

# TOXIKOKINETIKA

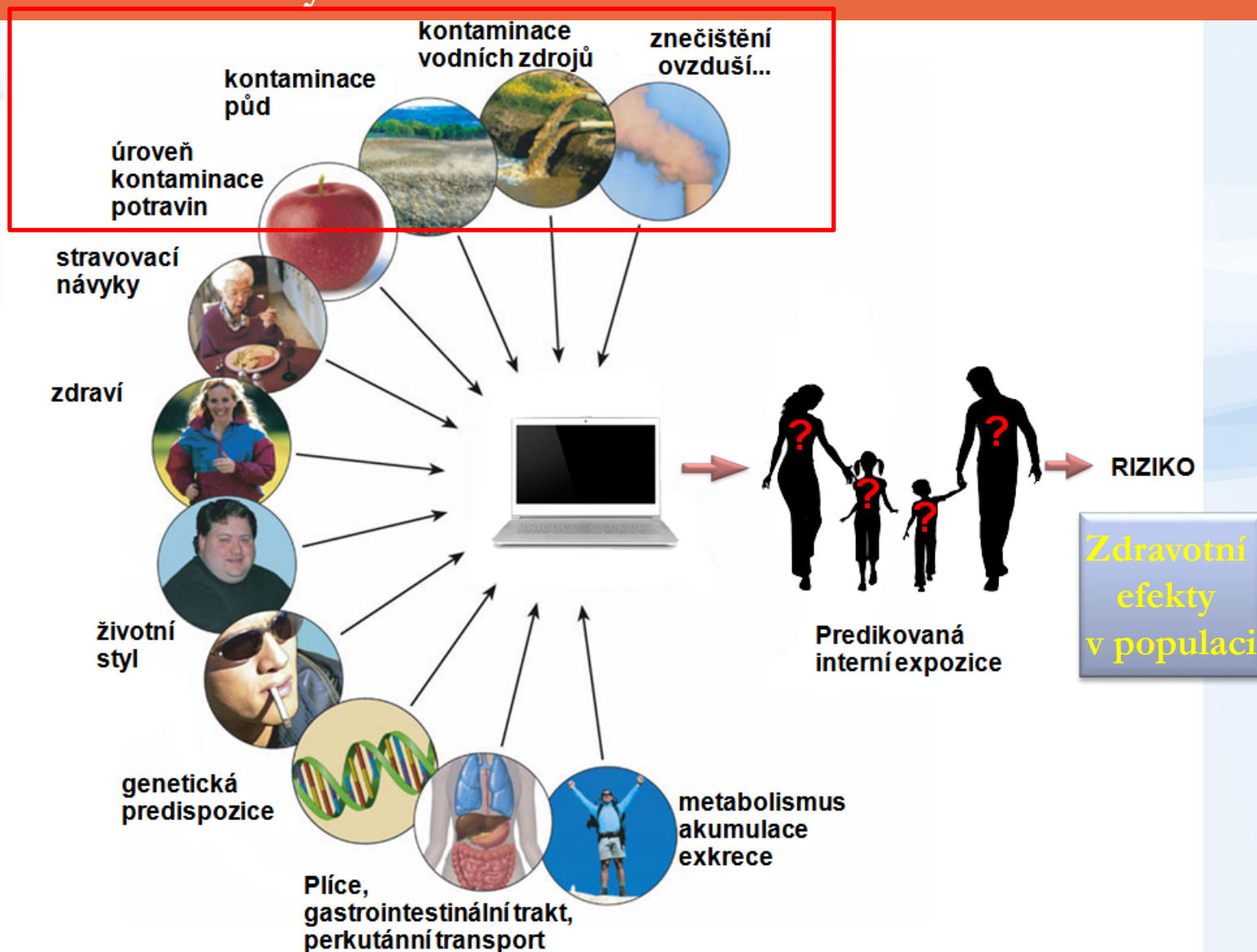
## DISTRIBUCE A OSUD TOXICKÝCH LÁTEK

Klára Hilscherová



Centrum pro výzkum  
toxických látek  
v prostředí

# Základní faktory, které mohou ovlivňovat celkovou expozici a výsledná zdravotní rizika



# Toxický účinek látky a jejích metabolitů se dostaví:

- po dosažení příslušného cíle
  - v potřebné koncentraci
  - a po nezbytné době účinku
- míra poškození závisí na dosažené koncentraci na cílovém orgánu

