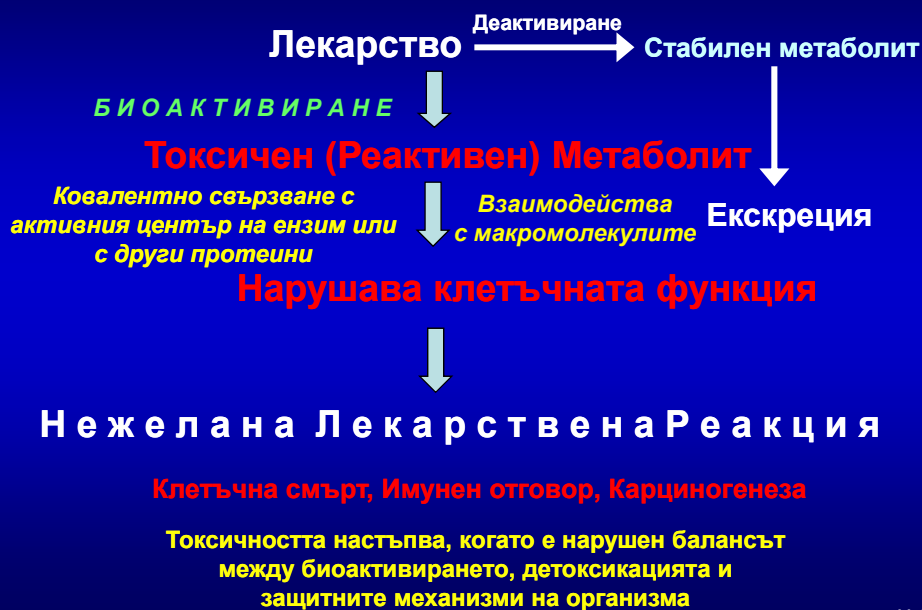


11. Процеси на биоактивиране (I и II фаза на биотрансформацията) и детоксикация – механизми, значимост

Доц. д-р М. Мичева дм

11.1.

Роля на биотрансформацията в лекарство-индуцираната токсичност



11.2.

Реактивни метаболити - характеристика

- Продукти на ензимното биоактивиране на ксенобиотиците:
 - в процеса могат да участват един или много ензими
 - в резултат на реакции от:
 - I Фаза (окисление/редукция)
 - II Фаза на метаболизма
- Нестабилни
 - По-електрофилни са от майчината молекула
 - С кратък живот (сек – мин)
 - Могат да преминат в стабилни метаболити
 - Трудно могат да бъдат определени директно

11.3.

Реактивни метаболити – характеристика

- Реактивни метаболити могат да се образуват от различни функционални групи (в структурата на ксенобиотика):
 - Феноли и хидроксифенил-съдържащи вещества
 - Фуран – след разцепване
 - Алкени – образуват стабилни междинни епоксиди
 - Глюкуронирането на карбоксилна група – ацил-глюкурониди
- Типични представители
 - Парацетамол, Карбамазепин, Диклофенак, Клозапин (невролептик-добензодиазепиново производно), Халотан, Тетрахлорметан

11.4.

1. Биоактивиране чрез реакции на I Фаза (CYP-медириани)

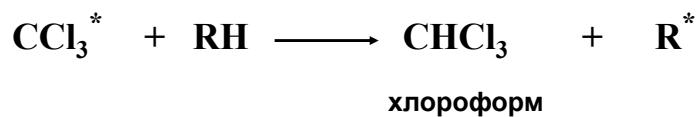
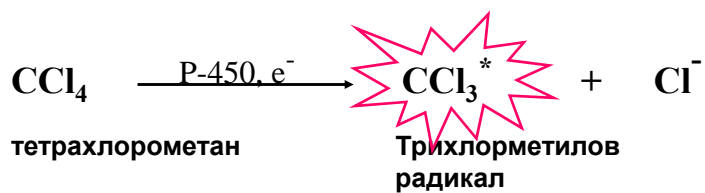
11.5.



Съединение	Реактивен метаболит	Токсичен ефект
бромбензен		Чернодробна некроза
винилхлорид		Рак на черния дроб
анилин		Метхемоглобинемия
хлороформ		ЧД/бъбрек некроза

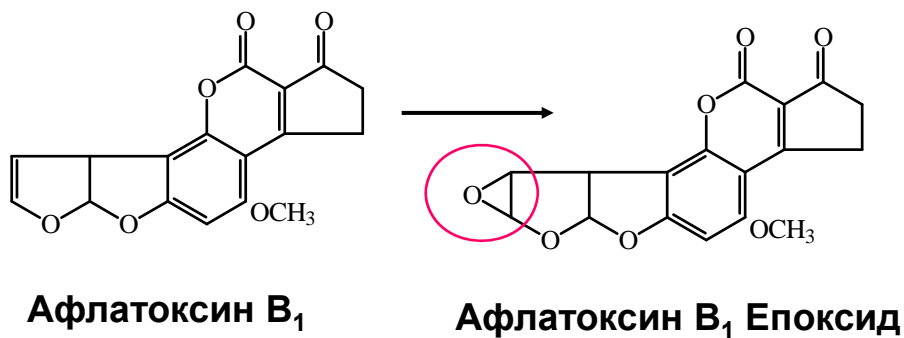
11.7.

