

БИОХИМИЧЕСКАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ ВЕЩЕСТВ (3)

Вторая фаза обезвреживания веществ – этап биологической конъюгации.

В ходе реакций конъюгации происходит присоединение к функциональным группам ксенобиотиков, поступивших в клетку или преобразовавшихся в реакциях 1-й фазы, молекул или групп эндогенного происхождения, таких как глутатион, глюкуроновая кислота, сульфат и т.д.

Все реакции конъюгации осуществляются ферментами класса трансфераз, это реакции биосинтеза и на их осуществление организм тратит макроэрги.

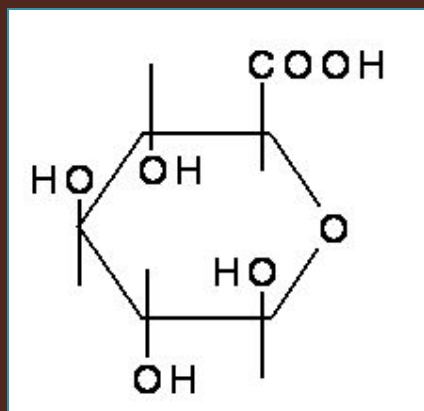
Реакции конъюгации протекают в разных компартментах, это позволяет связывать токсичные продукты, появляющиеся и вне ЭПР.

Основные ферменты и метаболиты, участвующие в реакциях конъюгации

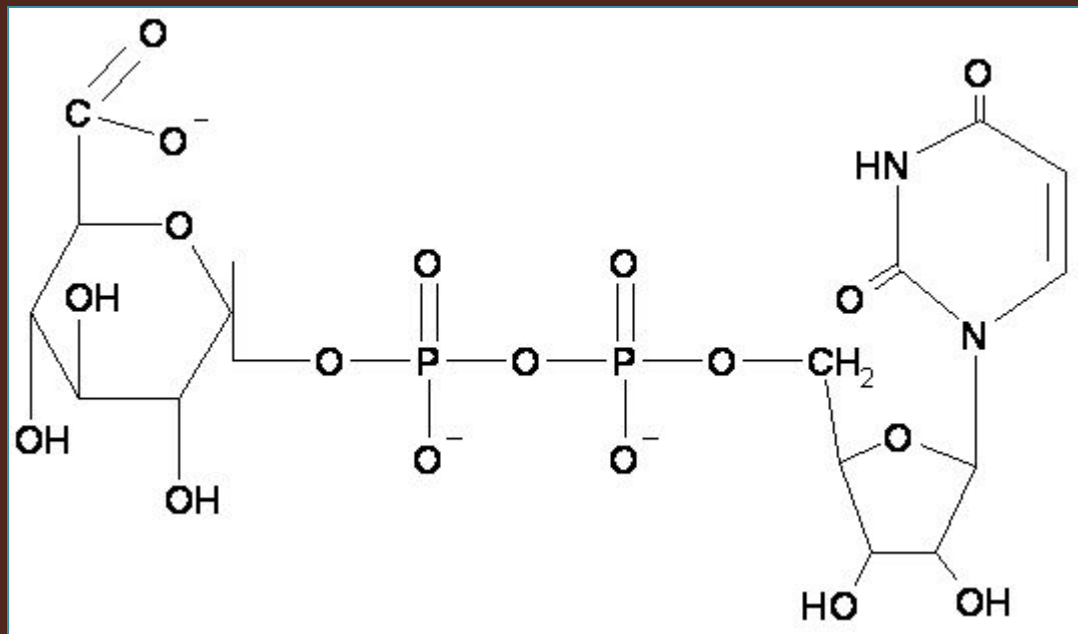
Тип конъюгации Фермент	Метаболит, используемый для конъюгации	Активная форма метаболитов	Локализация процесса
<u>Глутатионовая</u> Глутатион- трансфераза	Глутатион (GSH)	Глутатион (GSH)	Цитозоль, гл.ЭПР
<u>Глюкуронидная</u> УДФ-глюкуронил- трансфераза	Глюкуронат	УДФ-глюкуронат	Гл.ЭПР
<u>Сульфатная</u> Сульфо- трансфераза	Сульфат	3'-фосфоаденозин-5'- фосфосульфат	Цитозоль
<u>Аминокислотная</u> Ацил-КоА-синтетаза, ацил- трансфераза	Аминокислоты	Ацил-КоА (АТФ)	Митохондрии, цитозоль, ЭПР, лизосомы
<u>Метилирование</u> Метил- трансфераза	Метил	S-аденозилцистеин	Цитозоль, ЭПР
<u>Ацетилирование</u> Ацетил- трансфераза	Ацетил	Ацетил-КоА	Цитозоль

1. Глюкуронидная конъюгация

В реакцию способны вступать 4 группы химических веществ.
В результате образуются O-, N-, S- C-глюкурониды



**Глюкуроновая
кислота**



**Активная форма – уридин-5'-дифосфо-
α-D-глюкуроновая кислота. Синтез
осуществляет УДФ-
глюкуронозилтрансфераза**

Глюкуронированию подвергаются лекарственные средства разных классов, многие из них имеют узкую терапевтическую широту, например, морфин и хлорамфеникол.

УДФ-глюкуронозилтрансферазы – группа ферментов с разной степенью специфичности.

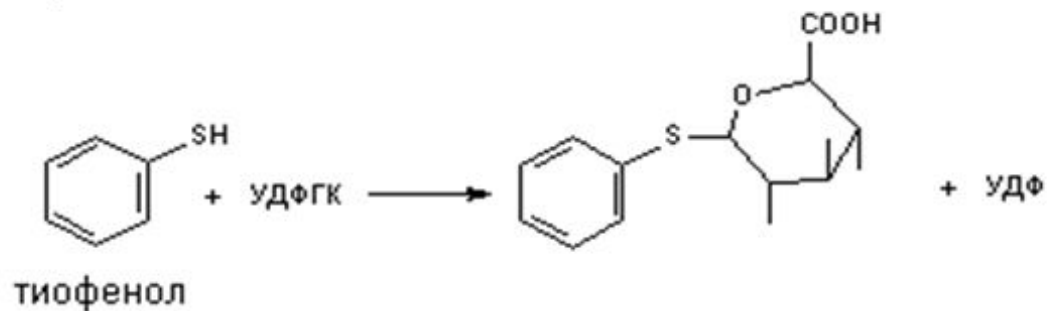
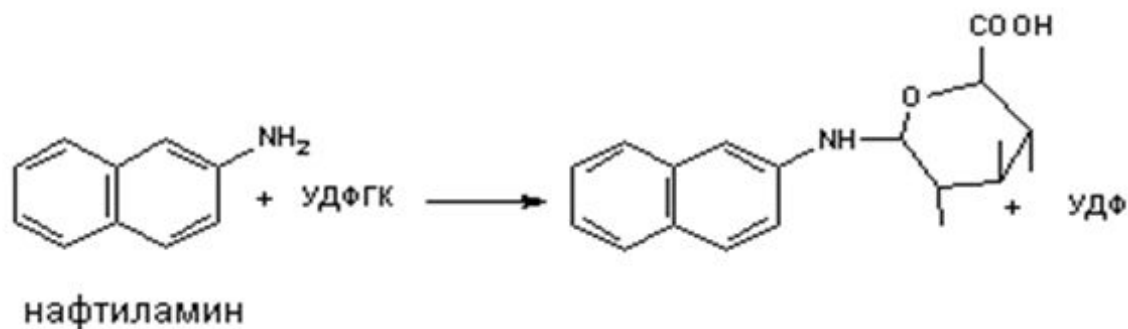
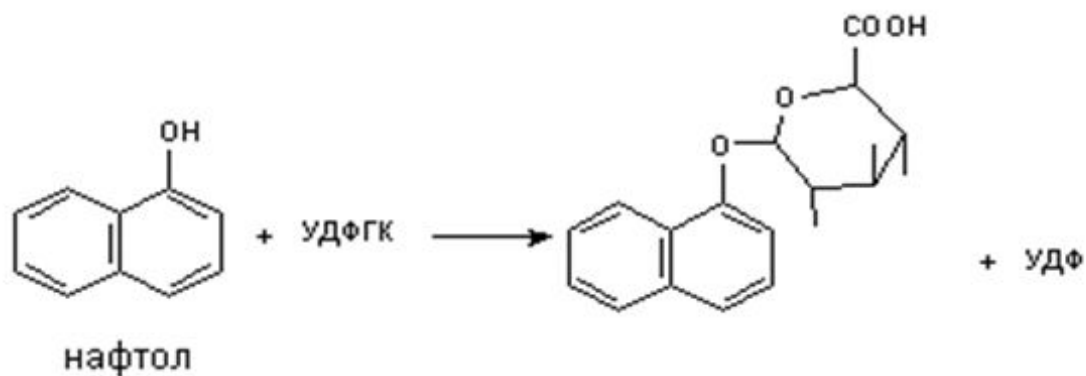
Работают в печени, коже, легких, селезенке, тимусе, почках, отсутствуют в крови. 90 % активности сосредоточено в ЭПС, присутствуют на ядерной мембране (защищает ядерный аппарат от реактивных липофильных метаболитов, не успевших связаться в других местах клетки).

