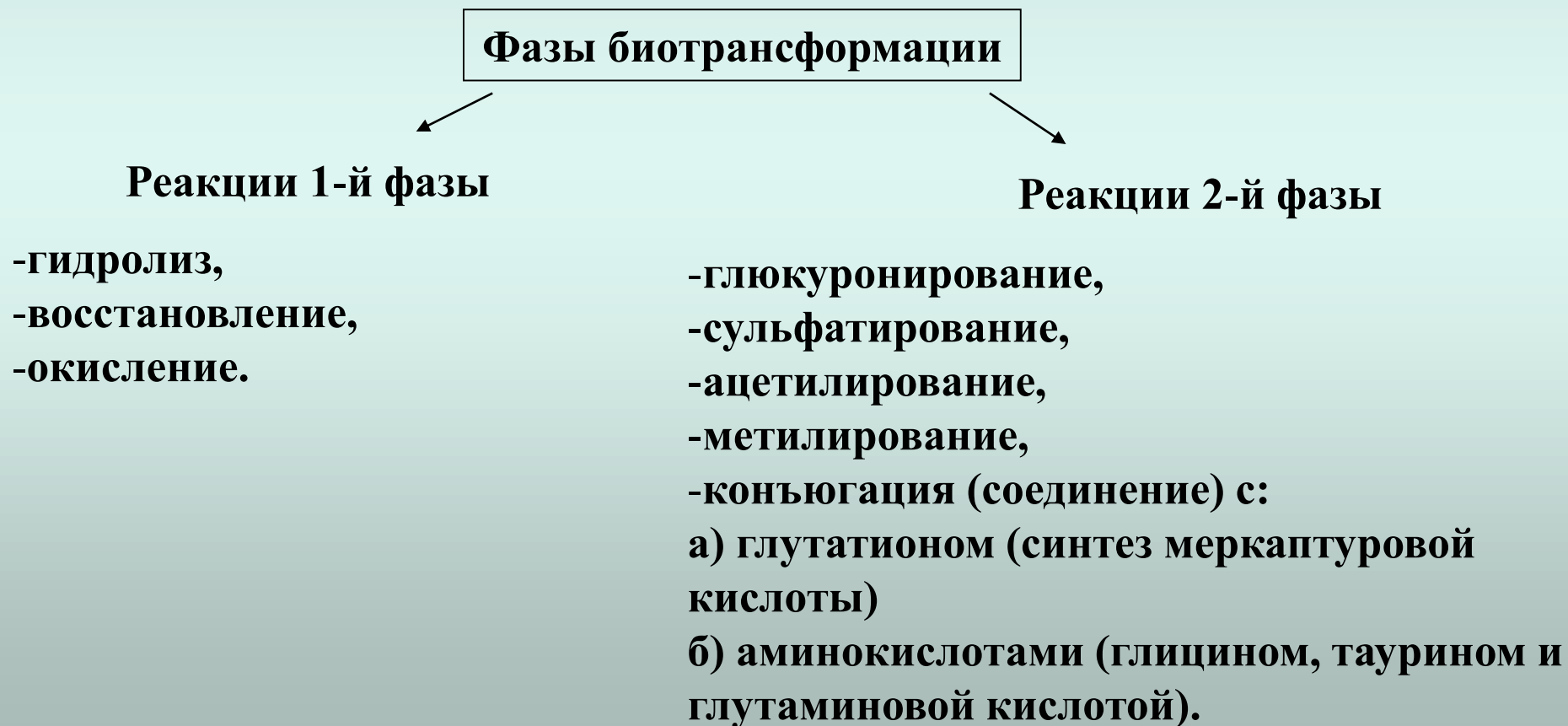
ЛЕКЦИЯ № 2.

Биотрансформация ксенобиотиков в организме. Метаболиты и токсичность.

Представление о вторичном метаболизме. Летальный синтез..

Термин «**метаболизм**» включает описание всех этапов (абсорбция, распределение, накопление, биотрансформация и выделение) пребывания токсиканта в организме.

Биотрансформация — метаболическое превращение эндогенных и экзогенных химических веществ в более полярные (гидрофильные) соединения.



Основные пути биотрансформации чужеродных соединений.

1. Окисление:

а) микросомальное

- алифатическое или ароматическое гидроксилирование,
- эпоксидирование,
- N-гидроксилирование,
- N, S-окисление,
- дезалкилирование,
- дезаминирование,
- десульфирование;

б) немикросомальное

- окислительное дезаминирование,
- окисление спиртов, альдегидов,
- ароматизация алициклических соединений.

2. Восстановление:

а) восстановление нитросоединений, азотсоединений микросомальными ферментами;

б) микросомальное восстановительное дегалогенирование;

в) немикросомальное восстановление.

3. Гидролиз с участием микросомальных и немикросомальных ферментов.

4. Синтез (реакции конъюгирования):

а) образование конъюгатов с глюкуроновой кислотой;

б) образование сложных эфиров с серной и фосфорной кислотами;

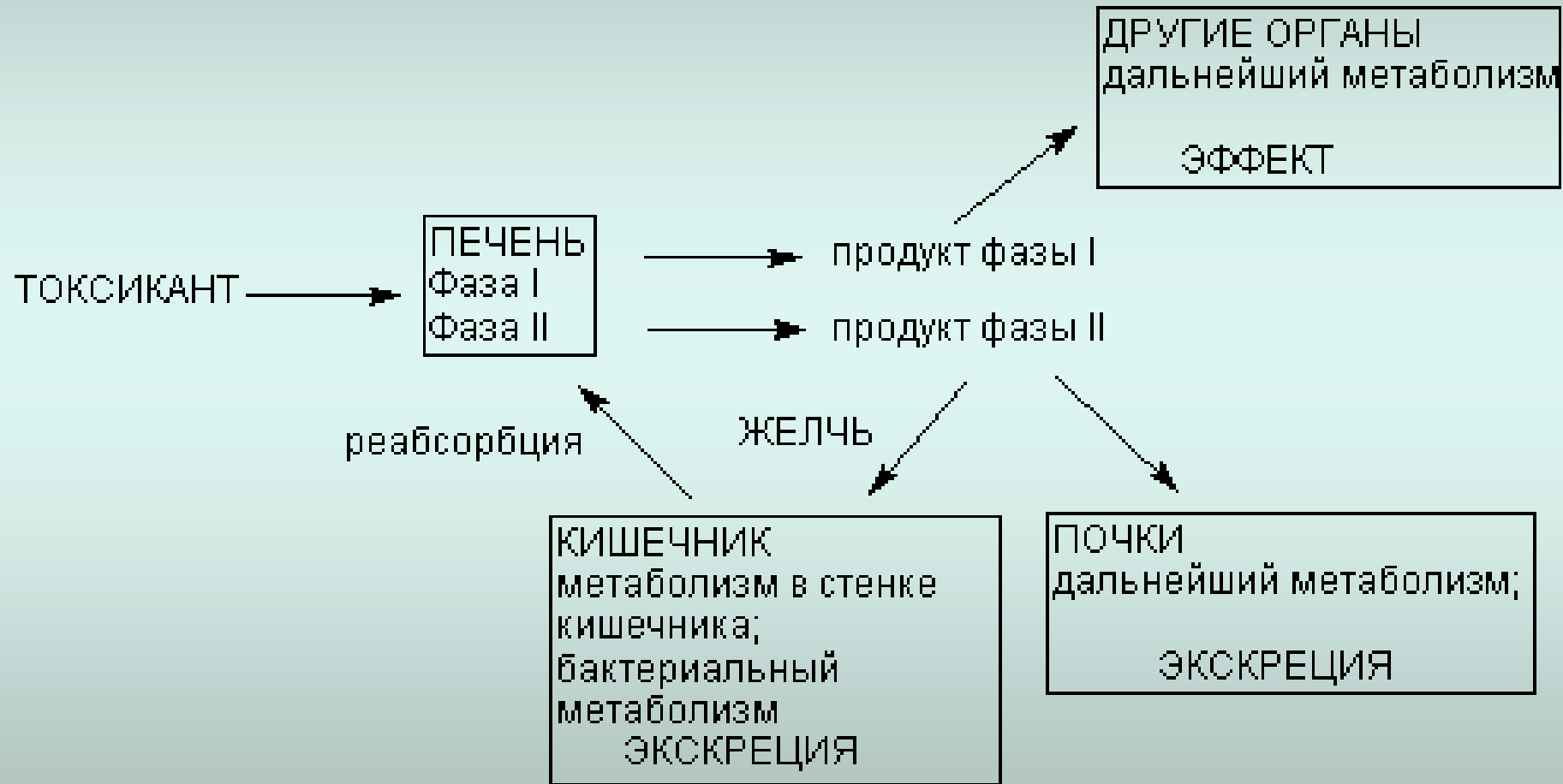
в) метилирование;

г) ацетилирование;

д) пептидная конъюгация.

Биотрансформация ксенобиотиков осуществляется преимущественно в печени

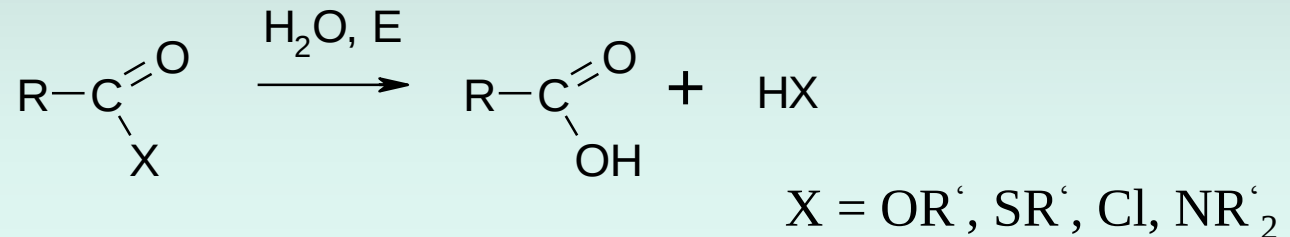
Ферменты биотрансформации ксенобиотиков присутствуют в основном в микросомах и в цитозоле и незначительная часть – в митохондриях, ядре и лизосомах



Ферментативные реакции 1-й фазы биотрансформации ксенобиотиков

I фаза метаболизма - этап биотрансформации, в ходе которого к молекуле соединения либо присоединяются полярные функциональные группы, либо осуществляется экспрессия таких групп, находящихся в субстрате в скрытой форме