Образуване на свободни радикали



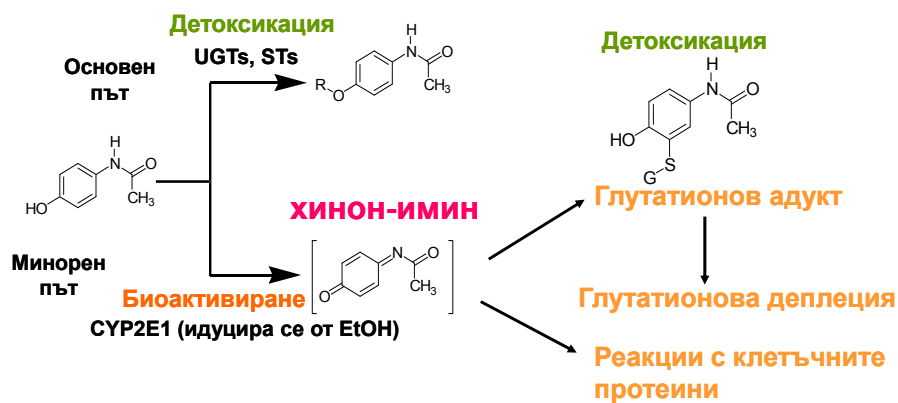
11.8.

Реактивни междинни метаболити на афлатоксин



11.9.

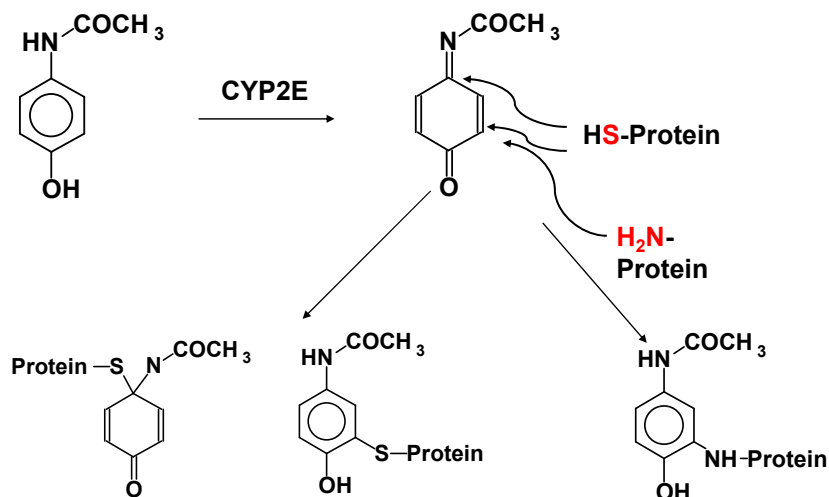
Парацетамол – биоактивиране чрез реакции на I Фаза (CYP-медирани)



- Дозо-зависимо образуване на реактивен метаболит
- Хепатотоксичност се наблюдава във високи дози (> 4 g/на ден)
- Около 5% от дозата се метаболизира до реактивен хинонимин (CYP 2E1, 1A2, 3A4)

11.10.

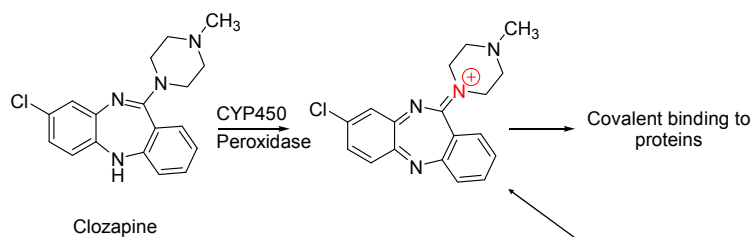
Парацетамол - протеинови адукти



S.D. Nelson, *Drug Metab. Rev.* 27: 147-177 (1995)
 J.L. Holtzman, *Drug Metab. Rev.* 27: 277-297 (1995)

11.11.