Физиологическая функция УДФ-глюкуронилтрансфераз - глюкуронирование эндогенных соединений: билирубина, гормонов (тироксина и трийодтиронина в печени) и др.

УДФ-глюкуронилтрансферазы участвуют в метаболизме

стероидных гормонов, желчных кислот, ретиноидов, статинов

Примеры образования O-, N-, S- глюкуронидных конъюгатов



Состав семейств УДФ-глюкуронилтрансферазы человека, локализация генов и маркерные субстраты

Семейство	Локализация гена (локус)	Изофермент	Маркёрный субстрат
UGT1	1q21, 1q22, 1q23	UGT1A2P	—
		UGT1A3	Гексафлуоро-1 α -дигидро- роксивитамин D3
		UGT1A5	—
		UGT1A4	Имипрамин, трифлуоперазин
		UGT1A1	Билирубин, эстрадиол 3-глюкуронид
		UGT1A6	Парацетамол (ацетаминофен*), серотонин, 1-нафтол
		UGT1A9	Пропофол
UGT2	4q13	UGT2B11	—
		UGT2B4	Хенодезоксихолевая кислота
		UGT2B9	—
		UGT2B7	Морфин, зидовудин
		UGT2B15	Оксазепам
		UGT2B10	—
		UGT2B8	Андростандиол
		UGT2A обонятельного эпителия	—

Лекарственные средства, метаболиты и ксенобиотики, подвергающиеся глюкуроноированию различными изоферментами

УДФ-глюкуронилтрансферазы

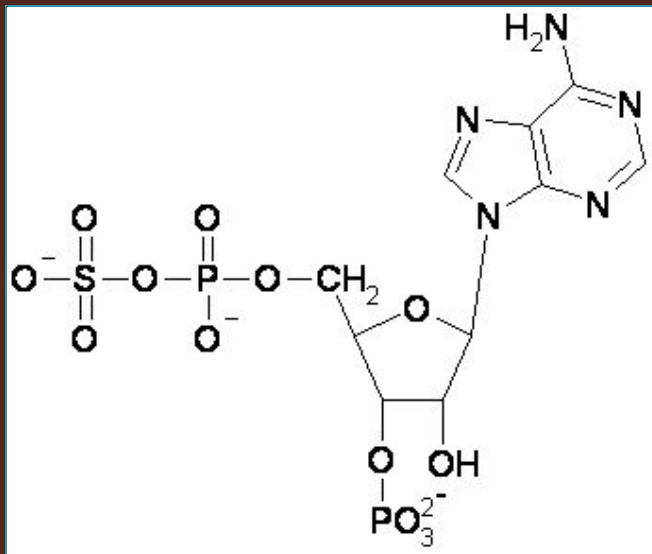
Изофермент	Лекарственные средства, метаболиты, ксенобиотики
UGT1A1	Парацетамол (ацетаминифен*), бропиримин [®] , билирубин [®] , бупренорфин, гемфиброзил, дезлоратадин, иринотекан, каведиллол, налорфин, налтрексон, морфин (3-О-глюкуроноирование), ралоксифен, сертралин, троглитазон, эзетимиб, этинилэстрадиол, этопозид
UGT1A3	Амитриптин, бупренорфин, вальпроевая кислота, диклофенак, ибупрофен, имипрамин, кетопрофен, кетотифен (R- и S-энатиомеры), клозапин, клофибрат, морфин, напроксен, питавастатин [®] , фенопрофен, флубипрофен [®] , ципрофибрат, эзетимиб
UGT1A4	Амитриптилин, доксепин, имипрамин, ламотриджин, кетотифен (R- и S-энатиомеры), клозапин, оланзапин, позоканозол, прометазин, ретигабин, тамоксифен, трифлуоперазин [®] , хлорпромазин, ципрогептадин, SN-38 (активный метаболит иринотекана)
UGT1A6	Парацетамол, 1-нафтол, буметанид, вальпроевая кислота, диклофенак, ибупрофен, метилдопа, морфин (3-О-глюкуроноирование), пропософол, салициловая кислота, SN-38 (активный метаболит иринотекана)
UGT1A7	Микофенольная кислота, SN-38 (активный метаболит иринотекана)

Продолжение таблицы

Изофермент	Лекарственные средства, метаболиты, ксенобиотики
UGT1A8	Морфин (3-O-глюкуронирование), микофеноловая кислота, налоксон, налтрексон, нифлуминовая кислота, пропофол, ралоксифен (4- и 6-глюкуронирование)
UGT1A9	Ацетаминофен (парацетамол), 4-аминосалициловая кислота, вальпроевая кислота, гемфибразил, далсон, диклофенак, ибупрофен, кетопрофен, лабеталол, микофеноловая кислота, морфин (3-O-глюкуронирование), напроксен, никотин, нифлуминовая кислота, оксазепам (R-энантиомер), пропофол, пропранолол, ралоксифен (4- и 6-глюкуронирование), толкапон, фенол, флубипрофен ^р , фуросемид, этинилэстрадиол
UGT1A10	Иринотекан, микофеноловая кислота, морфин (3-O-глюкуронирование), ралоксифен (4-глюкуронирование), троглитазон ^р
UGT2B4	Карведилол
UGT2B7	Бупринорфен, вальпроевая кислота, гемфиброзил, диклофенак, залтопрофен, зидовудин, зомепирак, ибупрофен, индометацин, карведилол, карбамазепин, кетопрофен, клофебрат, кодеин, морфин (3-O- и 6-O-глюкуронирование), налтрексон, налорфин, оксазепам (R- и S-энантиомеры), питавастатин ^р , такролимус, тиопрофеновая кислота ^р , фенопрофен ^р , флубипрофен ^р , циклоспорин А, эзетимиб
UGT2B15	Андростандиол1, 3-гидроксирофекоксиб, лоразепам, оксазепам (R- и S-энантиомеры), толкапон, энтакпон, SN-38 (активный метаболит иринотекана)
UGT2B17	Ибупрофен
UGT2B28	17β-эстрадиол, тестостерон

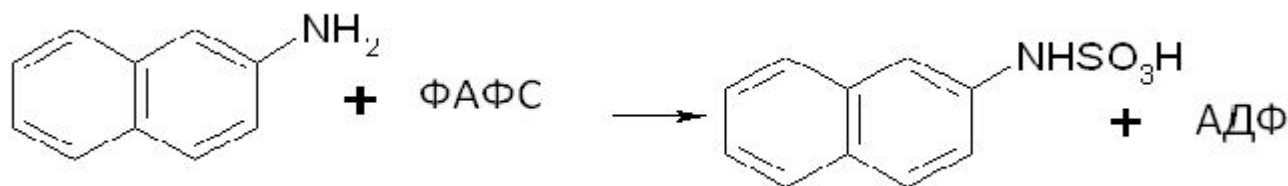
2. Сульфатная конъюгация

В реакцию вступают 6 классов органических веществ (алкоголи, ароматические амины, фенолы, ариламины, гидроксиламины, некоторые стероиды).



Активная форма – 3'-фосфаденозин-5'-фосфосульфат (ФАФС). Синтез осуществляет сульфотрансфераза.

Пример сульфатной конъюгации



Сульфатная конъюгация – наиболее древняя и простая форма детоксикации.

Источником неорганического сульфата является сера из пищи и процессы окислительного превращения цистеина.

В ряде случаев несовершенна, например, непрямой канцероген N-гидроксиацетиламинофлуорен после связывания с сульфатом спонтанно взаимодействует с белками и НК, оказывая канцерогенный эффект.

Связывание этого же вещества с глюкуроновой кислотой ведет к образованию нетоксичного глюкуронидного конъюгата.

Сульфатная и глюкуронидная конъюгации конкурируют за субстрат. Выбор пути – индивидуален.

Сульфотрансферазы локализуются в цитозоле.

В организме человека – три семейства.

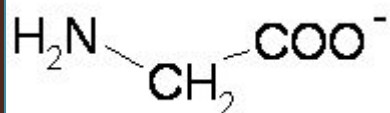
Идентифицировано около 40 ИФ, кодируются ~ 10 генами.