1. Гидролиз при биотрансформации



карбоксилэстераза, ацетилхолинэстераза псевдохолинэстераза	→	эфиры карбоновых кислот, амидов и тиоэфиров
параоксаназа	→	эфиры фосфорной кислоты
пептидазы	→	амидная связь между аминокислотами в пептидах, рекомбинантных пептидных гормонах, факторах роста, цитокинах, растворимых рецепторов и моноклональных антител.
эпоксидная гидролаза	→	присоединение воды к эпоксидам алкенов и оксидам аренов

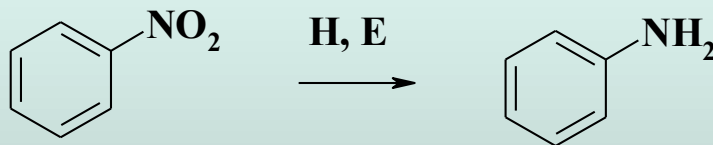
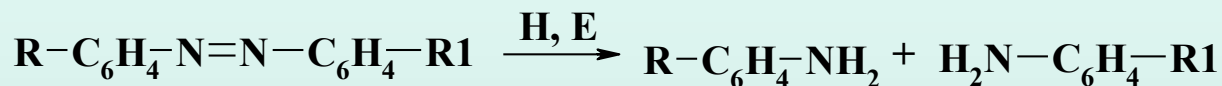
2. Восстановление при биотрансформации

Некоторые металлы альдегиды, кетоны, дисульфиды, сульфоксиды, хиноны, алкены, азо- и нитросоединения

Коферменты — никотинамидадениндинуклеотид (НАД⁺/НАДН, НАДФ⁺/НАДФН) флавинадениндинуклеотид (ФАД/ФАДН₂).

Восстановление азо- и нитросоединений - цитохром Р450

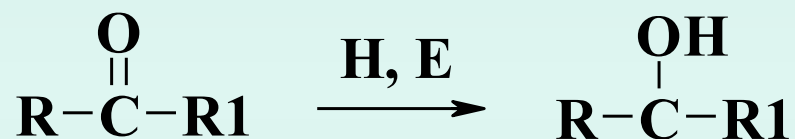
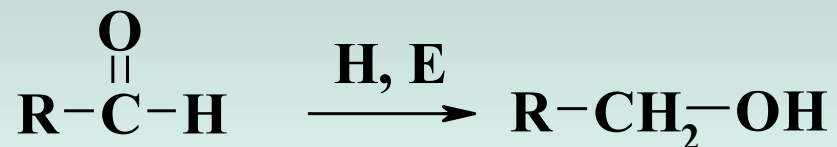
НАДФН-хинон оксидоредуктазы



реакция ингибируются кислородом

Восстановление карбонильных соединений -

группа ферментов — карбонильные редуктазы

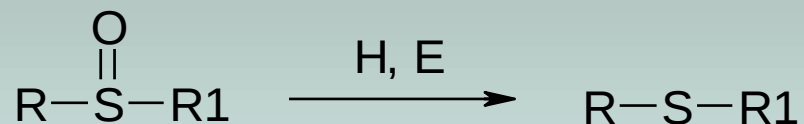


Восстановление дисульфидов -

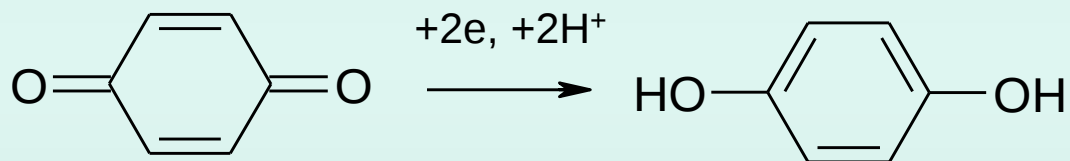
глутатионредуктаза,
глутатион - S-трансфераза
неферментативно



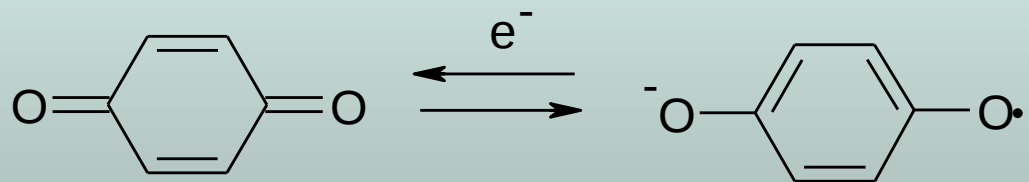
Восстановление сульфоксидов - цитохром Р450 и НАДФН



Восстановление хинонов - НАДФН-хиноноксидоредуктаза, флавопротеины цитозоля в отсутствие кислорода



микросомальная НАДФН-цитохром Р450
редуктазой



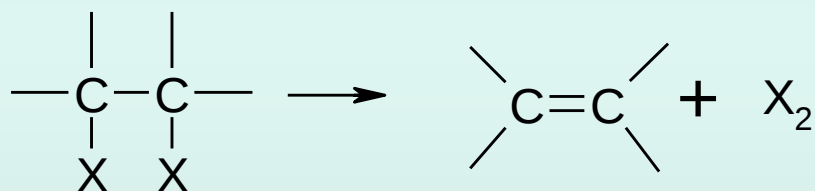
Дегалогенирование:

окислительное дегалогенирование

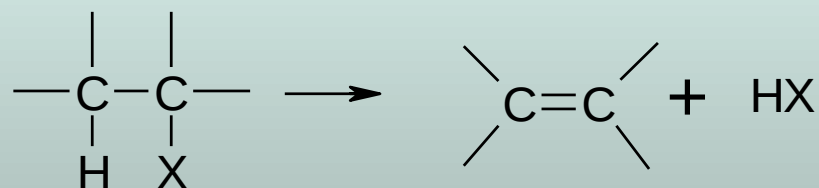


Хлороформ Фосген

двойное дегалогенирование



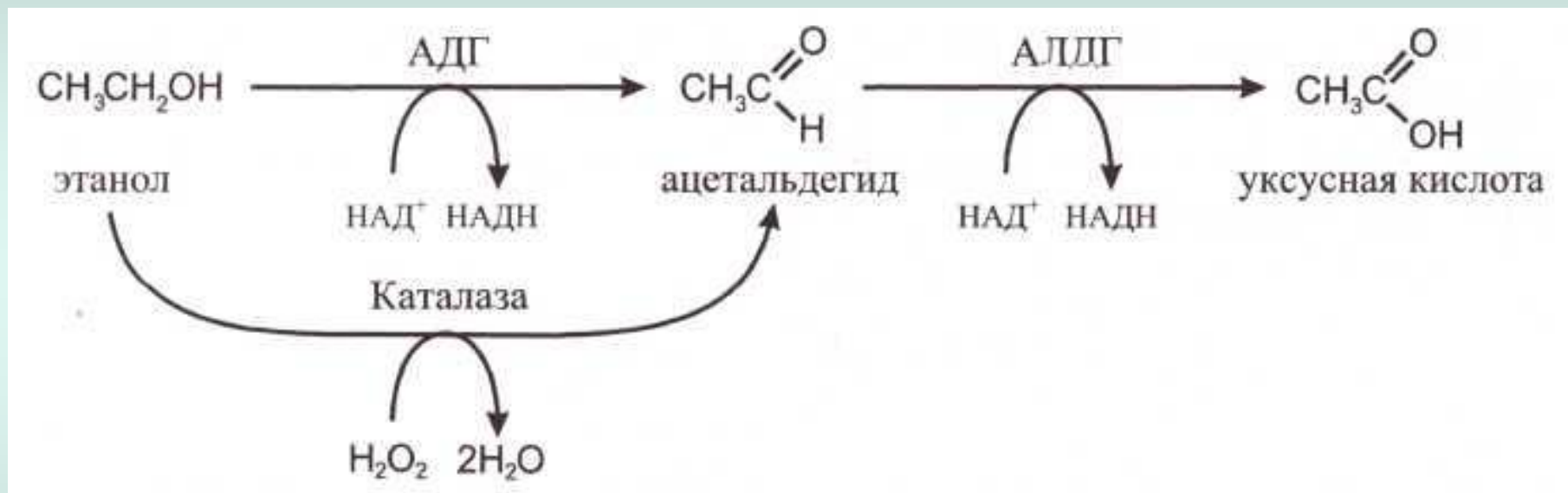
дегидрогалогенирование



3. Окисление при биотрансформации

Алкогольдегидрогеназа (АДГ) — цитозольный фермент

Класс I АДГ-изоферментов (α -АДГ, β -АДГ и γ -АДГ) – окисление этанола и других алифатических спиртов небольших размеров.



Класс II АДГ (π -АДГ) (в печени) - окисление более крупных алифатических и ароматических спиртов.

Класса III АДГ (χ -АДГ) - длинноцепочечные алифатические спирты (начиная от пентанола) и ароматические спирты.

Класс IV АДГ (σ - или μ -АДГ) — окислении ретинола.

Альдегид-дегидрогеназа (АЛДГ) - окислении альдегидов до карбоновых кислот (кофактор НАД⁺).

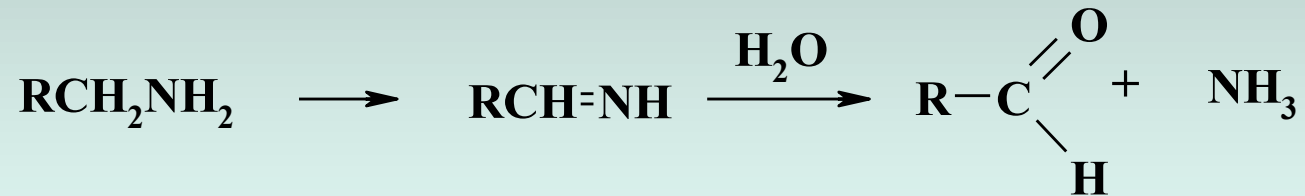
Дигидродиолдегидрогеназа - окисление полициклических ароматических углеводов.

Молибденовые гидроксилазы — альдегидоксидаза и ксантиндегидрогеназа / ксантиноксидаза, сульфитоксидаза - окисляет токсичный сульфит до относительно безопасного сульфата.

Ксантиндегидрогеназа (XD) и ксантиноксидаза (XO) — участвуют в процессах, связанных с оксидативным стрессом, пероксидном окислении липидов.

Альдегидоксидаза - пероксидное окисление липидов, катаболизм биогенных аминов и катехоламинов.