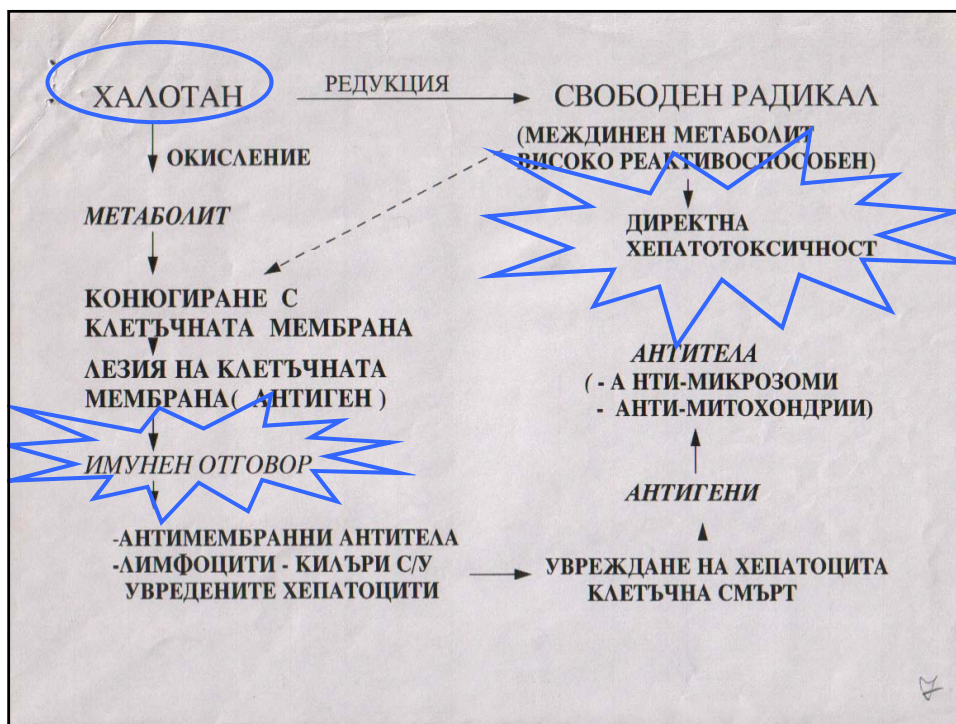
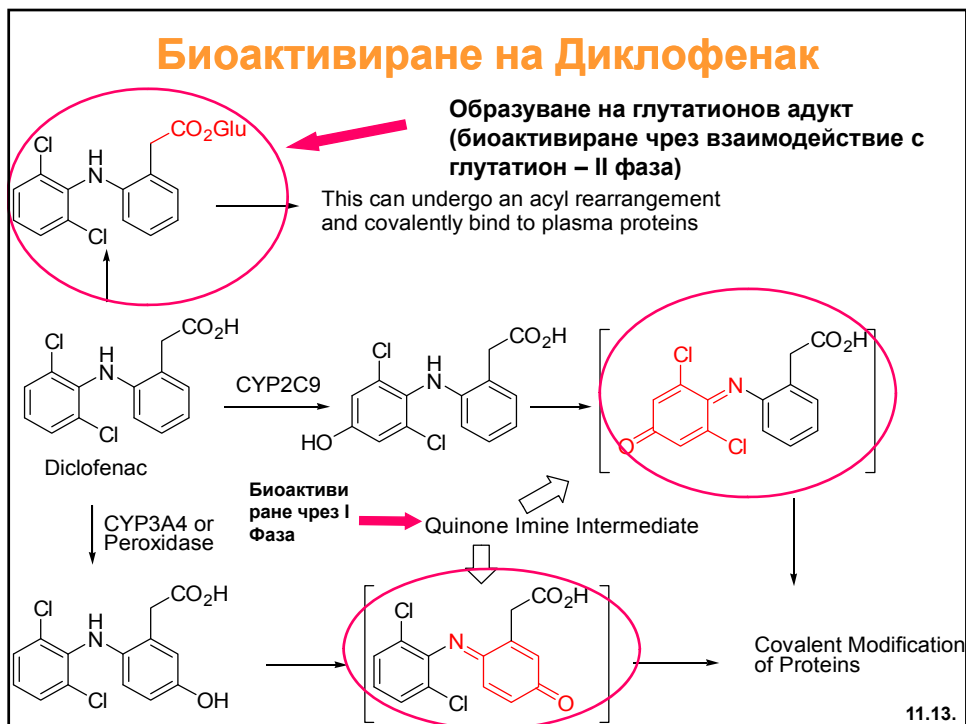
Клозапин – биоактивиране чрез реакции на I Фаза (CYP-медирирани)