Наибольшая роль в сульфатировании лекарственных веществ и их метаболитов принадлежит ИФ семейства SULT1. SULT1A1 и SULT1A3 - самые важные.

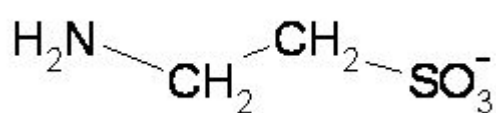
ИФ SULT1 локализованы в печени, толстой и тонкой кишке, легких, головном мозге, селезенке, плаценте, лейкоцитах. Имеют молекулярную массу около 34 кДа и состоят из 295 аминокислотных остатков, ген SULT1 локализован в 16 хромосоме (локус 16p11.2).

SULT1A1 – термостабилен, катализирует сульфатирование «простых фенолов», лекарственных веществ фенольной структуры (миноксидил, ацетаминофен, морфин, салициламид, изопреналин и некоторые другие).

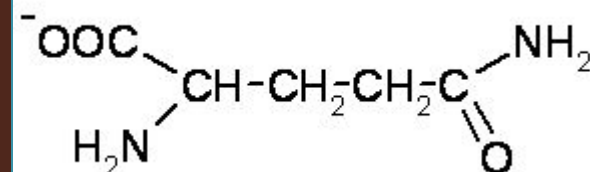
3. Конъюгация с аминокислотами



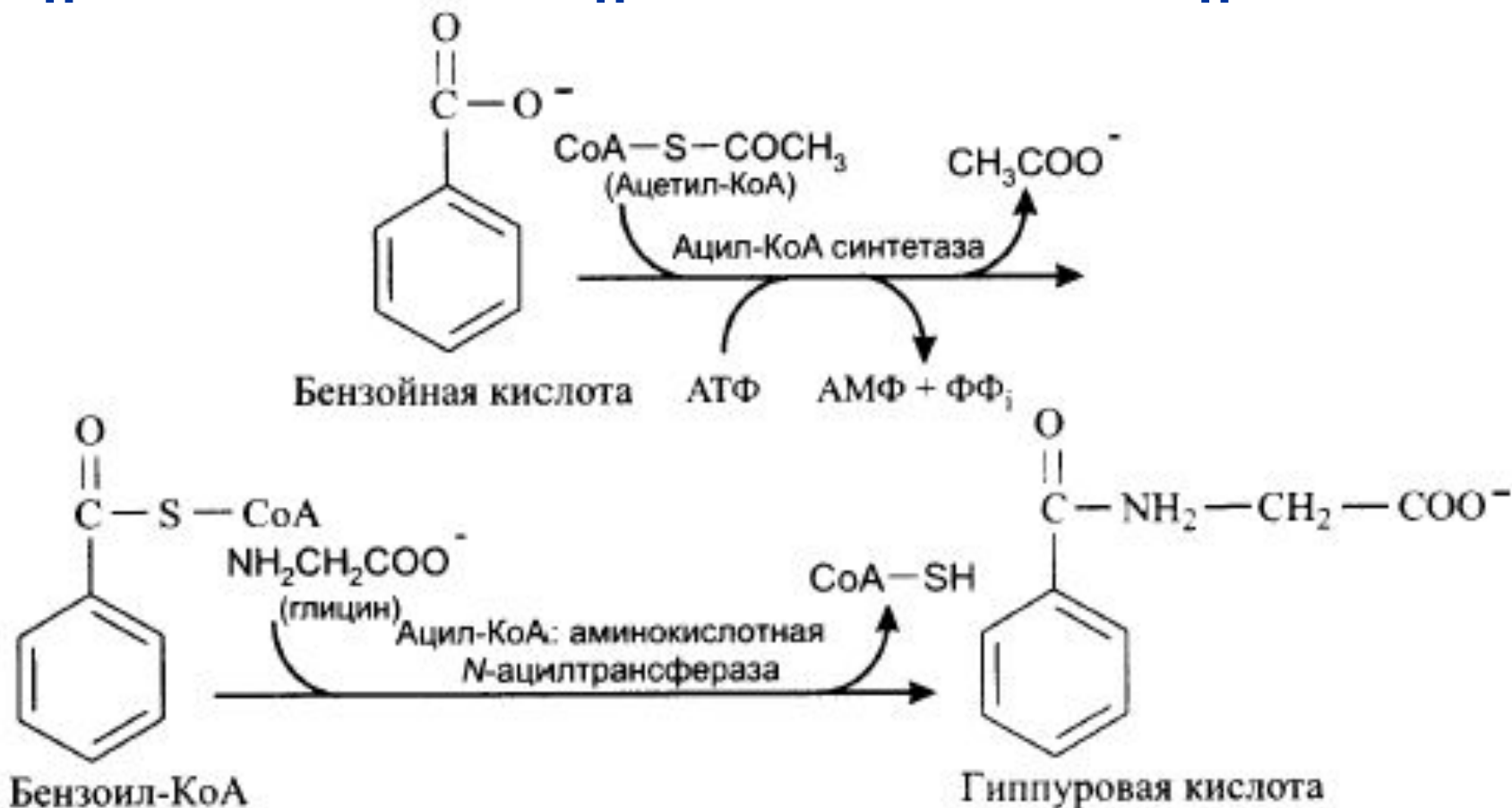
глицин
H



таурин
H



глутамин
H



Аминокислотная конъюгация – взаимодействие ксенобиотиков или их метаболитов с аминокислотами (**глицин, глутамин, таурин и др.**). Глициновые конъюгаты бензойной, салициловой, никотиновой и других кислот имеют название **гиппуровые кислоты**.

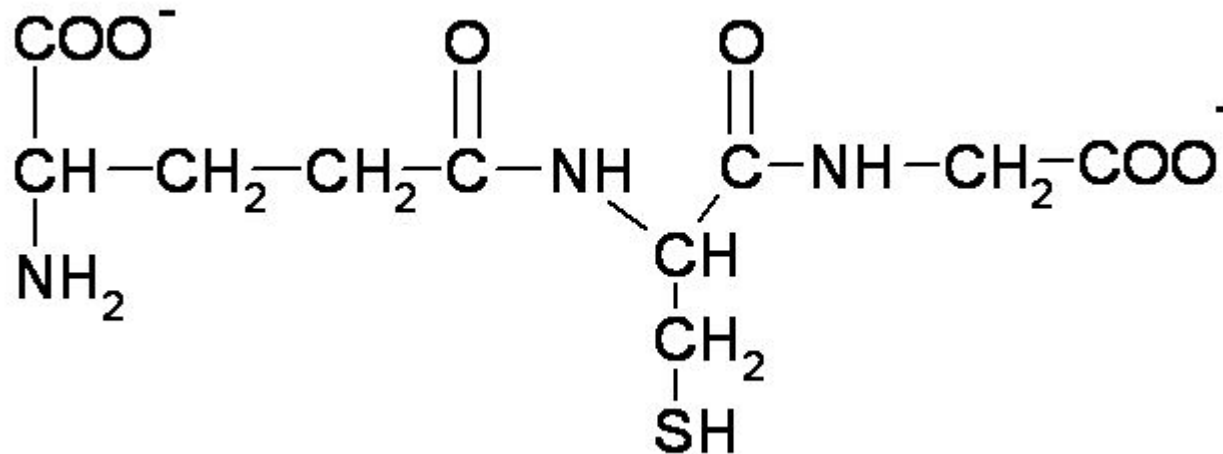
Особенность этой конъюгации – ксенобиотик вступает в реакцию в активной форме (в других типах конъюгации активируется биомолекула). Активация осуществляется путем взаимодействия ксенобиотика с HS-KoA.

Пептидная конъюгация характерна для соединений, содержащих карбоксильные группы.