Моноаминоксидаза - окислительное дезаминирование первичных, вторичных и третичных аминов, включая серотонин.



Пероксидаза-зависимое окисление

превращение ксенобиотиков в токсичные метаболиты

прямой перенос пероксидного кислорода к ксенобиотику $\text{Tox} \rightarrow \text{ToxO}$

амины или фенолы окисляются пероксидом водорода в присутствии пероксидаз с образованием свободных радикалов

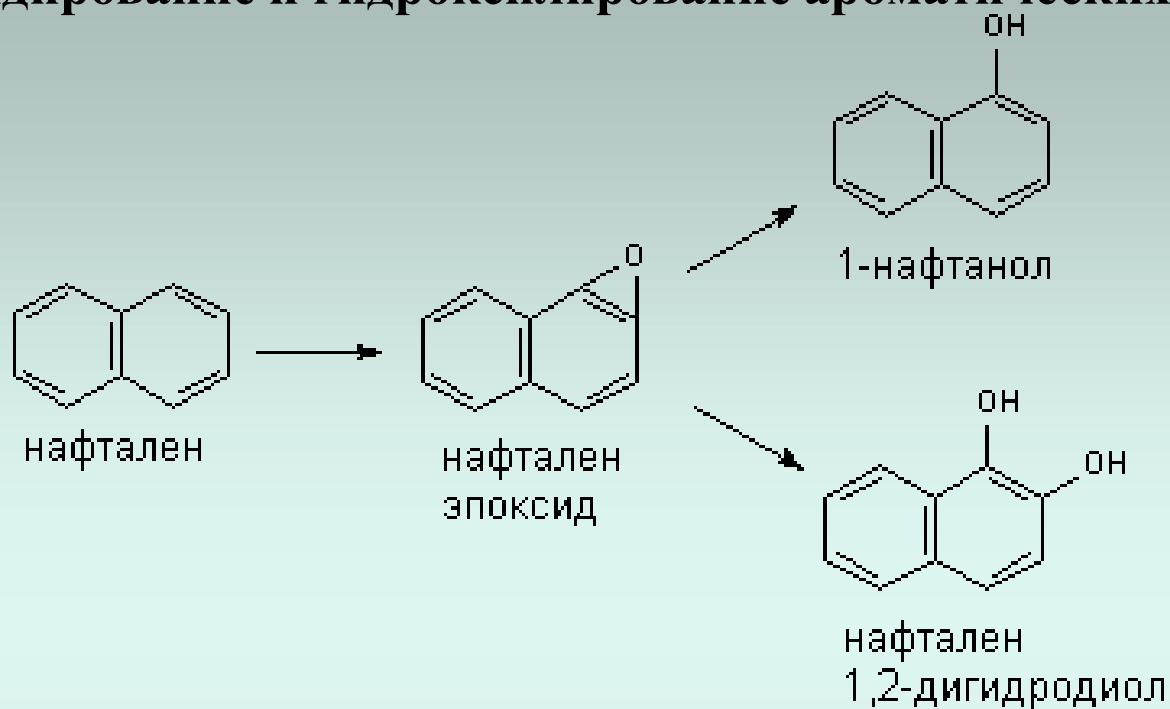
Флавиномоноксигеназа - окисляет нуклеофильный азот, серу и фосфор в молекулах ксенобиотиков

Цитохром Р450 катализирует реакции окисления:

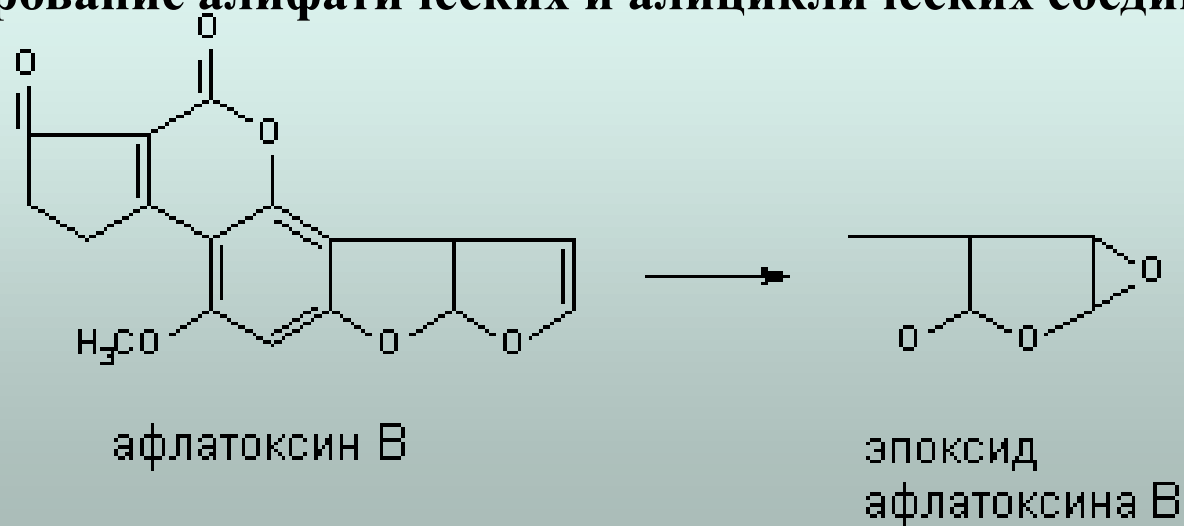
- гидроксилирование алифатических и ароматических углеводородов;
- эпексидирование двойной связи;
- окисление гетероатомов (О-, S-, N-, Si-)
- N-гидроксилирование;
- деалкилирование гетероатомов (О-, S-, N-, Si-),
- окислительный перенос группы;
- разрыв сложноэфирной связи;
- дегидрирование.



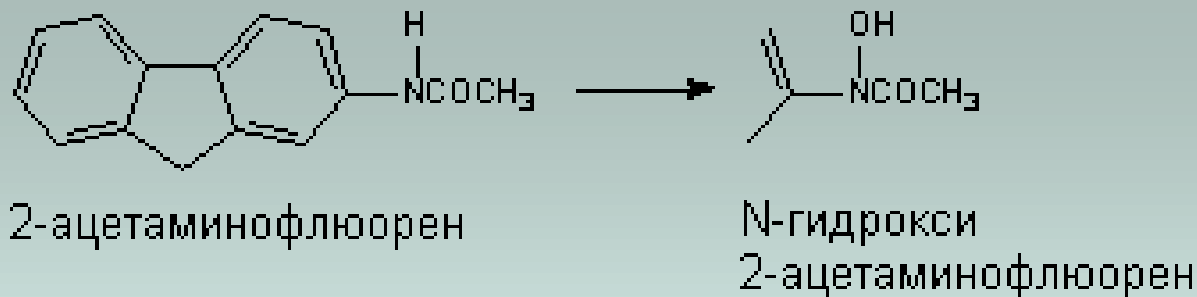
Эпоксидирование и гидроксилирование ароматических соединений



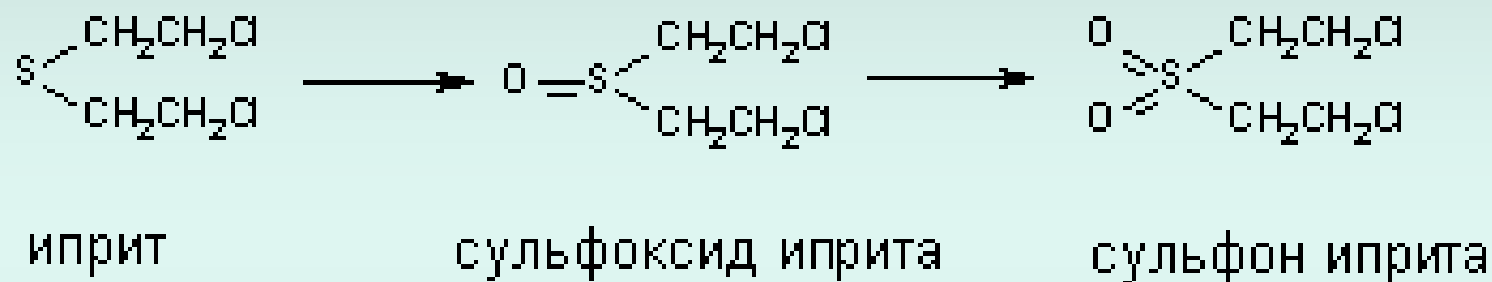
Эпоксидирование алифатических и алициклических соединений



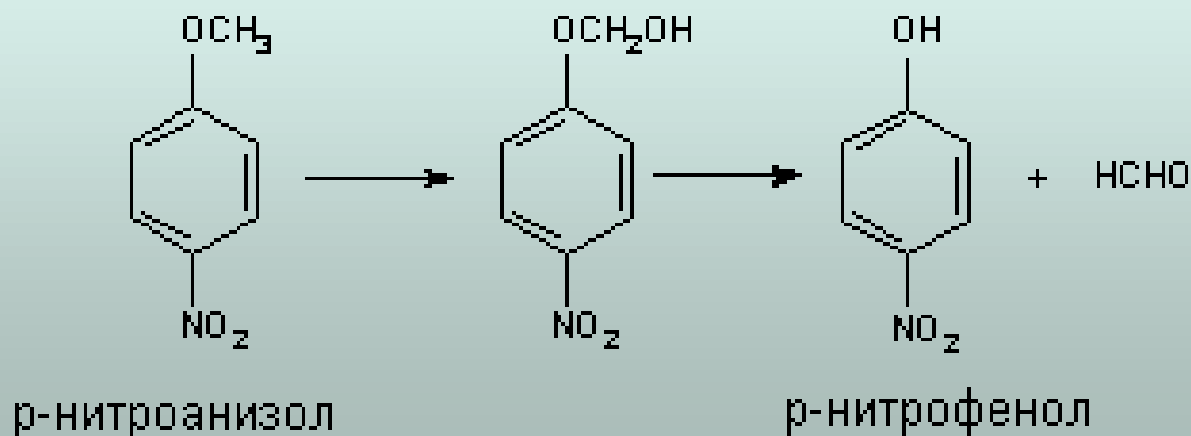
N-окисление.



Окисление тиоэфиров.