## **PŘÍJEM < ~ ODSTRAŇOVÁNÍ** (*rovnováha, homeostáza*)

- udržování hladin látky v organismu pod úrovní škodlivého účinku
- organismus vynakládá energii na udržení rovnováhy  
(*metabolismus, vylučování ...*)

## **PŘÍJEM > ODSTRAŇOVÁNÍ**

- nárůst koncentrací látky v organismu
- časem překročení úrovně účinku, limitu homeostatických procesů
- > přechod ze stadia **rezistence (resp. adaptace)** do stadia pozorovatelných škodlivých účinků



# Vzájemné působení toxické látky a organismu

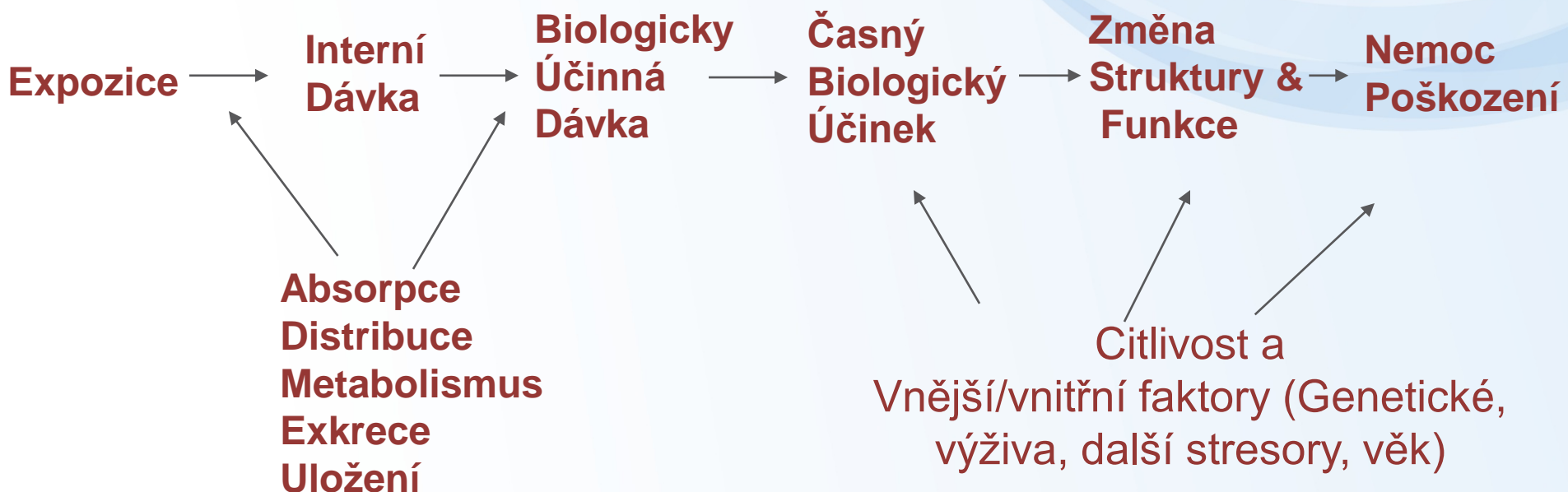
## Toxikologické Paradigma

### Toxikokinetika

Co dělá organismus s toxickou látkou

### Toxikodynamika

Co dělá toxická látka s organismem



- osud toxické látky v organismu,  
biologická dostupnost

- co dělá – jaké vyvolává účinky  
- jak to dělá - mechanismus působení

# Osud látky v organismu

TOXIKOKINETIKA = **ADME**:

**A**bsorpce (vstřebání, resorpce) - přestup toxické látky (TL) z místa primárního kontaktu do krevní plazmy

**D**istribuce, transport - rozdělení TL mezi krevní plazmu a plazmatické proteiny, přestup volného podílu TL z krevní plazmy do tkání, rozdělení TL mezi jednotlivými částmi těla

**M**etabolismus (biotransformace)

**E**xkrece (vyloučení) - přestup toxické látky z krevní plazmy do moči, žluči, potu, vydechovaného vzduchu, mateřského mléka,....