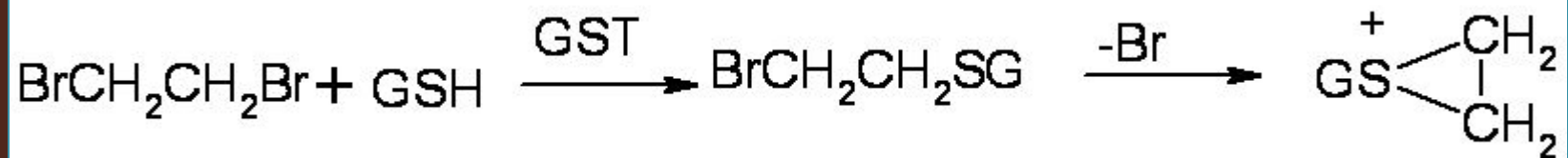
Катализируют аминокислотную конъюгацию:

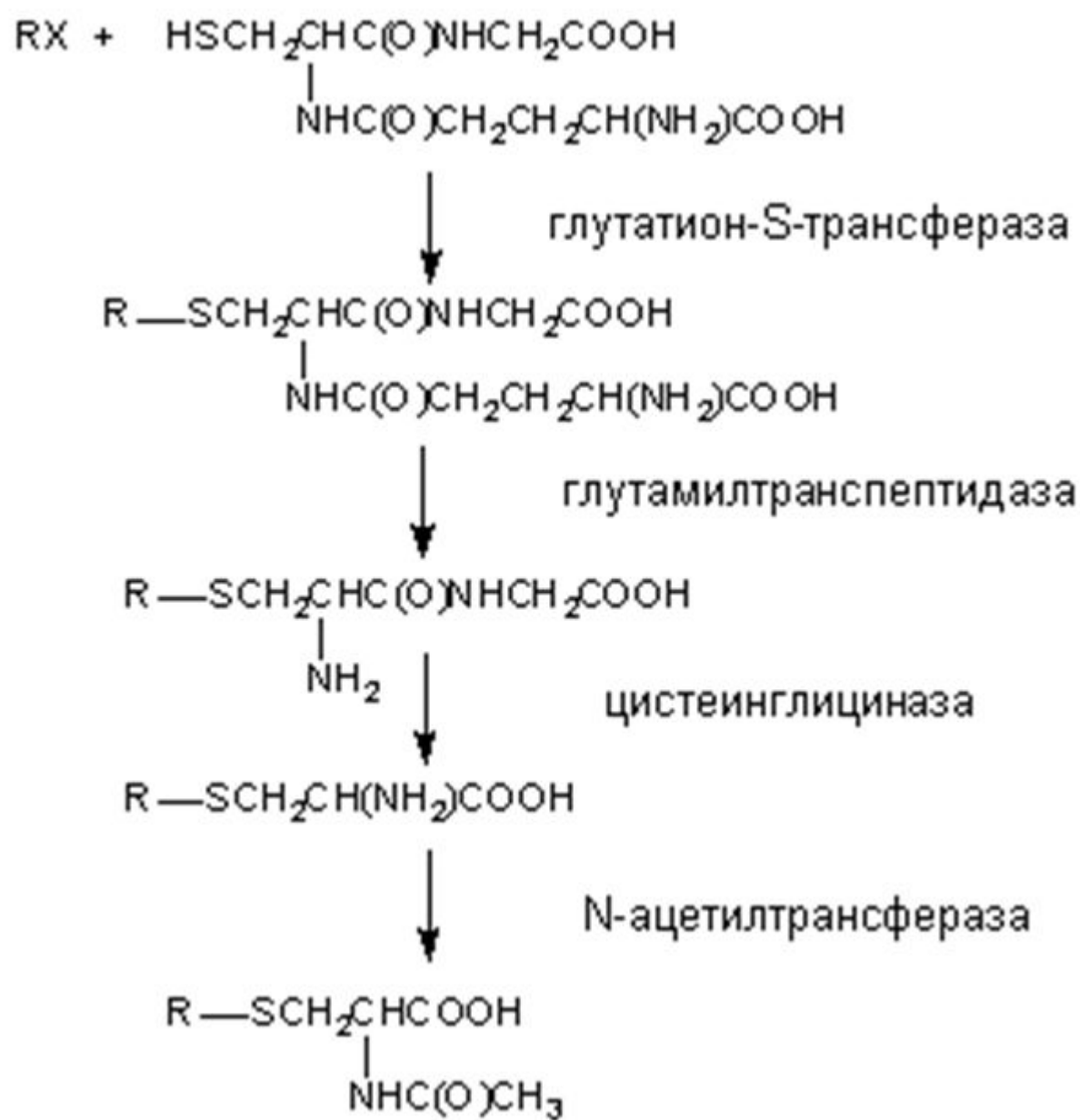
- ацил-KoA-синтетаза – синтезирует ацил-SKoA-производное ксенобиотика с затратой АТФ,
- ацилтрансфераза - переносит ксенобиотик на соответствующую аминокислоту.

4. Конъюгация с глутатионом



Глутатион , или γ-
глутамилцистеинилглицин.





Конъюгации с глутатионом подвергаются: эпоксиды, ареноксиды, гидроксиламины (некоторые из них обладают канцерогенным действием).

Среди лекарственных веществ с глутатионом конъюгируют этакриновая кислота (урегит), гепатотоксичный метаболит ацетаминофена (парацетамола) - N-ацетилбензохинонимин (нетоксичный конъюгат).

В результате реакции конъюгации с глутатионом конечными продуктами являются цистеиновые конъюгаты ксенобиотика – меркаптуровые кислоты, или тиоэстеры.

Глутатион SH-S-трансферазы (GST) локализованы в цитозоле, описана и микросомальная GST.

Активность GST в эритроцитах человека у различных индивидуумов различается в 6 раз, однако зависимость активности фермента от пола при этом отсутствует. Установлена четкая корреляция активности GST у детей и их родителей.

По идентичности аминокислотного состава у млекопитающих выделяют 6 классов GST:

α - (альфа-), μ - (мю-), κ - (каппа-), θ - (тета-), π - (пи-) и σ - (сигма-) GST.

В организме человека в основном экспрессируются GST классов μ (GSTM), θ (GSTT) и π (GSTP). Среди них наибольшее значение в метаболизме ксенобиотиков имеют GSTM.

Выделено 5 изоферментов GSTM: GSTM1, GSTM2, GSTM3, GSTM4 и GSTM5. Ген GSTM локализован в хромосоме 1 (локус 1p13.3).

ИФ GSTM экспрессируются и функционируют в определенных тканях. Ген GSTM локализован в хромосоме 1 (локус 1p13.3).

Например, выделено 5 изоферментов GSTM: GSTM1, GSTM2, GSTM3, GSTM4 и GSTM5.

GSTM1 экспрессируется в печени, почках, надпочечниках, желудке; слабая экспрессия найдена в скелетных мышцах, миокарде, не экспрессируется в печени плода, фибробластах,

Важная роль в инактивации канцерогенов принадлежит GSTM1. Установлено достоверное увеличение частоты злокачественных заболеваний среди носителей нулевых аллелей гена GSTM1 (отсутствует экспрессия GSTM1). Harada и соавт. (1987) обнаружили, что нулевая аллель гена GSTM1 достоверно чаще встречается у больных с гепатокарциномой.

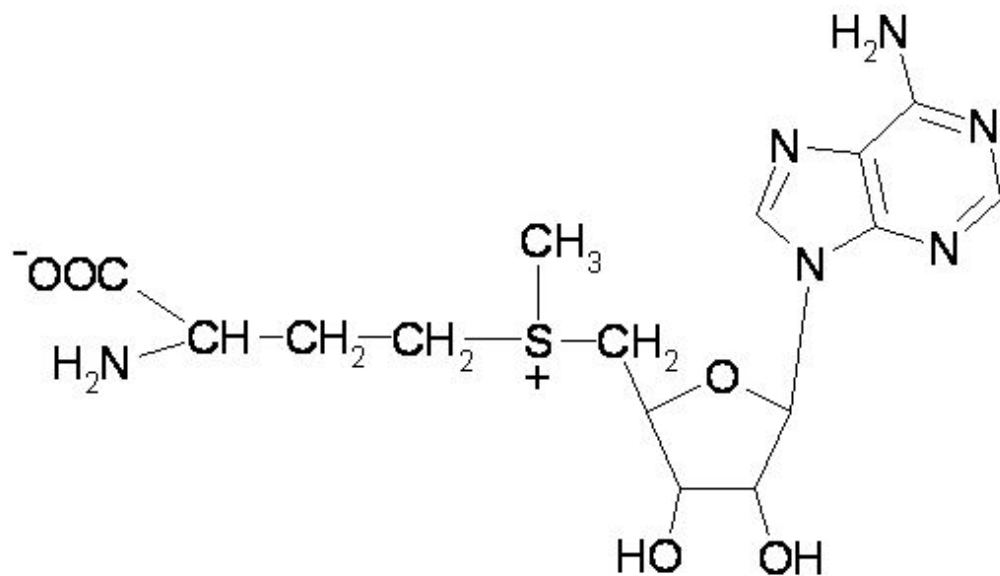
Распространенность нулевой аллели GSTM1 среди европейского населения составляет 40-45%, у представителей негроидной расы - 60%.

Имеются данные о более высокой частоте рака легких и рака ободочной кишки (70 %) у носителей нулевой аллели.