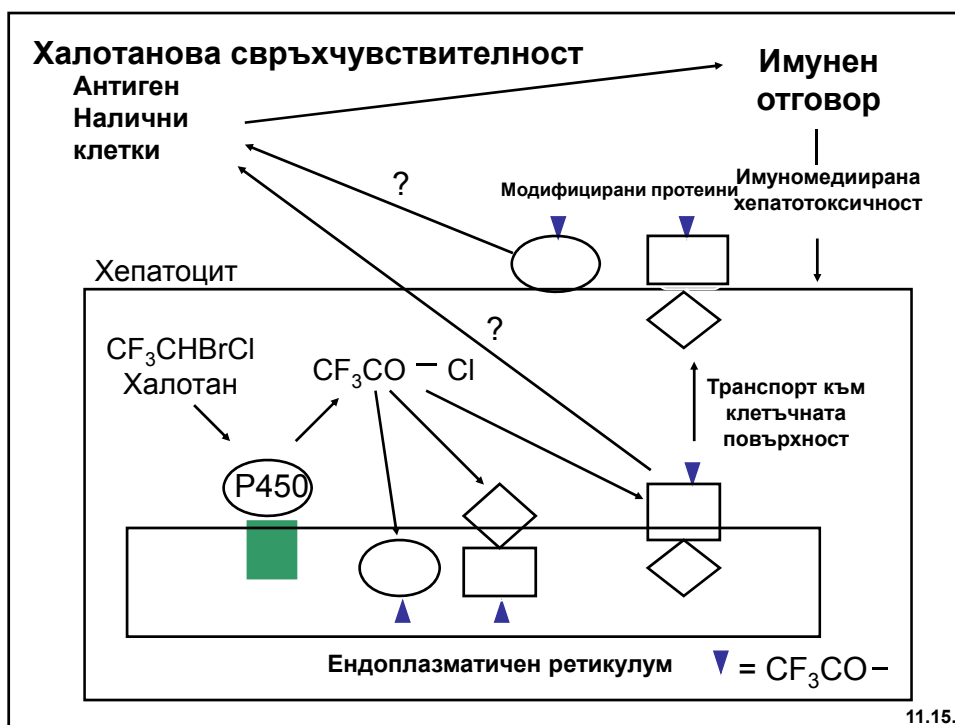


**Метаболизира до реактивни
междинни метаболити**

- Атипично антипсихотично лекарство средство
- Презизвиква агранулоцитоза при 1% от пациентите
 - Всички пациенти трябва периодично да изследват количеството на кръвните клетки и по-специално на левкоцитите

11.12.





Разлики между директна чернодробна токсичност и свръхчувствителност (резултат от ензимното биоактивиране)

Реакции на свръхчувствителност

- Дозо-независими промени
- Непредсказуеми – редки по честота
- Невъзпроизводими експериментално промени (засега)
- Различен латентен период (дни-седмици)
- Съпътстващи екстрахепатални реакции на свръхчувствителност

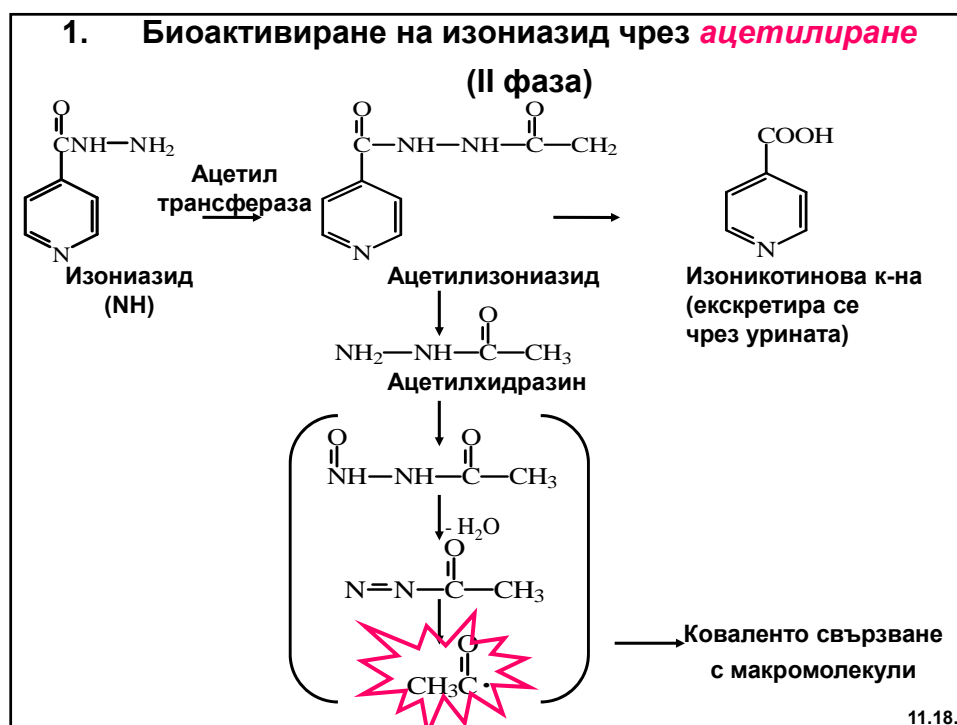
Директна токсична реакция

- Дозо-зависими промени
- Предсказуеми – могат да се проявят при всеки един след преминаване на праговата доза
- Добра възпроизводимост при експериментални животни
- Кратък латентен период (часове-дни)
- Основно се засяга черният дроб