# Osud toxické látky v organismu

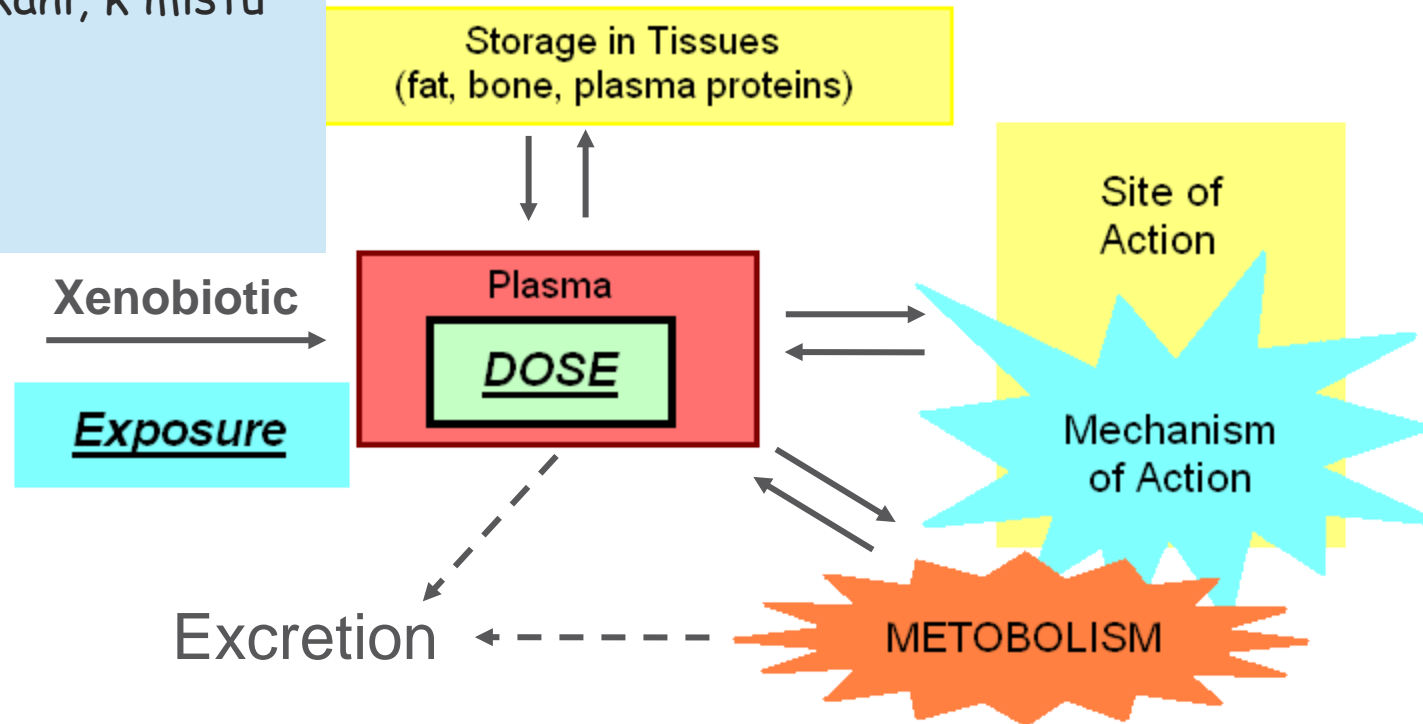
Proces expozice - toxikologická dostupnost:

Vstřebání, transport přes membrány

- Způsob aplikace (biodostupnost)
- Resorpce do krevního oběhu
- Distribuce do tkání, k místu účinku
- Metabolismus
- Eliminace

Organismus má obrané mechanismy:

- Membránové bariery
- Kontinuální obnova svrchních vrstev kůže a mukozních membrán
- Biotransformační enzymy, antioxidanty
- Eliminační mechanismy



# Vstupní cesty do organismu = brány vstupu

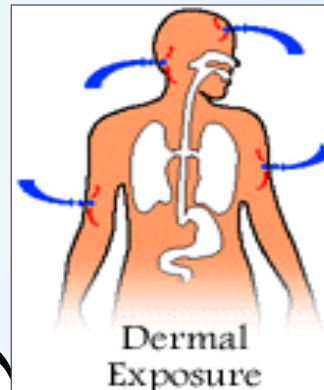
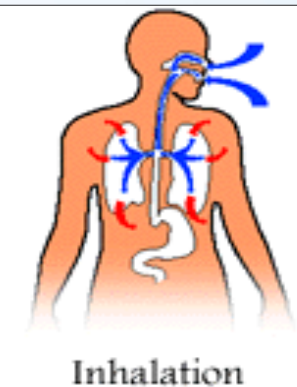
Enterální – přes zažívací trakt – přes játra