Окислительное деалкилирование



Ферментативные реакции 2-й фазы биотрансформации

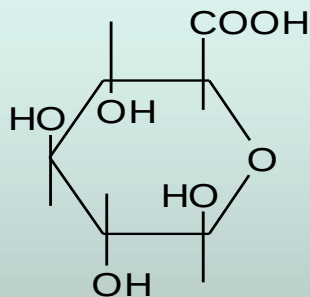
Фаза II метаболизма - этап биологической конъюгации промежуточных продуктов метаболизма с эндогенными молекулами, такими как глутатион, глюкуроновая кислота, сульфат и т.д.

Глюкуронирование, сульфатирование, ацетилирование и метилирование протекают с участием высокоэнергетических кофакторов.

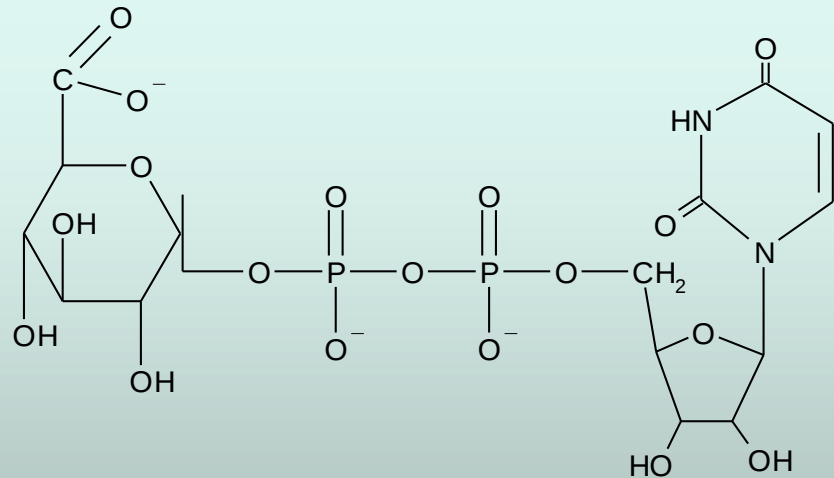
Конъюгация (соединение) с аминокислотами или глутатионом проходит с участием активированных молекул ксенобиотиков.

Большинство ферментов 2-й фазы биотрансформации локализованы в цитозоле.

1. Глюкуронирование

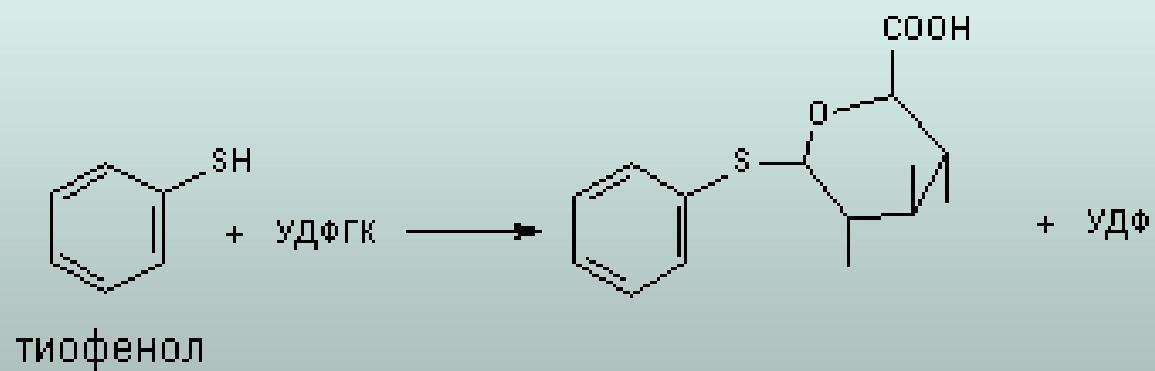
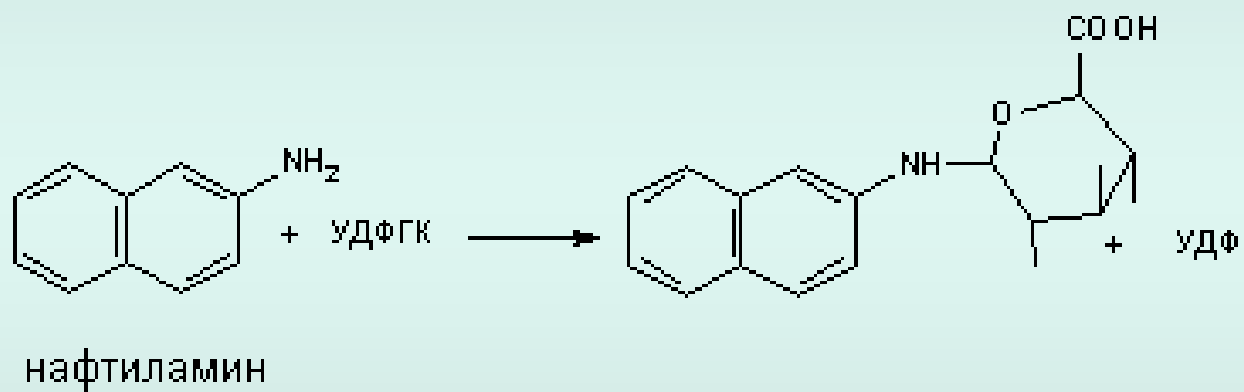
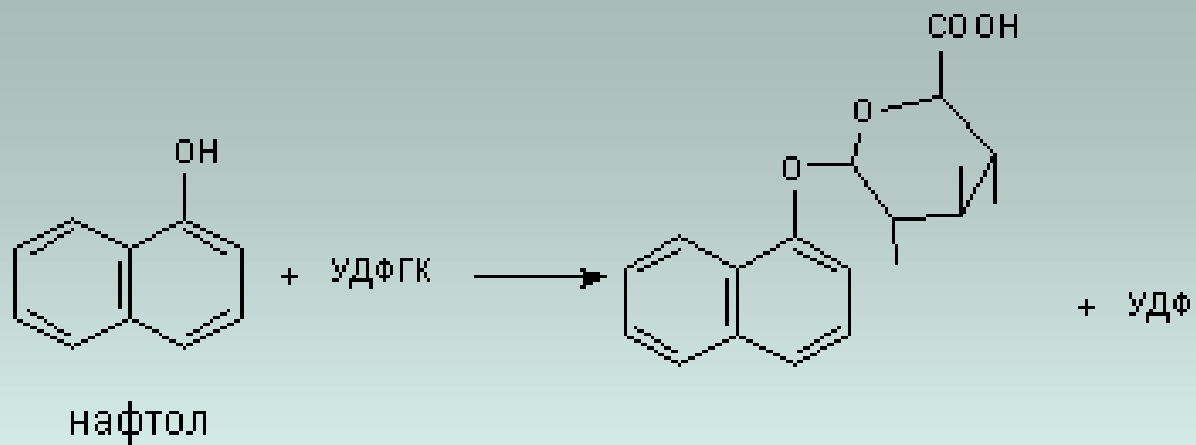


глюкуроновая кислота



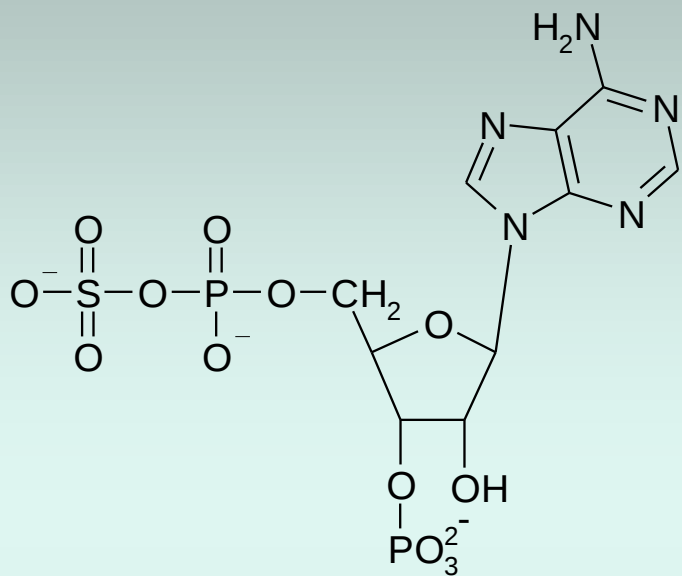
Уридин-5'-дифосфо-α-D-глюкуроновая кислота

Фермент- УДФ-глюкуронозилтрансфераза

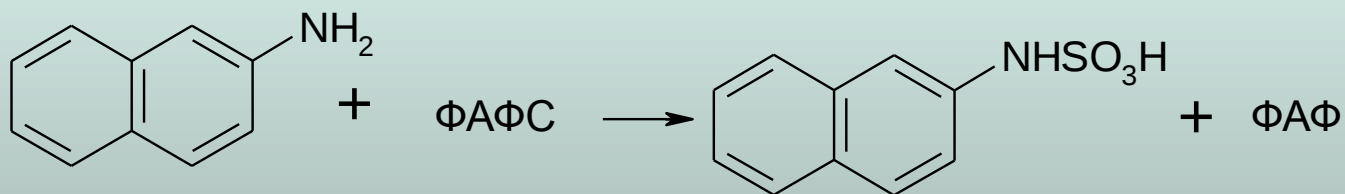


2. Сульфатирование

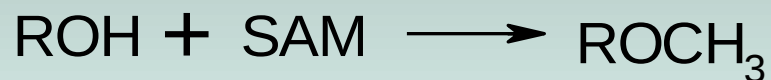
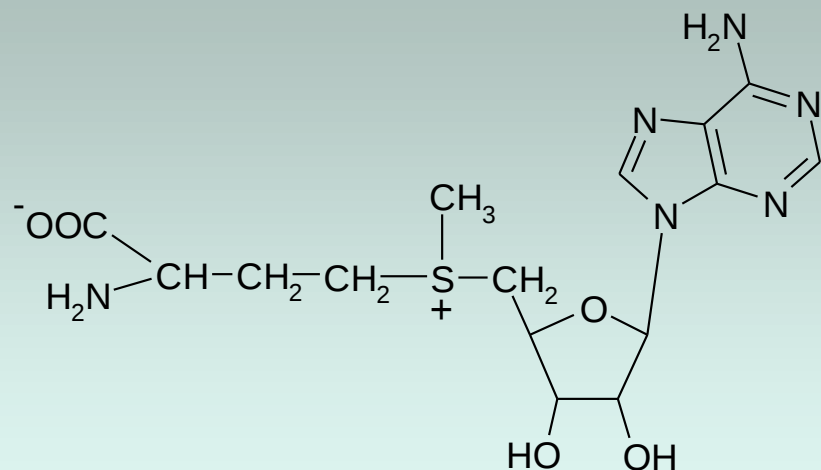
Фермент - сульфотрансфераза