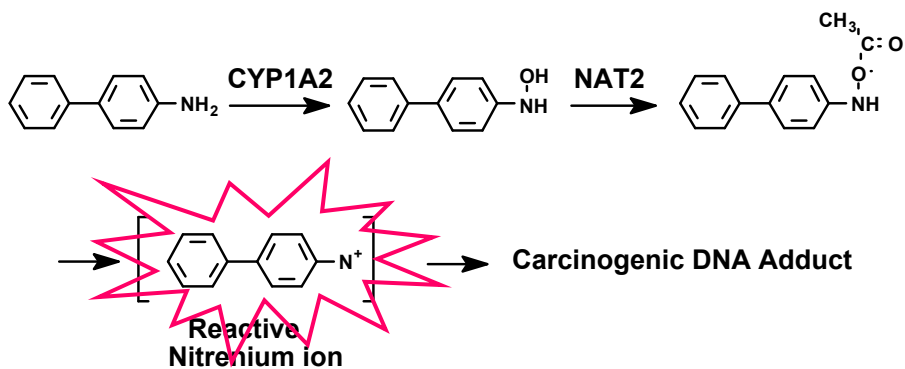
11.16.

2. Биоактивиране чрез реакции на II Фаза

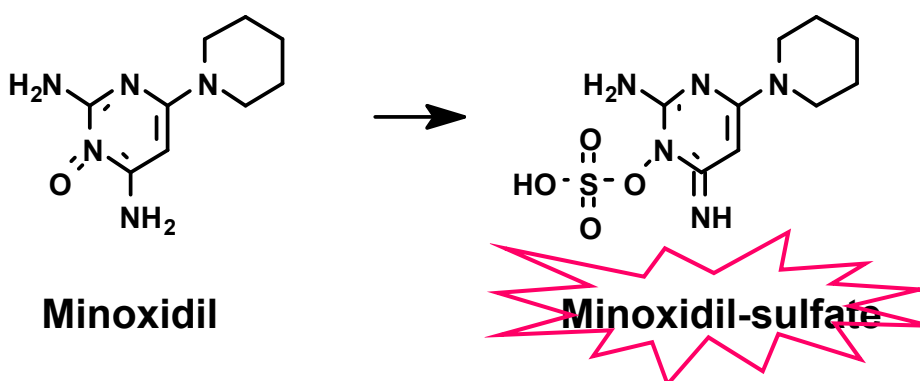
11.17.



2. **N-ацетилиране** (метаболит от I фаза), което води до канцерогенен метаболит



11.19.



3. Чрез **сулфатирането** може да образува реактивен метаболит

11.20.

4. КОНЮГАЦИЯ С ГЛУТАТИОН (БИОАКТИВИРАНЕ)

Етапи на биоактивиране:

1. В черния дроб:

- Образуване на чернодробен глутатион-S-конюгат (чрез GST)
- Разкъсване на глутатион-S-конюгата до цистеин-S-конюгат (γ -глутамилтрансептидаза и цистеинилглициназа)

2. В бъбрека:

- Цистеин-S-конюгата чрез цистеин-конюгат- β -лиаза (ензим)

образува електрофилни тиокетони (ковалентно свързване с клетъчните макромолекули) – нефротоксичност

Например:

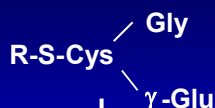
Лекарства – *cis*-платина; амфетамин (Carvalho et al., 1996)

Разтворители – дихалогенирани алкани

Пестициди – етилендибромид, хексахлоробутадиен (Guengerich, 2003).

11.21.

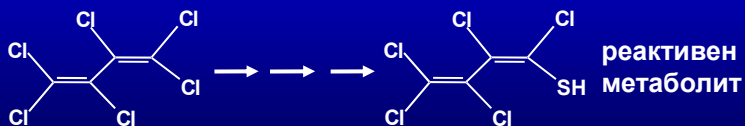
Частично биоактивиране на глутатионови конюгати чрез β -лиаза в бъбрек