**Orální** (per os): přes gastrointestinální (zažívací) trakt  
- potrava, voda, prach a půda

Parenterální – mimo zažívací trakt – přímo do velkého krevního oběhu

**Inhalační**: vdechnutím, přes respirační trakt  
- ovzduší, aerosol ve sprše

**Dermální** (topická, perkutánní): kůží a sliznicí  
- především u expozice v pracovním procesu, z mastí a kosmetiky, textilií

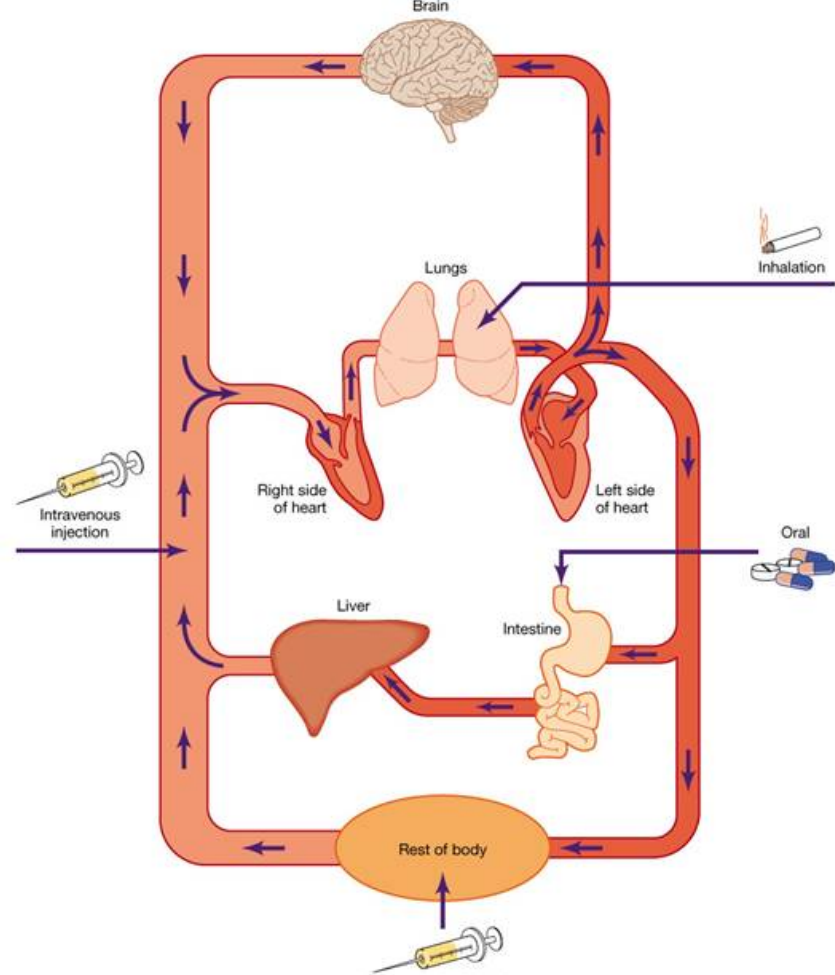


# JINÉ CESTY VSTUPU TOXICKÝCH LÁTEK

Různými cestami parenterálními (při poraněních, bodnutích, kousnutích, ušknutích apod., či injekčně)

1. Do žíly - intravenózní (i. v.) – rychlý nástup
2. Do svalů - intramuskulární (i. m.) – pomalý nástup
3. Do dutiny břišní - intraperitoneální (i. p., experimentální) – rychlý nástup
4. Podkožní - subkutánní (experimentální) – pomalý nástup

**Transplacentální** - látky schopné překonat placentální bariéru mezi matkou a plodem (Pb, metylHg, dioxiny, polychlorované bifenyly a další persistentní organické polutanty)



Každá z cest má specifickou rychlost vstřebání a nástupu účinku. Kromě cesty vstupu má velký význam doba expozice a frekvence expozic.