3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфат



3. Метилирование



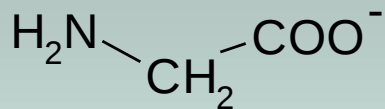
S-аденозилметионин

4. Ацетилирование

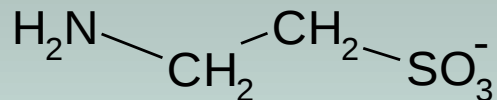


Ацетил коэнзим А

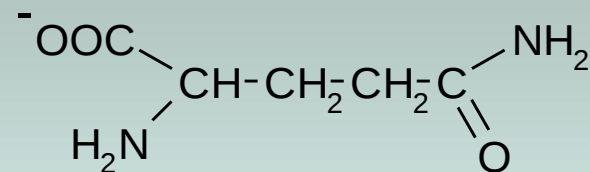
5. Конъюгация с аминокислотами



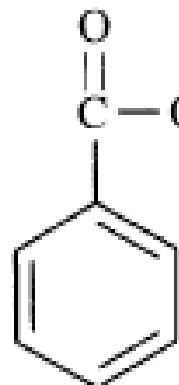
глицин



таурин



глутамин



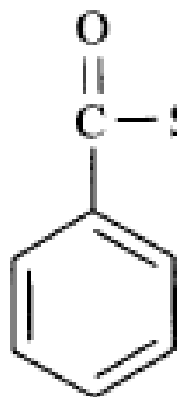
Бензойная кислота



Ацил-КоА синтетаза

АТФ

АМФ + ФФ_i

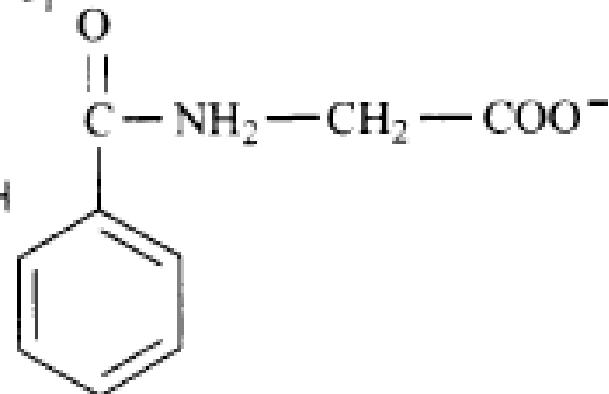


Бензоил-КоА



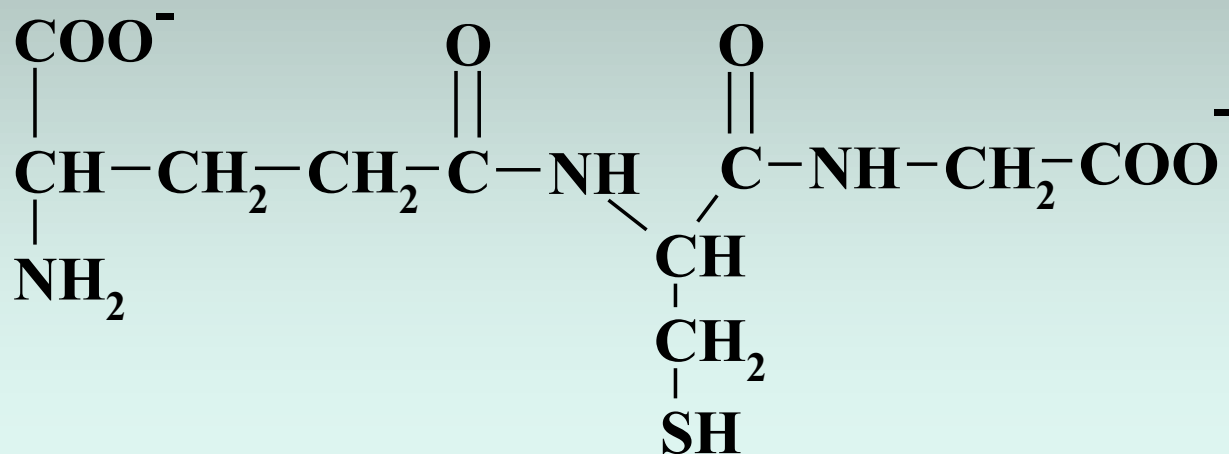
(глицин)

Ацил-КоА: аминокислотная
N-ацилтрансфераза



Гиппуровая кислота

6. Конъюгация с глутатионом



глутатион

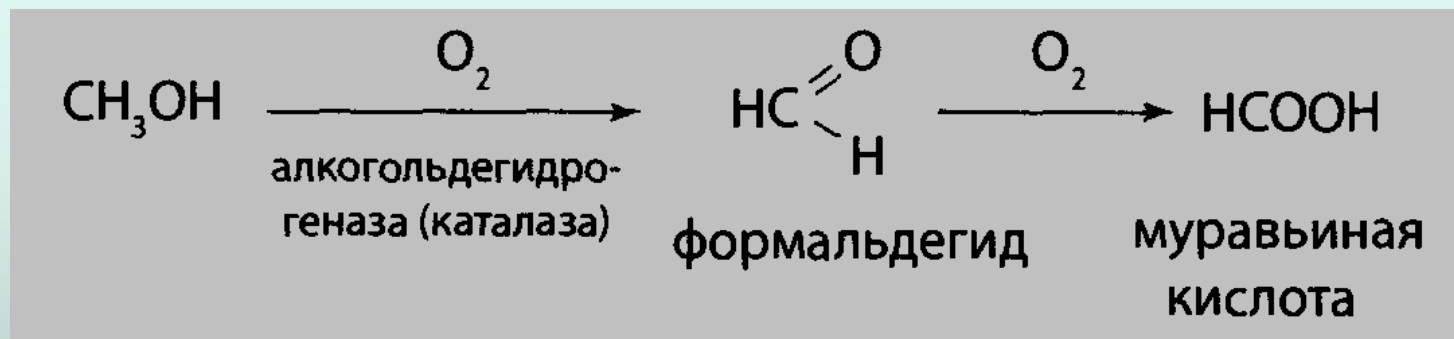


Факторы, влияющие на метаболизм чужеродных соединений.

1. Генетические факторы и внутривидовые различия (возможны генетические дефекты ферментов, их изучением занимается фармакогенетика).
2. Физиологические:
 - возраст и развитие ферментных систем;
 - половые различия;
 - гормональный фон;
 - беременность;
 - питание;
 - патологические состояния, заболевания;
 - длительное применение лекарств.
3. Факторы окружающей среды:
 - стресс;
 - ионизирующая радиация;
 - стимулирование метаболизма чужеродными соединениями;
 - ингибирование метаболизма чужеродными соединениями.

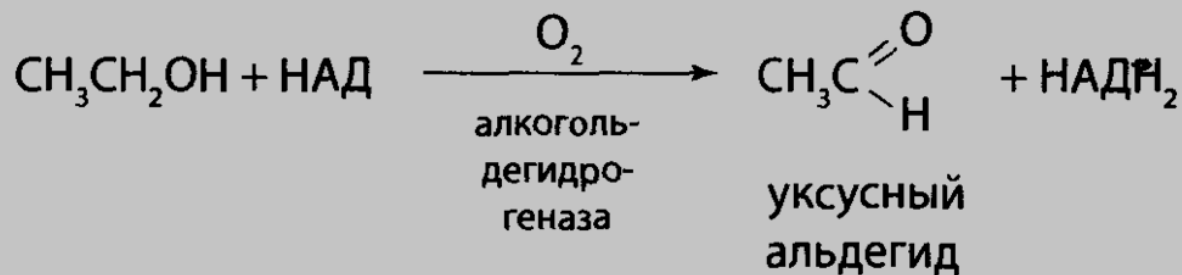
Метаболиты и токсичность. Представление о вторичном метаболизме. Основные реакции вторичного метаболизма.

Биотрансформация ксенобиотиков, как правило, является детоксикационным процессом, то есть направлена на снижение токсичности. Однако в ряде случаев ксенобиотики в организме превращаются в более токсичные соединения. Такой процесс получил название «**летального синтеза**»



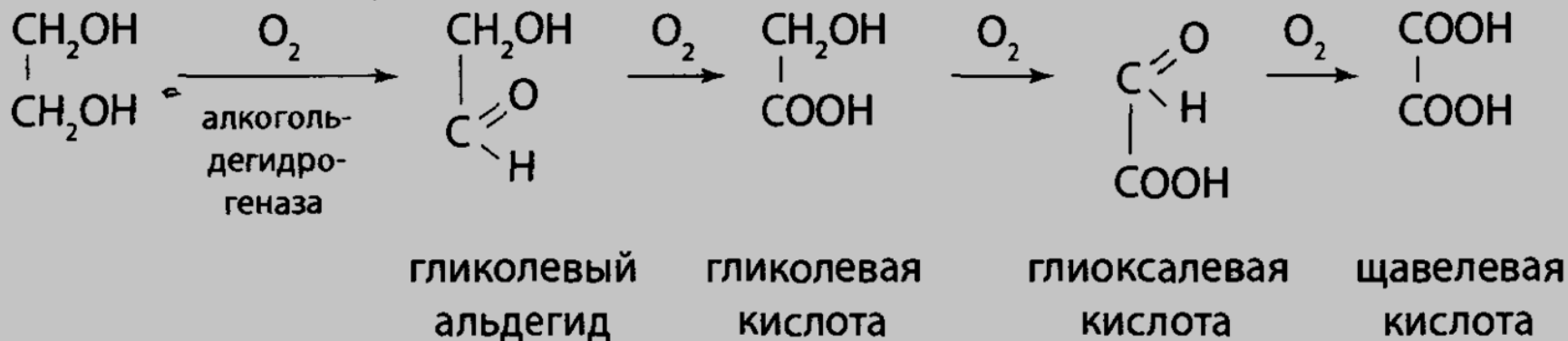
Формальдегид и муравьиная кислота — высокотоксичные соединения. Они вызывают отравления с серьезными последствиями и необратимую слепоту.