β -лиаза



R-S-NAcCys =
меркаптурова киселина



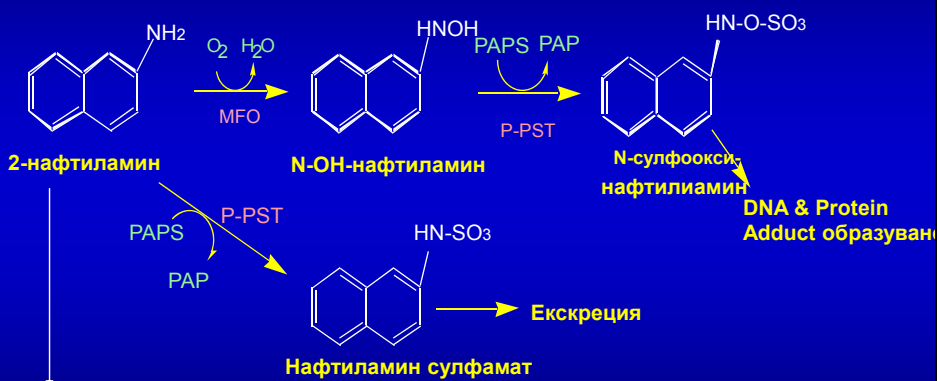
Например - хексахлоробутадиен

11.22.

Биоактивиране на 1-нафтиламин (azo-бои за оцветяване) чрез глюкуронил трансферазите (II фаза)



Биоактивиране на ароматни амини с участието на реакции от I и II Фаза



\blacktriangle Съдържа се в цигарения дим и допринася за развитието на рак на пикочния мехур

11.24.

Реактивните метаболити - източник на токсични реакции – възможности за превенция

- Ранна оценка на потенциала на изследваното вещество да образува реактивни метаболити в хода на предклиничния етап
- Отстраняване на химични групи, позволяващи биоактивиране
- Изследване биотрансформацията на веществото и идентифициране на метаболитите
- Разкриване механизмите, участващи в образуването на метаболити и изследване на отговорните за тези механизми ензими

МЕТОДИ ЗА ОТКРИВАНЕ НА РЕАКТИВНИ МЕТАБОЛИТИ:

- Ковалентно свързване – изисква радиобелязано вещество
- Улавяне на реактивните метаболити чрез използване на нуклеофили (напр. глутатион)

11.25.

Биотрансформацията на ксенобиотиците (вкл. лекарства) води до:

- 1. Образуване на биологично неактивни, годни за елиминирани продукти**
- 2. Генериране на биологично реактивни метаболити, водещи до токсичност**

11.26.



**Съществуват 5 основни
метаболитни
възможности**
(по Gangolli & Phillips, 1993).

ОСНОВНИ МЕТАБОЛИТНИ ВЪЗМОЖНОСТИ

1. Вещество "X" (токсично)



МЕТАБОЛИТЕН ПЪТ А

НЕТОКСИЧЕН КРАЕН ПРОДУКТ

11.29.

ОСНОВНИ МЕТАБОЛИТНИ ВЪЗМОЖНОСТИ

2. Вещество "X" (нетоксично)



МЕТАБОЛИТЕН ПЪТ В

БИОЛОГИЧНО РЕАКТИВЕН (ТОКСИЧЕН) КРАЕН ПРОДУКТ

11.30.

ОСНОВНИ МЕТАБОЛИТНИ ВЪЗМОЖНОСТИ

3. Вещество "X" (нетоксично)

МЕТАБОЛИТЕН ПЪТ В

БИОЛОГИЧНО РЕАКТИВЕН (ТОКСИЧЕН) КРАЕН ПРОДУКТ

МЕТАБОЛИТЕН ПЪТ А

НЕТОКСИЧЕН КРАЕН ПРОДУКТ

11.31.

ОСНОВНИ МЕТАБОЛИТНИ ВЪЗМОЖНОСТИ

4. Вещество "X" (нетоксично)

МЕТАБОЛИТЕН ПЪТ В

БИОЛОГИЧНО РЕАКТИВЕН (ТОКСИЧЕН) КРАЕН ПРОДУКТ

МЕТАБОЛИТЕН ПЪТ А

НЕТОКСИЧЕН КРАЕН ПРОДУКТ

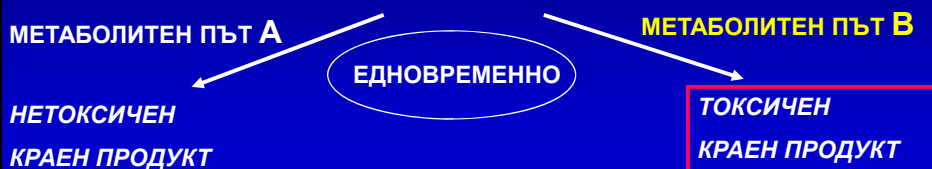
МЕТАБОЛИТЕН ПЪТ В

ТОКСИЧЕН КРАЕН ПРОДУКТ

11.32.