ИФ класса π – GSTP1, локализованный главным образом в печени и структурах гематоэнцефалического барьера, участвует в инактивации пестицидов и гербицидов, широко

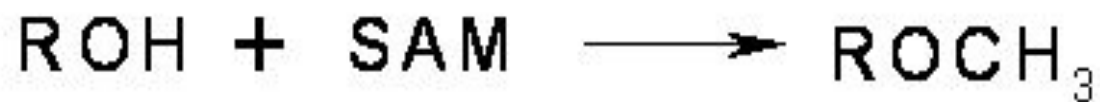
5.

Метилирование



S-

аденозилметионин



Метилирование по сравнению с другими реакциями конъюгации имеет одну особенность. **В результате присоединения метильной группы продукт реакции не становится более гидрофильным.**

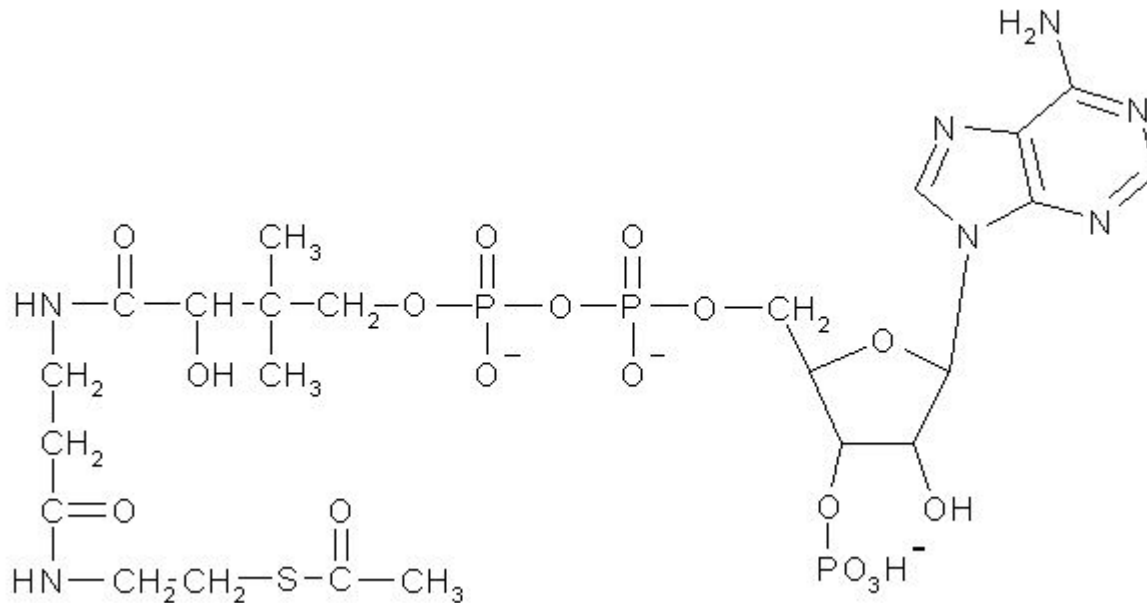
Тем не менее метильная конъюгация выполняет важную роль, так как в результате метилирования связываются чрезвычайно реакционноспособные SH- и NH-группы.

Для медицины наиболее важна **тиопурин S-метилтрансфераза (TPMT)** – фермент, катализирующий реакцию **S-метилирования производных тиопурина** – основной путь метаболизма цитостатических веществ из группы антагонистов пурина:

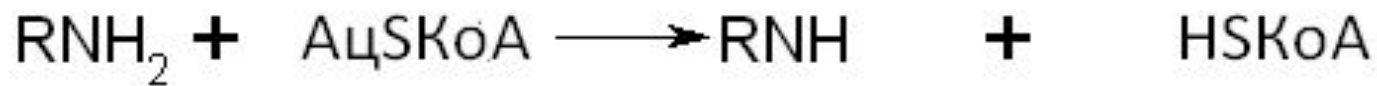
6-меркаптопурина, 6-тиогуанина, азатиоприна.

6-меркаптопурин используют в составе комбинированной химиотерапии миелобластного и лимфобластного лейкоза, хронического миелолейкоза, лимфосаркомы, саркомы мягких тканей.

6. Ацетилирование



Ацетил коэнзим
А



Ацетилирование – один из самых древних механизмов адаптации, необходимо для синтеза жирных кислот, стероидов, функционирования цикла Кребса.

Ацетилированию подвергаются ЛС, бытовые и промышленные яды преимущественно в печени

Контроль интенсивности происходит при участии β_2 -адренорецепторов и зависит от метаболических резервов (пантотеновой кислоты, пиридоксина, тиамина, липоевой кислоты), генотипа, функционального состояния печени и других органов, содержащих фермент.

Ацетилтрансферазы – выделено два изофермента: NAT1 и NAT2.

NAT1 ацетирует небольшое количество ариламинов и не обладает генетическим полиморфизмом.

NAT2 является основным изоферментом с широкой субстратной специфичностью, ацетирует различные ЛС, в том числе изониазид и сульфаниламиды. Ген NAT2 расположен в хромосоме 8 (локусы 8p23.1, 8p23.2 и 8p23.3).

В зависимости от скорости ацетилирования в человеческой популяции выделяются 2 группы. К одной из них относятся лица, метаболизирующие тест-препараты с высокой скоростью (быстрое ацетилирование), другую отличает низкая скорость процесса (медленное ацетилирование).

Определено генетическое наследование фенотипа ацетилирования, Медленный тип – простой менделевский рецессивный признак, быстрый тип – доминантный. Лица с медленным типом ацетилирования (медленные ацетиляторы) являются гомозиготами (гг) для аутосомного рецессивного гена (г), а быстрые ацетиляторы - гомозиготами (RR) или гетерозиготами (Rr) по доминантному гену.

В разных этнических группах частота фенотипов ацетилирования различна. У представителей монголоидной расы преобладают лица с быстрым типом ацетилирования. Среди европейцев быстрый и медленный типы встречаются примерно с одинаковой частотой. В российской популяции соотношение примерно 40% и 60% соответственно.

Превалирование медленного типа ацетилирования описано у больных туберкулезом, острым вирусным гепатитом, ревматоидным артритом, системными заболеваниями соединительной ткани, в

Лекарственные средства, подвергающиеся ацетилированию

Группа лекарственных средств	Примеры лекарственных средств
Сердечно-сосудистые ЛС	Прокаинамид, гидралазин, левосимендан
Сульфаниламиды	Сульфасалазин, сульфаметоксазол, сульфадиазин
Ингибиторы стероидогенеза	Аминоглутетимид
Противотуберкулёзные ЛС	Изониазид, аминосалициловая кислота (ПАСК) пара-аминосалицилат натрия
Бензодиазепины	Нитразепам
Другие ЛС	Кофеин, аминобензойная кислота (ПАБК) пара-аминобензойная кислота

Далеко не всегда биотрансформация ксенобиотиков представляет собой простое чередование 1-й и 2-й фаз метаболизма. Возможна и более сложная последовательность реакций.