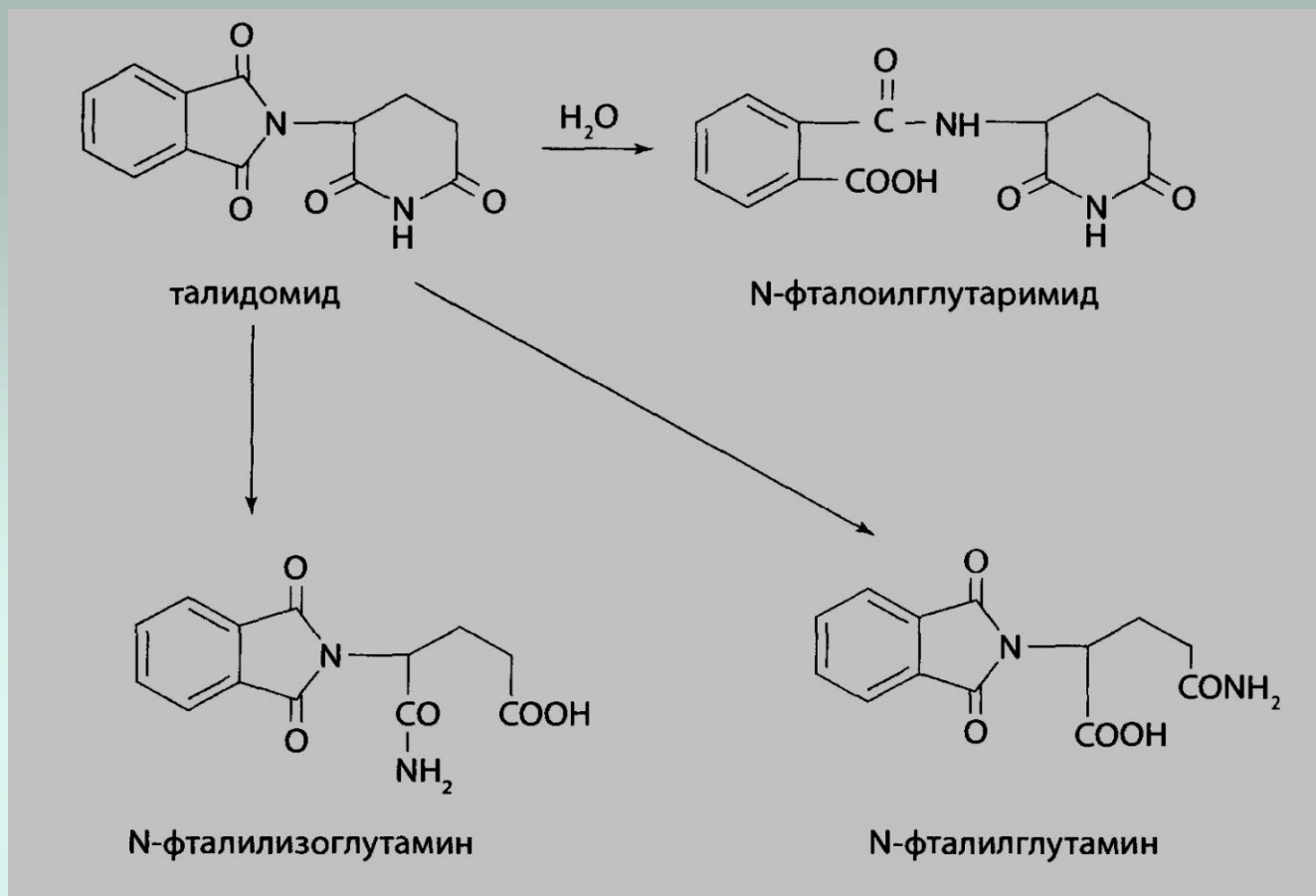
Метаболизм этилового спирта начинается с образования ацетальдегида, который на порядок токсичнее исходного продукта:



(НАД – никотинамидадениндинуклеотид).

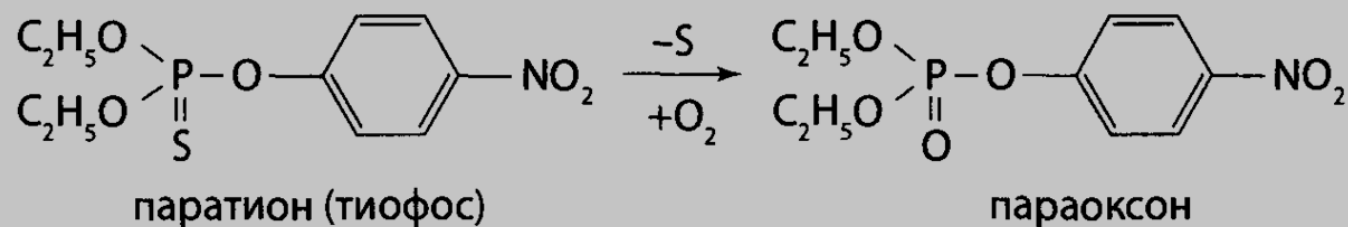
Двухатомный спирт этиленгликоль образует токсические метаболиты, хотя сам является сравнительно малотоксичным веществом:



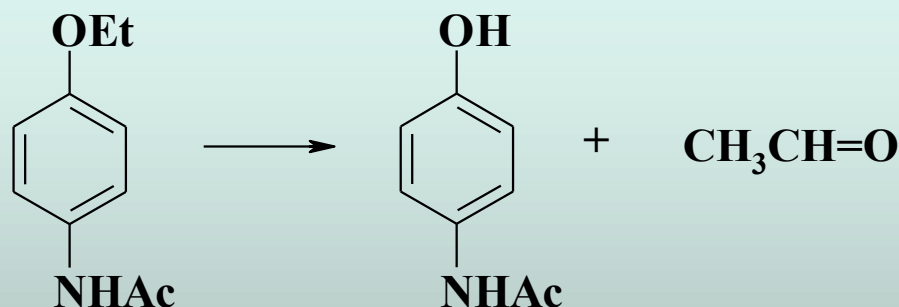


Талидомид был причиной медицинской катастрофы, имевшей трагические последствия. В 1961 году из-за тератогенности (от греч. *téras* – урод и *genos* – рожденный) и других побочных действий он был исключен из обращения. Причины тератогенности, несмотря на многочисленные попытки их изучения, до конца не выяснены. Талидомид среди снотворных средств занимал особое место: его токсичность была настолько мала, что даже в больших дозах он не давал летального исхода. Тератогенность не может быть объяснена производными глутаровой и глутаминовой кислот. Возможно, в ходе неэнзиматического и энзиматического расщепления возникают другие квазифизиологические метаболиты, ответственные за побочное действие.

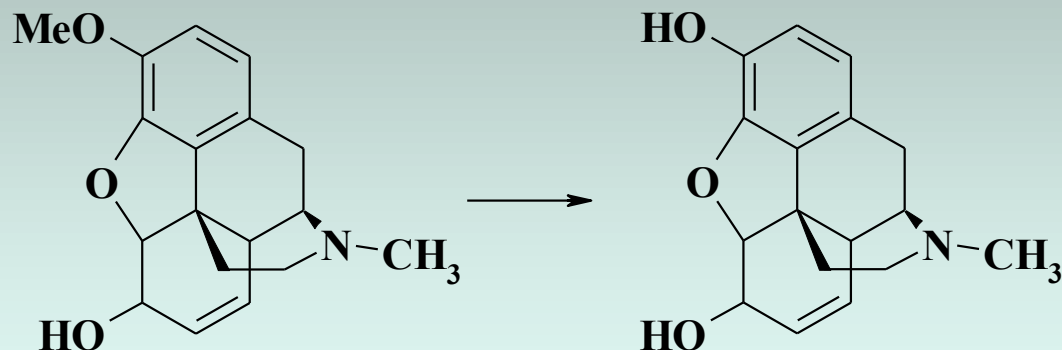
Еще один пример «летального синтеза» – образование из малотоксичного паратиона (тиофоса) в организме путем замещения атома серы на атом кислорода параоксона – мощного ингибитора холинэстеразы, хотя сам паратион антихолинэстеразной активностью не обладает в опытах *in vitro*:



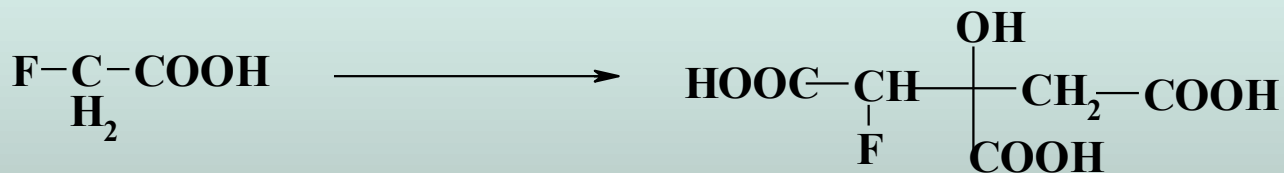
В процессе О-дезалкилирование фенаcetина образуется парацетамол и ацетальдегид:



Путем О-дезалкилирования в организме происходит превращение кодеина в морфин (более токсичное соединение).



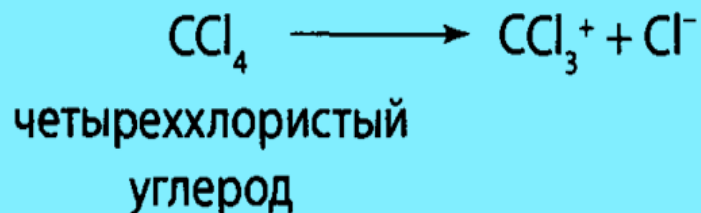
Нетоксичная фторуксусная кислота в организме подвергается синтезу, в результате которого образуется токсичная фторлимонная кислота. Она блокирует цикл трикарбоновой кислоты, подавляя фермент аконитазу. Потеря энергии в результате остановки цикла Кребса сопровождается клеточной дисфункцией и смертью.



фторуксусная кислота

фторлимонная кислота

Одним из путей метаболизма токсических веществ является образование свободных радикалов.



CCl_3^+ взаимодействует с клеточными структурами двумя путями:

- повреждает ферментные системы, в частности цитохром Р-450;
- включается в цепную реакцию перекисления липидов, ненасыщенных жирных кислот внутриклеточных мембран (олеиновой, линолевой, линоленовой, арахидоновой), которые в свою очередь образуют свободные радикалы, что приводит к структурной и функциональной перестройке мембран.

Изменения лекарственных веществ и ядов в трупах.

Вторичный метаболизм.