ОСНОВНИ МЕТАБОЛИТНИ ВЪЗМОЖНОСТИ

5. Вещество "X" (нетоксично)



▲ **КРАЙНИЯТ БИОЛОГИЧЕН РЕЗУЛТАТ ЗАВИСИ ОТ СТЕПЕНТА НА УЧАСТИЕ НА ДВАТА ПЪТЯ – А, В**



▲ Крайният резултат-

- токсичен и/или нетоксичен,
в биологичната съдба на ксенобиотика
(лекарство) в организма се определя главно
от:

1. Кинетиката на участващите ензимни процеси.
2. Възможности за биоактивиране и детоксикация на съответното ниво – клетъчно, органно.

Фактори, повлияващи баланса между токсикация и детоксикация

1. Относителната част на процесите на токсикация и детоксикация, зависи от наличността на метаболизиращите ензими и тяхната активност.
2. Наличност на кофактори
3. Наличност на протективни системи – водят до отстраняване на реактивни междинни метаболити, вкл. и реактивни кислородни форми (ROS), образувани по време на биотрансформацията. **Тези системи са насищаеми** и могат да се окажат в недостиг или да отсъстват при определени тъкани.

11.35.

Фактори, повлияващи баланса между токсикация и детоксикация

- ЕНЗИМНИ СИСТЕМИ

- **Se-зависима-глутатион пероксидаза (GP)** – ензим, катализиращ разграждането на водороден пероксид и липидни пероксиди при наличието на GSH като субстрат. Локализация: цитозол, митохондрии.



- **Глутатион-редуктаза (GSSG-R)** – ензим, действащ съвместно с глутатион пероксидазата. Редуцира окисления глутатион (GSSG), при наличието на NADPH.



11.36.

Фактори, повлияващи баланса между токсикация и детоксикация

- **супероксиддисмутаза (SOD)** – катализира обезвреждането на супероксидния радикал



Локализация: цитозол, митохондрии

- **каталаза (CAT)** – катализира обезвреждането на водородния пероксид



Локализация: бъбрек, черен дроб, костен мозък, мукоза

11.37.

Фактори, повлияващи баланса между токсикация и детоксикация

- НЕЕНЗИМНИ СИСТЕМИ

- **глутатион (GSH)** – ендогенен нуклеофил, който взаимодейства с електрофилните реактивни метаболити

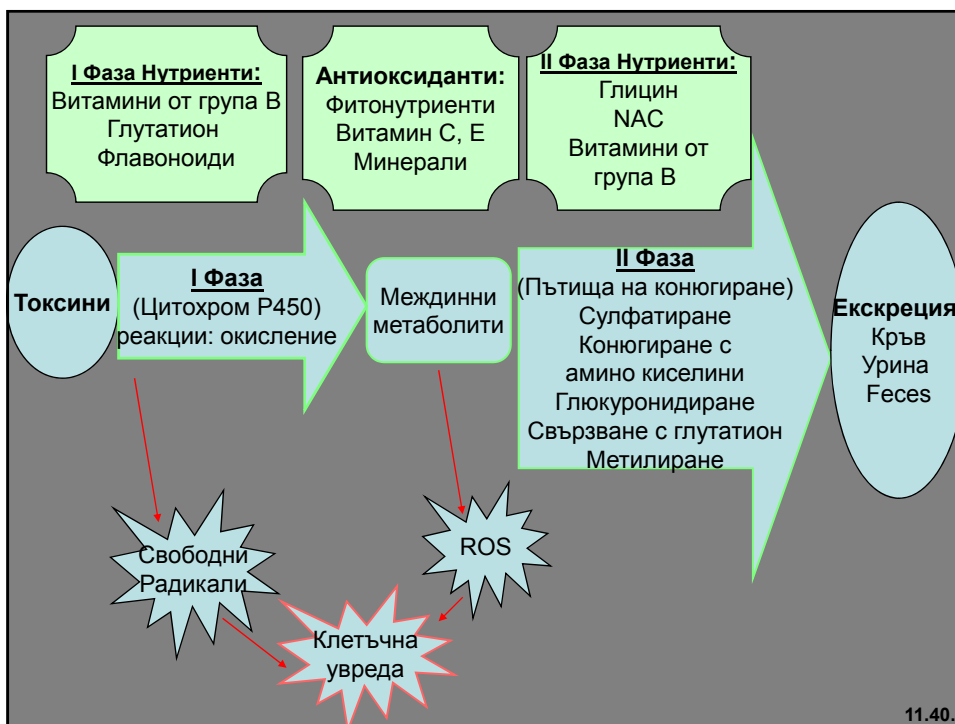
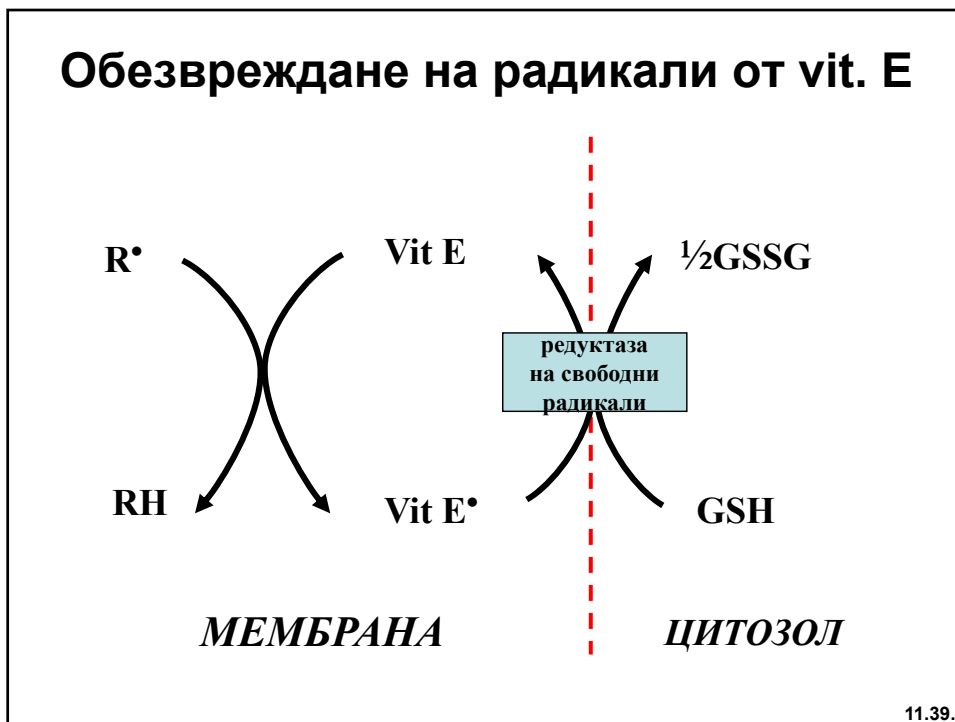
- **α-токоферол (vit. E)** – уловител на свободни радикали