Možná kombinace expozičních cest





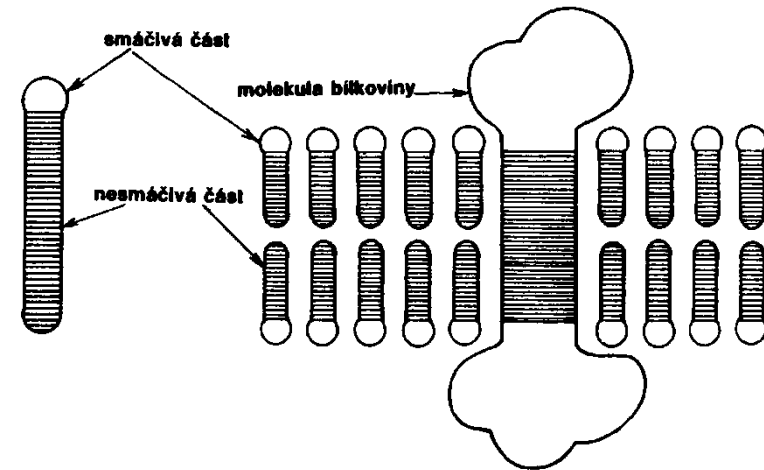
# Eukaryotická buňka

## Plazmatická membrána = cytoplazmatická:

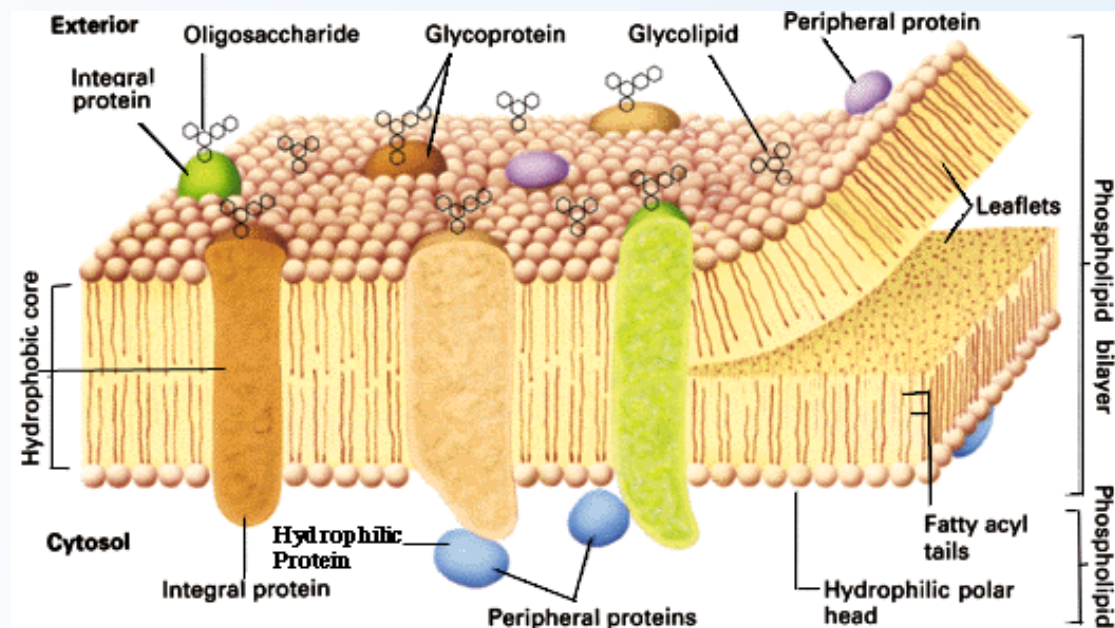
- stavba: dvojitá vrstva fosfolipidů, mezi fosfolipidy bílkoviny + enzymy + sacharidy
- tzv. „model fluidní (tekuté) mozaiky“
- PM je polopropustná - **semipermeabilní**

## Fosfolipidy buněčných membrán:

vně - hydrofilní hlavička (polární)  
uvnitř - hydrofobní uhlovodíkové konce (nepolární)



25. Molekula fosfolipidu a stavba plazmatické membrány.



# Přestup látek přes membrány

- volnou/pasivní difuzí
- dočasnými nebo trvalými póry
- usnadněnou difuzí pomocí nízkomolekulárních nebo vysokomolekulárních přenašečů
- mechanismem endocytosy nebo exocytosy.

1.

## Pasivní transport



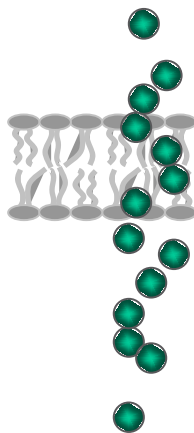
2.