В организме живого человека ядовитые вещества подвергаются биотрансформации, а после гибели эти процессы заканчиваются.

Начинаются процессы превращения ядовитых веществ по другому механизму, так как ферменты живого организма теряют свою активность.

Разложение происходит по общим законам разрушения органических веществ.

В посмертный период параллельно протекает два процесса:

- Процесс разложения ядовитых веществ;
- Процесс образования продуктов гнилостного разложения тканей.

Разложение биологического материала после наступления смерти.

После гибели кислотно-щелочной баланс (рН среды) в трупe смещается в кислую сторону, что повышает активность специфических клеточных ферментов (содержатся в лизосомах клеток поджелудочной железы, печени, почках, селезенки и др.) – **катепсинов**.

Начинается **аутолиз** тканей (самопереваривание клеток):

- Тканей богатых ферментами (поджелудочная железа, печень, почки и др.)
- Тканей подвергшихся прижизненному повреждению (воспаление, ожоги, обморожения и др.)
- Тормозит аутолиз наличие в трупах: цианидов, мышьяка, фторидов, сердечных гликозидов и др.

Резко возрастает активность трупной бактериальной флоры, сопровождающееся выделением микробных ферментов (бактерии, находившиеся в кишечнике, проникают через стенки и по кровеносным сосудам распространяются почти по всему трупу).

Наступает процесс **гниения – путрификации** – органов и тканей, о чем свидетельствует специфический гнилостный запах.

Факторы, влияющие на сохраняемость ядовитых веществ в органах трупа и процессы гниения:

- Изменение рН-среды
- Активность клеточных ферментов
- Активность микробных ферментов (видовой состав микроорганизмов)
- Действие влаги, температура
- Доступ воздуха

При **гниении белковых веществ** образуются пептиды, которые разлагаются с образованием аминокислот. Аминокислоты подвергаются дезаминированию с выделением аммиака. Серосодержащие аминокислоты разлагаются с выделением сероводорода.

При гниении белков могут образовываться меркаптаны (тиоспирты и тиофенолы), органические кислоты, продукты их декарбоксилирования, амины (путресцин, кадаверин, этилендиамин и др.)

При гнилостном разложении **углеводов** образуются органические кислоты, продукты их декарбоксилирования, альдегиды, кетоны, лактоны, оксид углерода.

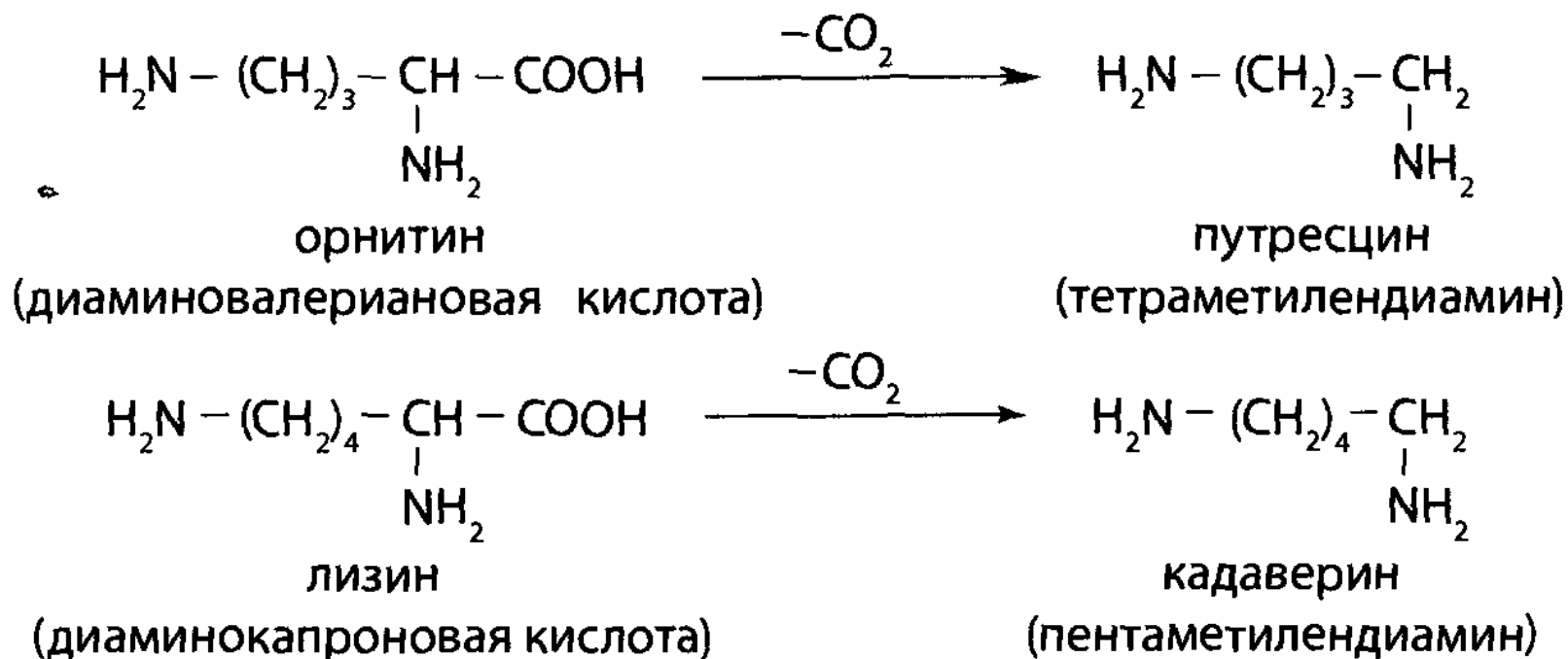
Под влиянием гнилостных бактерий наступает окисление аминокислот и **жиров** с образованием спиртов (метиловый, этиловый, высшие спирты).

Из глюкозы образуется пропиловый, бутиловый, метиловый спирты. Из лейцина - амиловый спирт. Из валина - изобутиловый спирт.

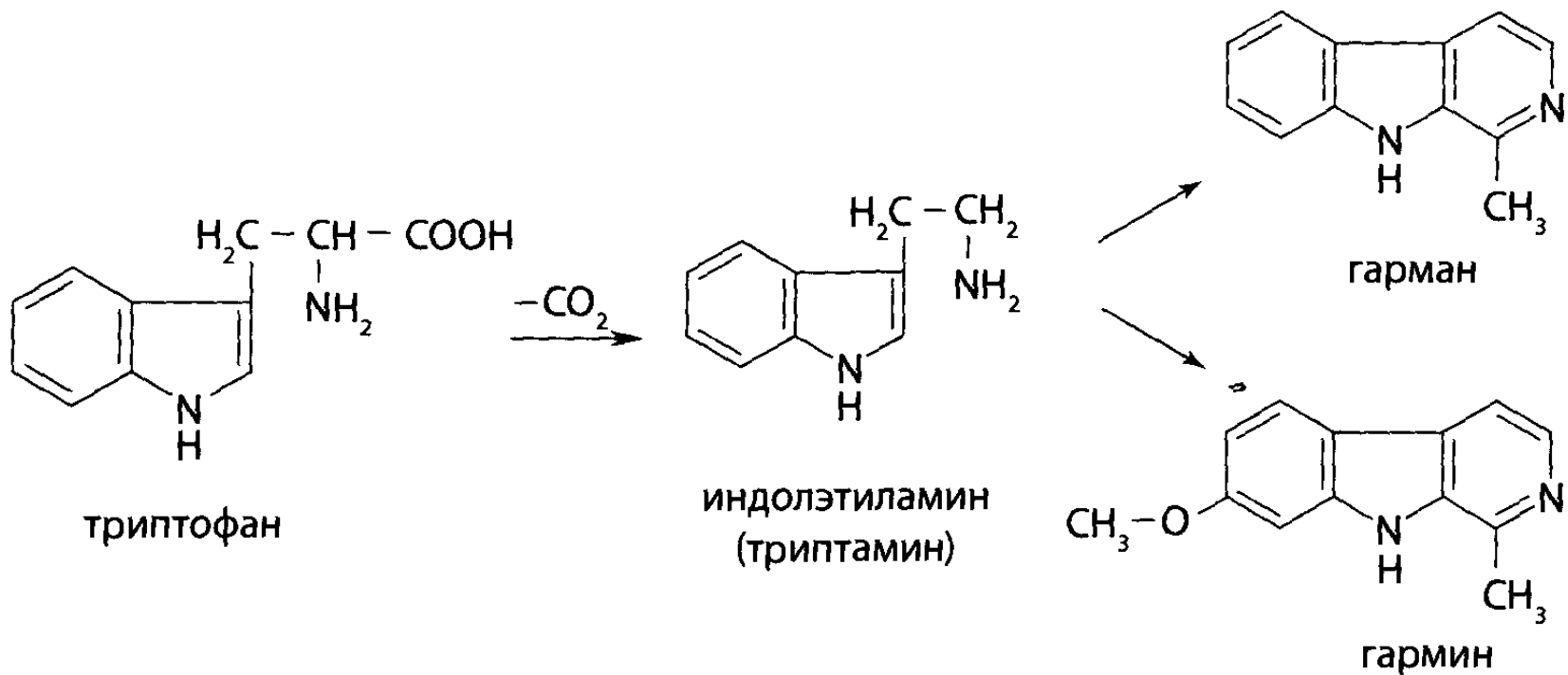
Спирты далее окисляются до альдегидов и соответствующих кислот.

В 1878 г. Сельми в гнилостных трупах обнаружил вещества, которые были названы птомаинами. К числу главных птомаинов он отнес путресцин и кадаверин, которые образуются из соответствующих аминокислот (орнитина и лизина). Позже Гадамер выделил другие «трупные алкалоиды» (кониин, вератрин, стрихнин и др. более 70).

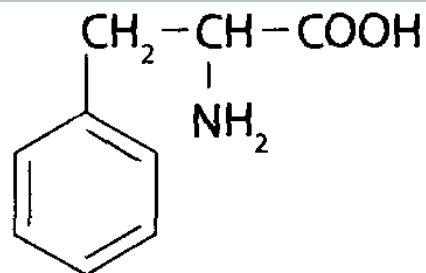
Трупные яды образуются в результате реакций вторичного метаболизма при **гниении**.



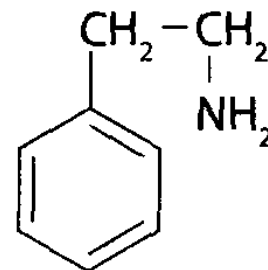
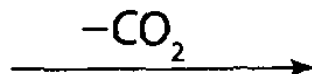
Образование «трупных ядов» в процессе гниения.