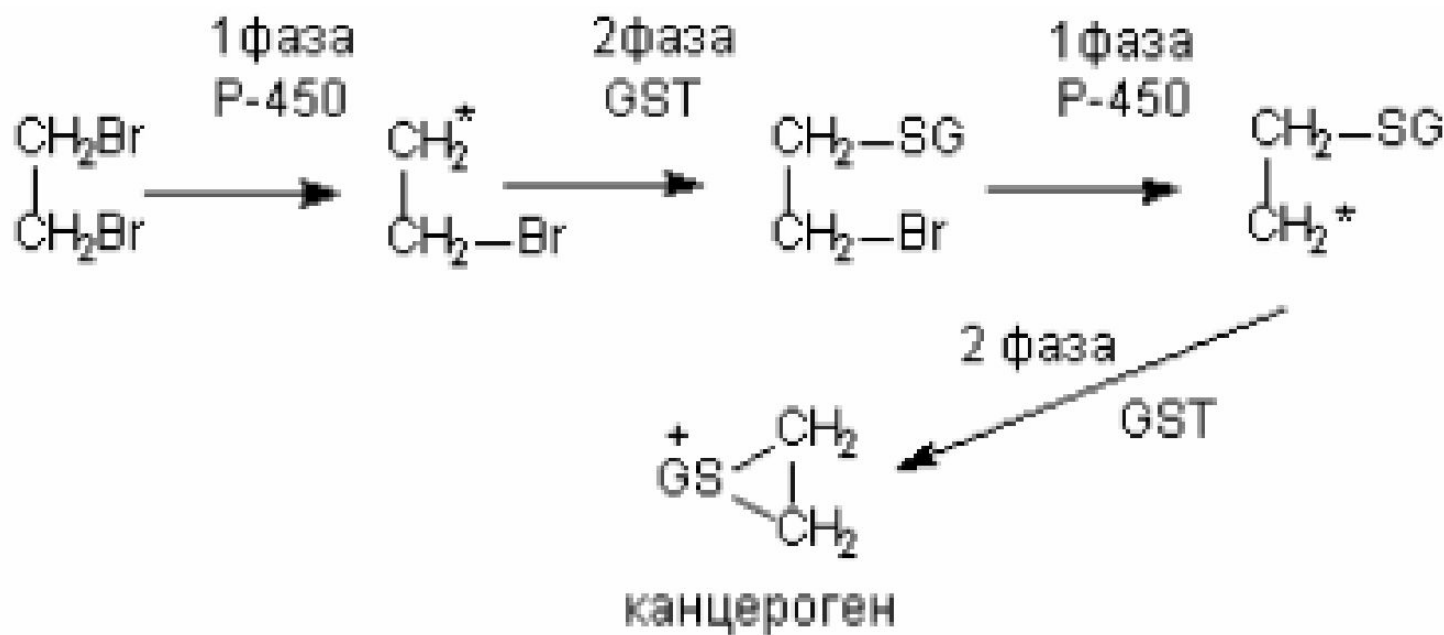


Схема последовательности метаболических превращений дибромэтана (GST – глутатион-S-трансфераза, GS – глутатион)

Третья фаза обезвреживания веществ – фаза эвакуации

В настоящее время выделяют третью фазу биотрансформации: так называемую **фазу эвакуации**, в которой основную роль отводят специфическим транспортным системам – белкам **(Р-гликопротеинам - P-gr)**, участвующим в регуляции абсорбции, распределении и экскреции ксенобиотиков (в желчь, кровь).

P-gr удаляют ксенобиотики из клеточной мембраны и цитоплазмы, препятствуют всасыванию ксенобиотиков в кишечнике.

Индукция транспортеров может приводить к различным изменениям (преимущественно к повышению) концентрации химического вещества в плазме крови, в зависимости от функций данного транспортера. При этом **один и тот же индуктор может повышать активность фермента или транспортера у различных индивидуумов в 15-100 раз.**

Транспортеры органических анионов и катионов осуществляют выведение гидрофильных ксенобиотиков и их метаболитов печенью – в желчь, почками – в мочу.

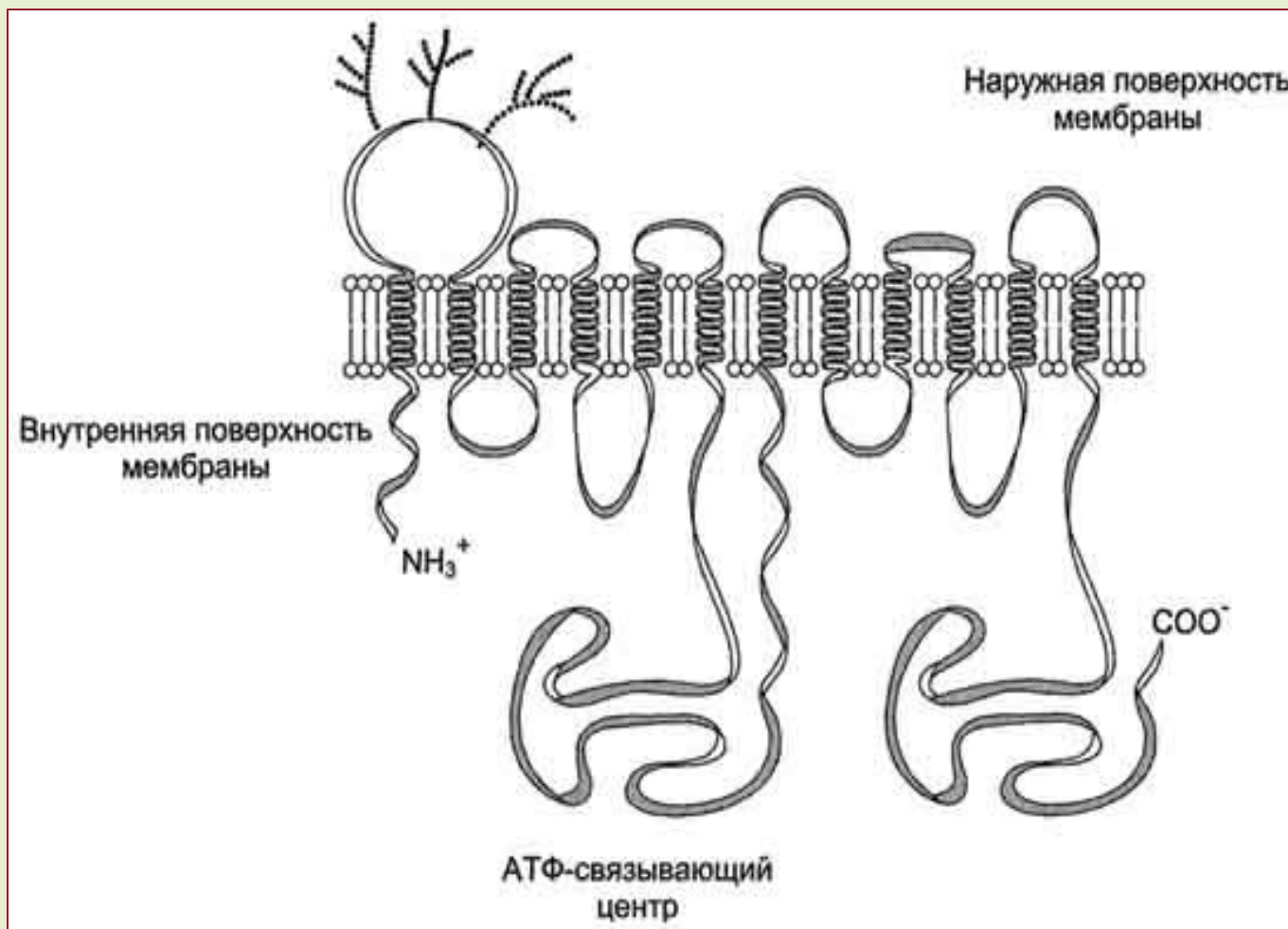
Участие Р-гликопротеина в выведении ксенобиотиков

Примером служит Р-gr белок (транспортная Р-АТФ-аза) **в норме участвующий в экскреции ионов хлора и гидрофобных токсических соединений из клеток.**

Это фосфогликопротеин с молекулярной массой 170 кД присутствует в плазматической мембране клеток многих тканей, в частности почек и кишечника.

Полипептидная цепь содержит 1280 аминокислот-ных остатков, образуя 12

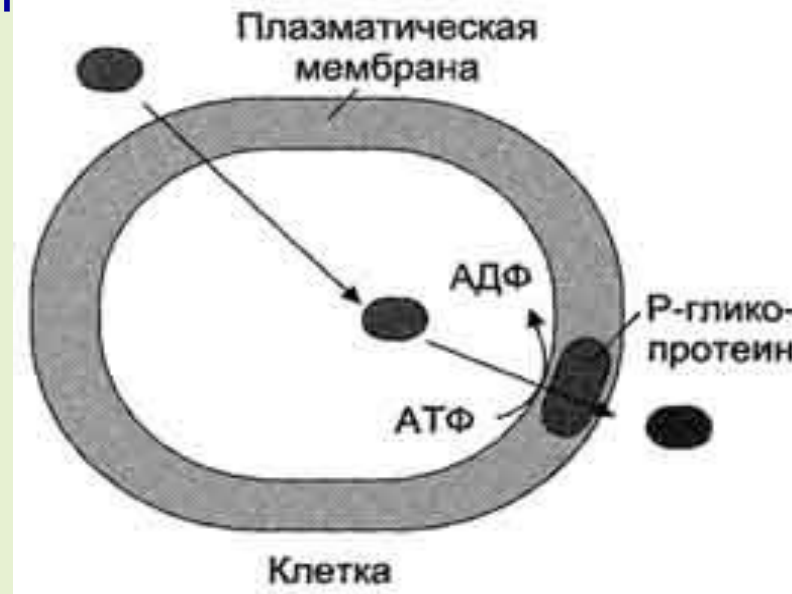
трансмембранных доменов и две АТФ



Строение Р-гликопротеина

Р-гликопротеин удаляет из клеток гидрофобные вещества (например, противоопухолевые лекарства), проникающие в клетку.