- **аскорбинова киселина (vit. C)**

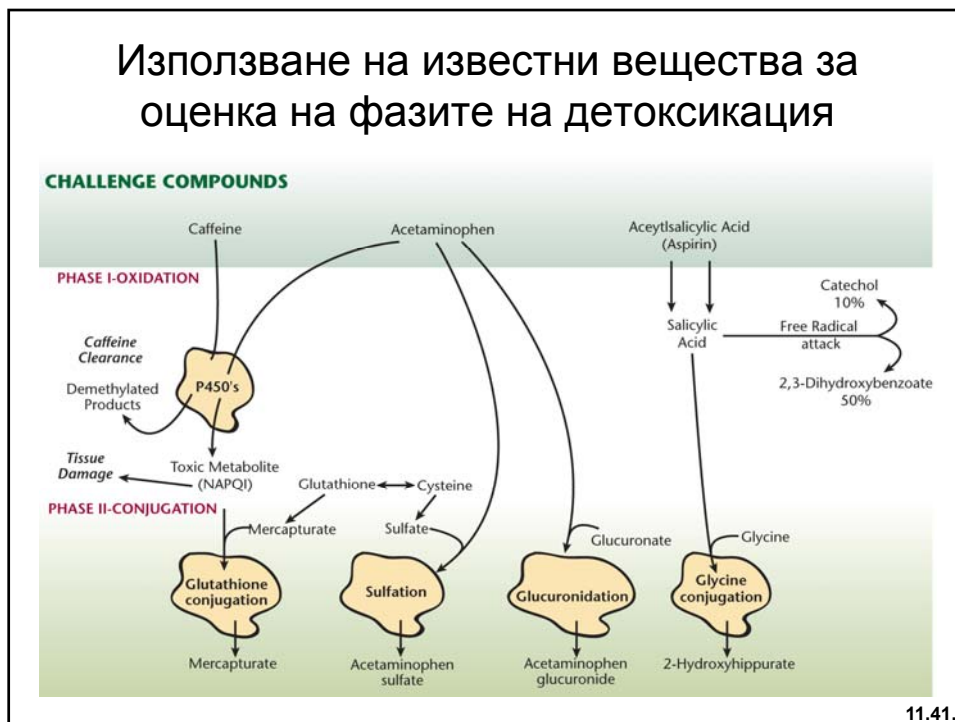
- **β-каротен (прекурсор на vit.A)**

- **убихинон и др.**

11.38.



Използване на известни вещества за оценка на фазите на детоксикация



Фактори, повлияващи баланса между токсикация и детоксикация

4. Доза и насищаемост на метаболитните пътища
5. Генетични вариации в ензимите, катализиращи различните метаболитни пътища
6. Индукция и инхибиция на ензимите, участващи в биотрансформацията
7. Видова разлика
8. Тъканна специфика в ензимите и изоензимите
9. Диета
10. Възраст
11. Заболявания
12. Пол

11.42.