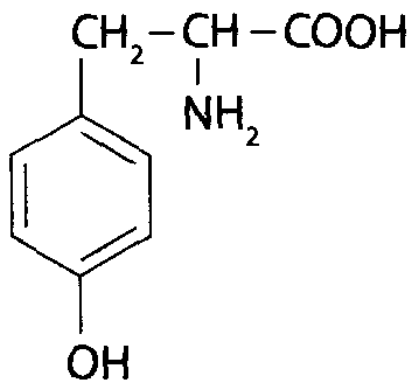
Образование «трупных ядов» в процессе гниения



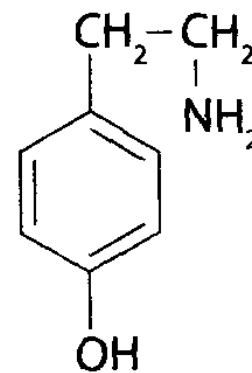
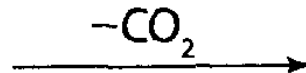
фенилаланин



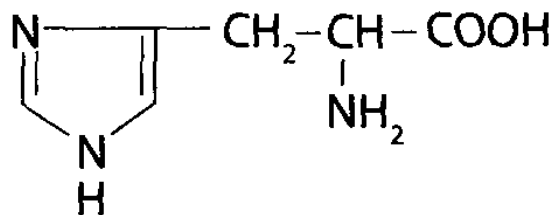
фенилэтиламин



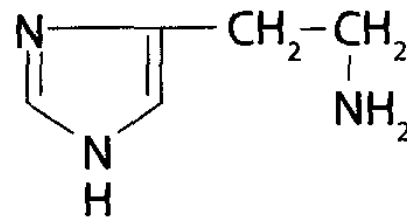
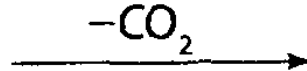
тирозин



тирамин

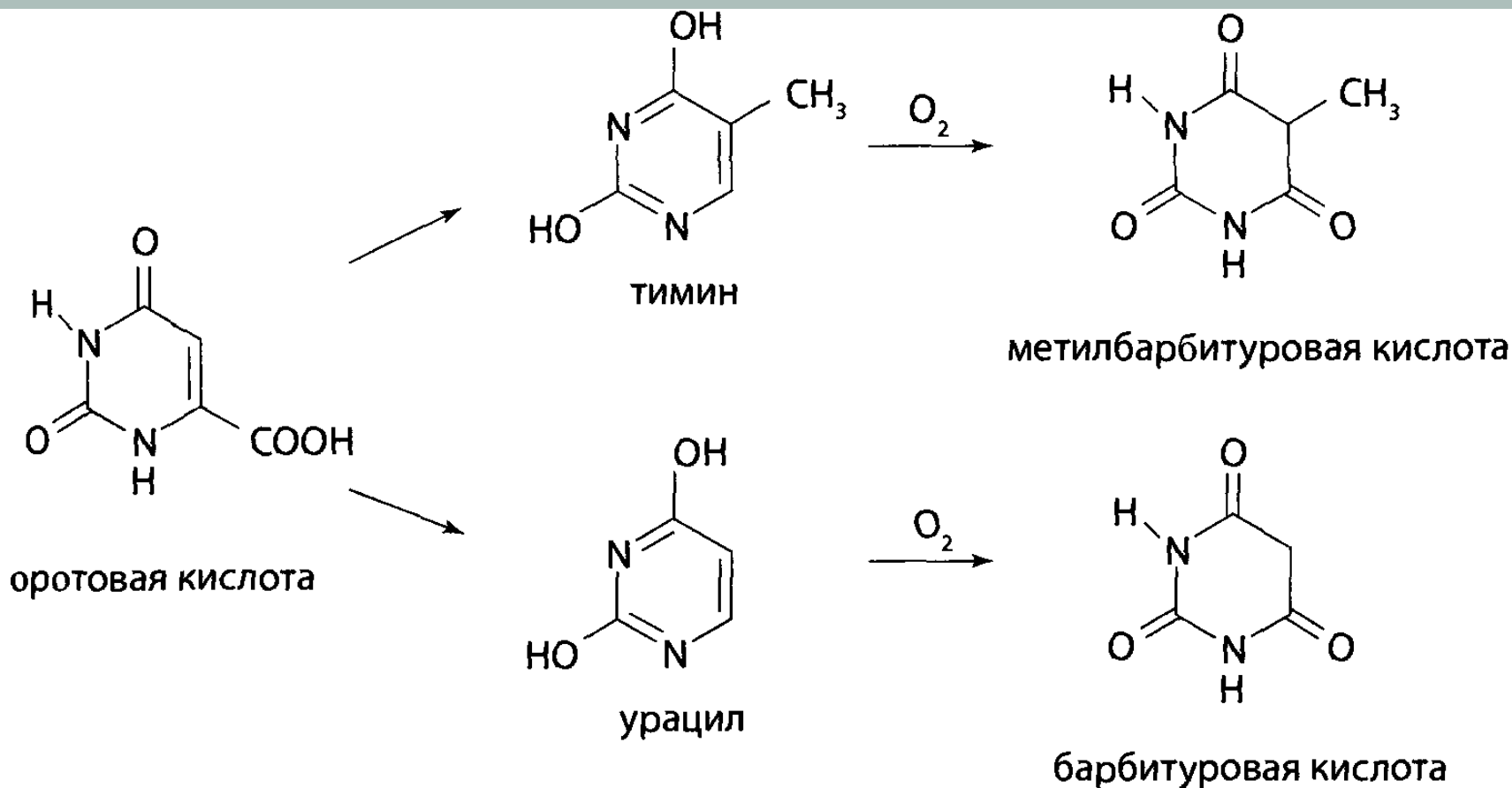


гистидин



гистамин

Образование «трупных ядов» в процессе гниения



Высокая токсичность трупных ядов – птомаинов объясняется присутствием примесей бактериальных токсинов и продуктов синтеза, в трупном материале образующихся под влиянием бактериальных ферментов. Очищенные или полученные путем синтеза птомаины намного менее токсичны, чем выделенные из трупного материала.

Рассмотренные **гнилостные процессы** происходят в трупах в основном без доступа воздуха (в могилах).

В случае нахождения трупа на поверхности при доступе воздуха, небольшой влажности, **гниение** происходит под влиянием ферментов аэробных бактерий и носит название **тление**.

Тление происходит значительно быстрее чем гниение трупов в могилах, что связано с быстрым обезвоживанием трупов и созданием условий для появления червей, которые могут объедать труп, и плесневых грибов.

При тлении образуются вещества, которые отличаются от **птомаинов**, образованных при отсутствии воздуха, и являются менее ядовитыми.

В зависимости от условий разложения может происходить образование **жировоска** или **мумификация** трупов.

Жировоск – состояние тканей трупов, возникающее в результате взаимодействия жирных кислот с солями щелочноземельных и щелочных металлов в условиях повышенной влажности (в воде, во влажной почве), при недостаточности или отсутствии воздуха.

Происходит **мацерация** - отслаивание эпидермиса, в труп проникает вода, которая вымывает кровь и ряд веществ из тканей. Жиры омыляются и разлагаются на глицерин и жирные кислоты. Глицерин и олеиновая кислота вымываются из тканей трупов водой, а пальмитиновая и стеариновая кислоты образуют соли (мыла), которые составляют жировоск (твердая мылообразная или творожистая масса).

Труп сохраняет внешнюю форму. Внутренние органы отсутствуют (комки воскообразной массы).

В жировоске могут долгое время сохраняться некоторые яды, то есть жировоск является одним из видов естественной консервации трупов.

Мумификация – полное высыхание трупов. Происходит при сухом воздухе, повышенной температуре и хорошей вентиляции.

Прекращаются процессы гниения и происходит высыхание трупов.

Уменьшается объем и масса трупов. Их мягкие ткани уплотняются и сморщиваются.

Кожа приобретает буровато-коричневую окраску и пергаментный вид.

Трупы взрослых мумифицируются в течении 3-6 месяцев, а трупы новорожденных за 3-4 недели.

В мумифицированных трупах длительное время могут сохраняться некоторые яды, вызвавшие отравления.

Изменение ядов при разложении трупов.

На характер превращений ядовитых веществ, вызвавших отравление влияют:

- Химическая природа яда
- Трупная бактериальная флора
- Доступ воздуха
- Влага
- Время гниения или тления

Органические яды разлагаются быстрее чем неорганические.

Быстро разлагаются сложные эфиры, содержащие остатки алифатических спиртов и кислот (в течении нескольких суток).

Более длительный период разрушения имеют сложные эфиры ароматических кислот, связанные с гетероциклами (кокаин, атропин).

Быстро разрушаются сердечные гликозиды.

Ароматические соединения в трупном материале сохраняются дольше чем алифатические и гидроароматические.

Органические яды при гнилостном разложении в основном подвергаются реакциям деструкции:

- Декарбоксилирование
- Десульфирование
- Деметилирование
- Гидролиз
- Окисление

Очень редко реакциям синтеза.

Реакции деструкции ядов в трупах более интенсивно протекают в первоначальный период после гибели.

Обнаружение органических ядов практически не возможно через 6 месяцев после захоронения трупа.

Неорганические вещества, более стойкие. Ионы металлов восстанавливаются при гниении трупов до ионов с низшей степенью окисления.

Мышьяк, сера и фосфор могут восстанавливаться до летучих соединений.

Соединения мышьяка и таллия могут сохраняться в трупах 8-9 лет, сурьмы – 5 лет, соединения ртути – несколько месяцев. После этого неорганические яды проникают в почву и не всегда могут быть обнаружены в остатках сгнивших трупов.

Заключение.

После наступления смерти происходит разложение тканей трупов и образование вторичных метаболитов, что мешает обнаружению и количественному определению ядов, вызвавших отравление.

Многие вещества, образующиеся при гниении трупов, дают такие же реакции как яды (ошибочное заключение).

В процессе разложения трупов сами яды подвергаются химическим изменениям.

Таким образом, химик-токсиколог при проведении СХА (выбор методов изолирования, обнаружения и количественного определения) должен учитывать возможность появления в тканях трупа новых веществ, появившихся в результате разложения и изменения состава находящихся в них ядов.