Уменьшение количества лекарства в клетке снижает эффективность его применения при химиотерапии онкологических заболеваний.



Функционирование Р-гликопротеина. Черный овал – противоопухолевое лекарство (гидрофобное вещество).

Было установлено, что при химиотерапии злокачественных процессов начальная эффективность лекарства часто постепенно снижается.

Развивается множественная лекарственная устойчивость, т.е. устойчивость не только к этому лечебному препарату, но и целому ряду других лекарств.

Это происходит потому, что противоопухолевые лекарства индуцируют синтез Р-гликопротеина, глутатионтрансферазы и глутатиона, и быстрее выводятся из клетки.

Использование веществ, регулирующих синтез Р-гликопротеина, повышает эффективность химиотерапии.

Факторы, влияющие на метаболизм

чужеродных соединений:

1. генетические и внутривидовые различия (возможны генетические дефекты ферментов, их изучением занимается фармакогенетика).

2. физиологические, биохимические:

- возраст;
- наличие, активность и соотношение ферментных систем;
- половые различия;
- гормональный фон;
- беременность;
- питание;
- патологические состояния, заболевания;
- длительное применение лекарств.

3. окружающей среды:

- стресс;
- ионизирующая радиация;
- стимулирование метаболизма чужеродными соединениями;
- ингибирование метаболизма чужеродными соединениями.

Гниение аминокислот в кишечнике. Обезвреживание и выведение продуктов гниения из организма

Аминокислоты, не всосавшиеся в клетки кишечника, используются микрофлорой толстой кишки в качестве питательных веществ.

Ферменты бактерий расщепляют аминокислоты и превращают их в амины, фенолы, индол, скатол, сероводород и другие ядовитые для организма соединения.

Этот процесс иногда называют гниением белков в кишечнике.

В основе гниения лежат реакции декарбоксилирования и дезаминирования аминокислот.

В процессе постепенного и глубокого

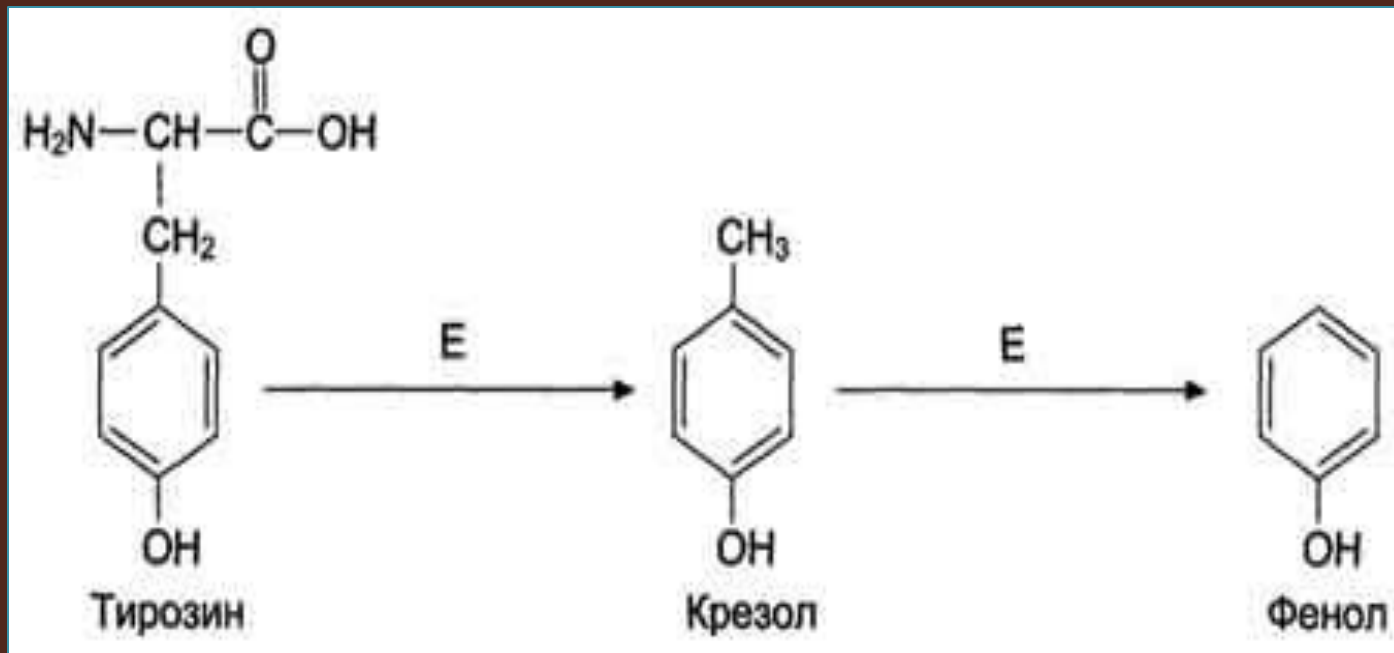
распада серосодержащих аминокислот (цистина, цистеина и метионина) в кишечнике образуются сероводород (H_2S) и метилмеркаптан (CH_3SH).

Диаминокислоты, в частности орнитин и лизин, подвергаются процессу декарбоксилирования с образованием соответствующих аминов (птомаинов, или трупных ядов, поскольку они образуются также при гнилостном разложении трупов). Из орнитина образуется путресцин, а из лизина – кадаверин.

При отщеплении воды от холина в процессе гниения образуется нейрин – очень ядовитое вещество.

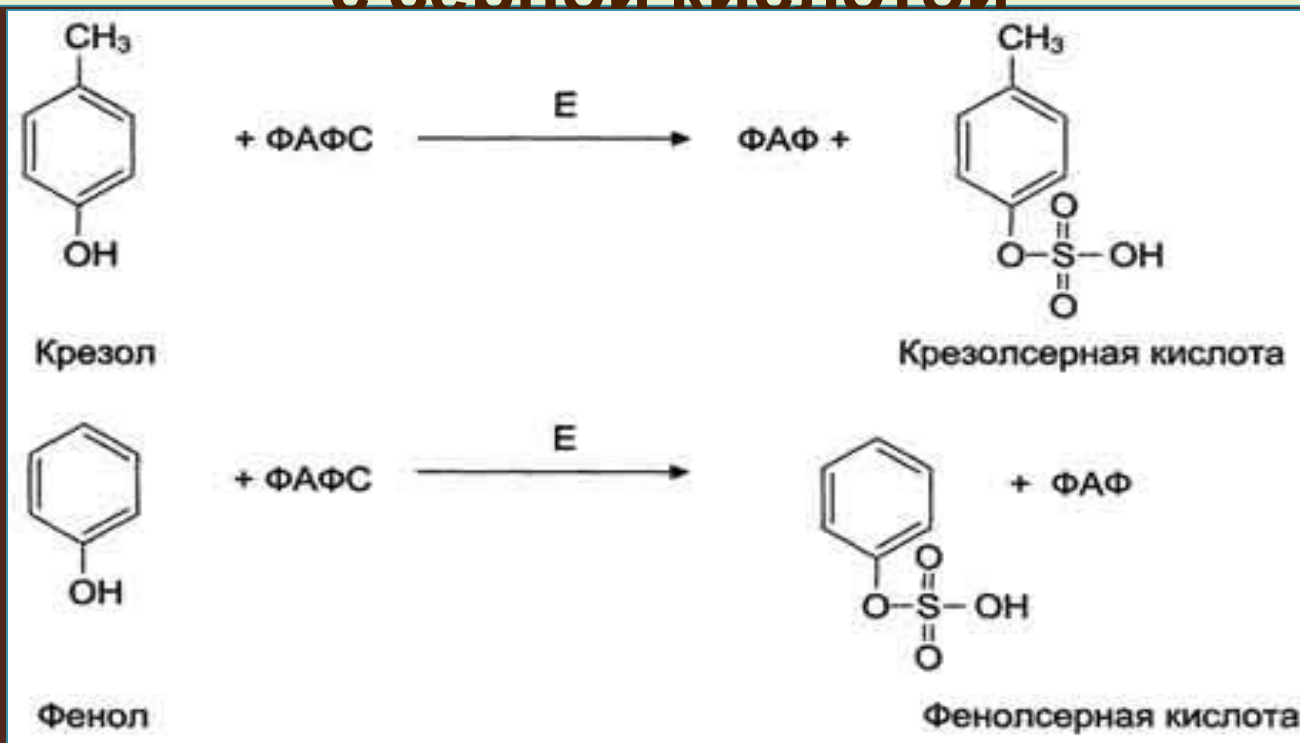
Образование и обезвреживание п-крезола и фенола

Под действием ферментов бактерий из аминокислоты тирозина могут образовываться фенол и крезол путем разрушения боковых цепей аминокислот.



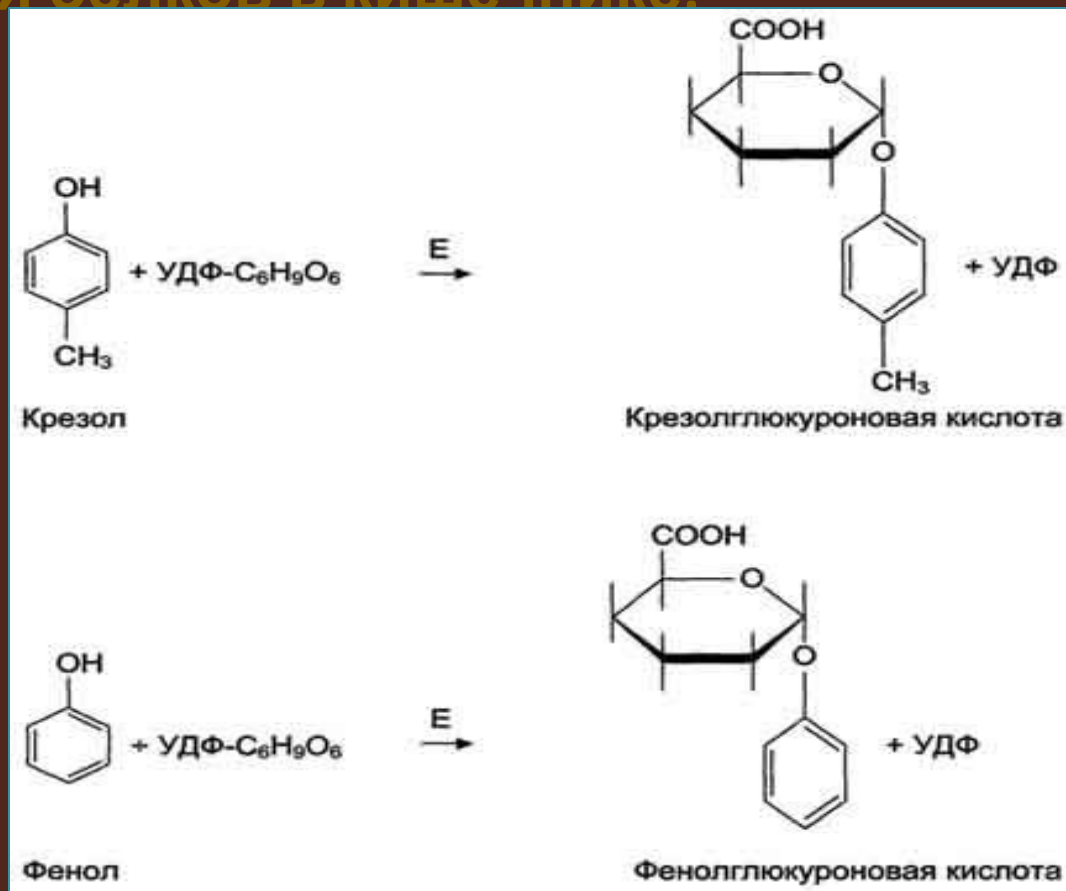
Всосавшиеся продукты по воротной вене поступают в печень и подвергаются конъюгации с сернокислотным остатком (ФАФС) или с глюкуроновой кислотой. Продукты конъюгации хорошо растворимы в воде и выводятся с мочой через почки.

Образование конъюгатов крезола и фенола с серной кислотой



Образование конъюгатов крезола и фенола с глюкуроновой кислотой

Повышение количества конъюгатов глюкуроновой кислоты с фенолом и крезолом обнаруживают в моче при увеличении продуктов гниения белков в кишечнике.

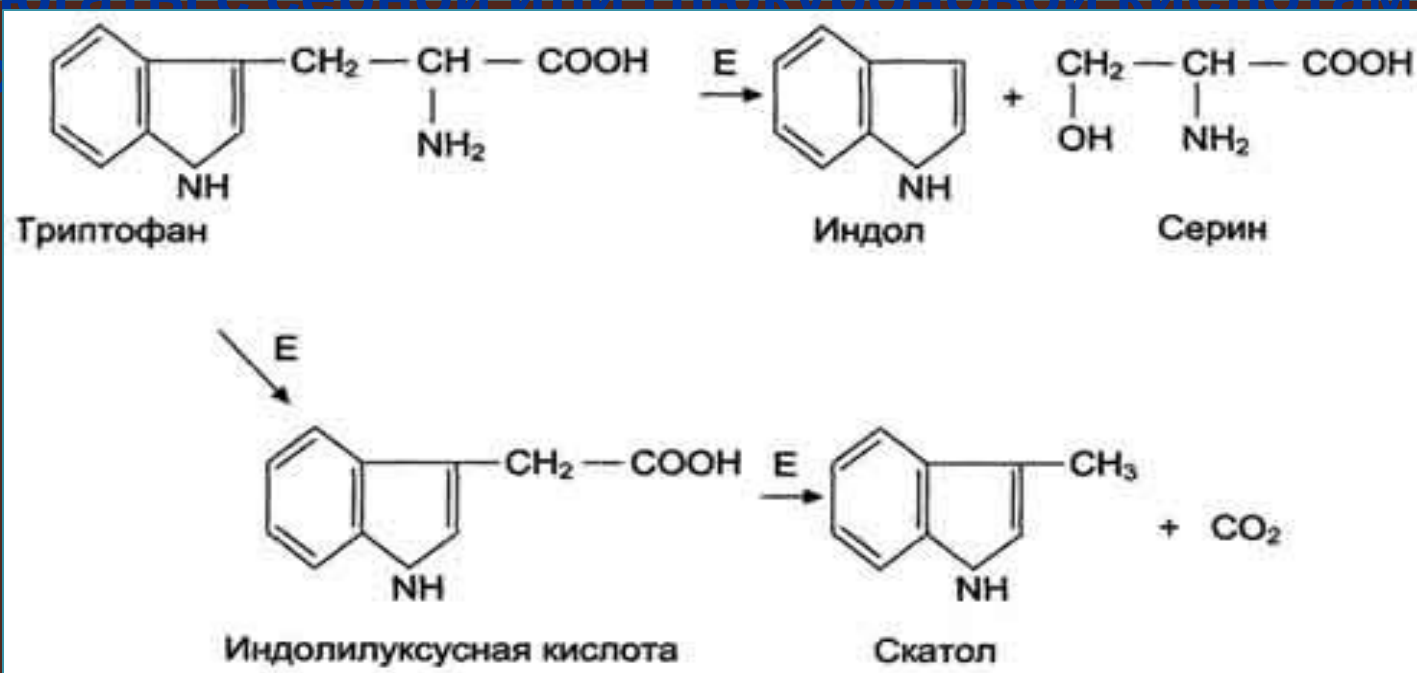


Образование и обезвреживание индола и скатола

В кишечнике из триптофана микроорганизмы образуют индол и скатол. У скатола частично разрушается боковая цепь, индол полностью ее лишен.

Скатол и индол – ядовитые вещества, определяющие запах кала.

Они также обезвреживаются в печени образуя, конъюгаты с серной или глюкуроновой кислотами, и выводятся из организма.



Коренные жители Крайнего Севера готовят блюда национальной кухни, которые шокируют неподготовленного человека. Мясо закапывают на несколько недель или месяцев, а затем поедают в качестве деликатеса.

В Исландии это хакарл из акулы, на территории от Гренландии до Чукотки — кивиак (тюлень, фаршированный чайками и закопанный на семь месяцев). Российские чукчи просто обожают похлёбку из оленины, выдержанной в течение нескольких недель в сарае. А копальхем готовят из моржа, тюленя, оленя (ненецкий, чукотский, эвенкийский вариант), утки (гренландский вариант), кита (эскимосский вариант). Убитый олень погружается в болото и присыпается торфом, закладывается ветками и камнями, и оставляется на несколько месяцев. По истечении срока труп извлекается и употребляется в пищу. Это не только деликатес, но и сакральная еда.

! Это еще не самые отвратительные (с нашей точки зрения) блюда мира.

При употреблении копальхена любой человек, если только он не питается им с детства, получает сильнейшее отравление из-за содержания в большом количестве трупных ядов – кадаверина, путресцина, нейрина и др. При отсутствии своевременной медицинской помощи такой эксперимент может закончиться летальным исходом.

Птомаины токсичны, в особенности нейрин. Действие нейрина на организм сравнимо с действием мускарина и фосфорорганических ядов.



Приготовление кивиака