## Aktivní transport

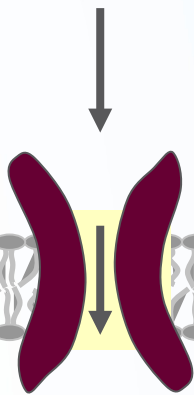


Osmóza

voda

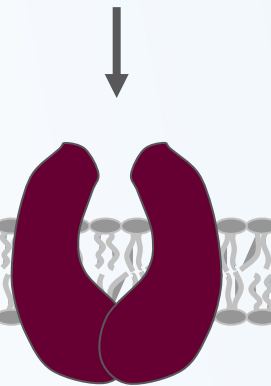


Prostá difúze

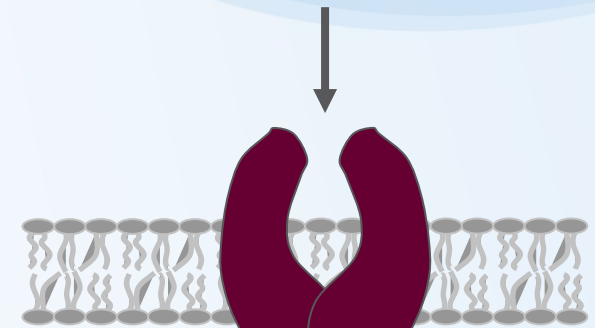


kanály

Usnadněná difúze



přenašeče



přenašeče



# Absorbce

## Absorbce závisí na chemické struktuře látky

- povaha membrány je důležitá pro transport toxické látky do buňky

Xenobiotika jsou často extrémně hydrofobní/lipofilní látky

Typické příklady: polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU), benzo(a)pyren, DDT, vinylchlorid a další

Xenobiotika používají i transportní systémy endogenních látek:

- usnadněnou difuzi, aktivní transport
- fagocytosu, pinocytosu
- **musí však mít velmi podobnou strukturu**



# Mechanismy prostupu toxických látek biomembránou

## Pasivní transportní mechanismy

- nevyžadují přísun energie z metabolismu buňky
- pohyb ve směru koncentračního či elektrochemického gradientu, nebo na základě rozdílu jiných fyzikálně chemických vlastností prostředí na obou stranách biomembrány

## Prostá difuze

- pasivní děj - samovolné prolínání, elektricky neutrální, nepolární molekuly
- pohyb molekul z místa vyšší koncentrace do místa nižší koncentrace
- prostup lipofilních látek o nižší molekulové hmotnosti ( MW < 500 ) (diethylether, benzen, tetrachlormethan, barbituráty, DDT, cyklohexan)
- prostup malých nepolárních molekul plynů (N<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O)

## Usnadněná difuze

- po koncentračním spádu
- vázány na přenašeč

Literatura:

<http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/archiv/2000-PDF/10-PDF/913-918.pdf>

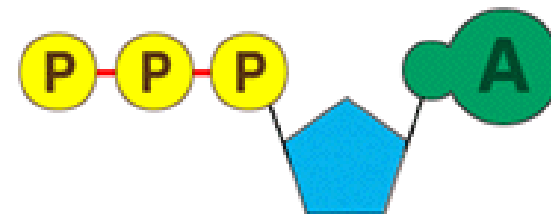
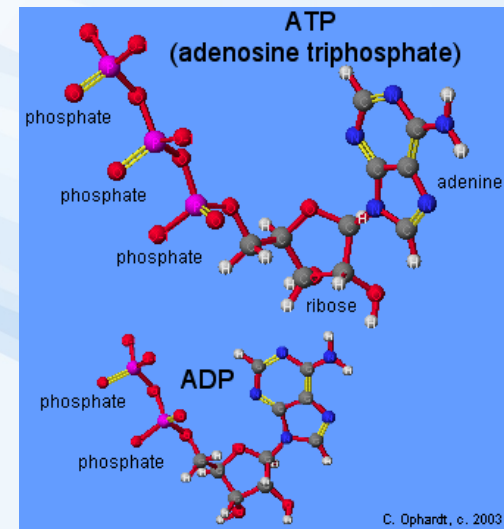
# Mechanismy prostupu toxických látek biomembránou

## Aktivní transportní mechanismy

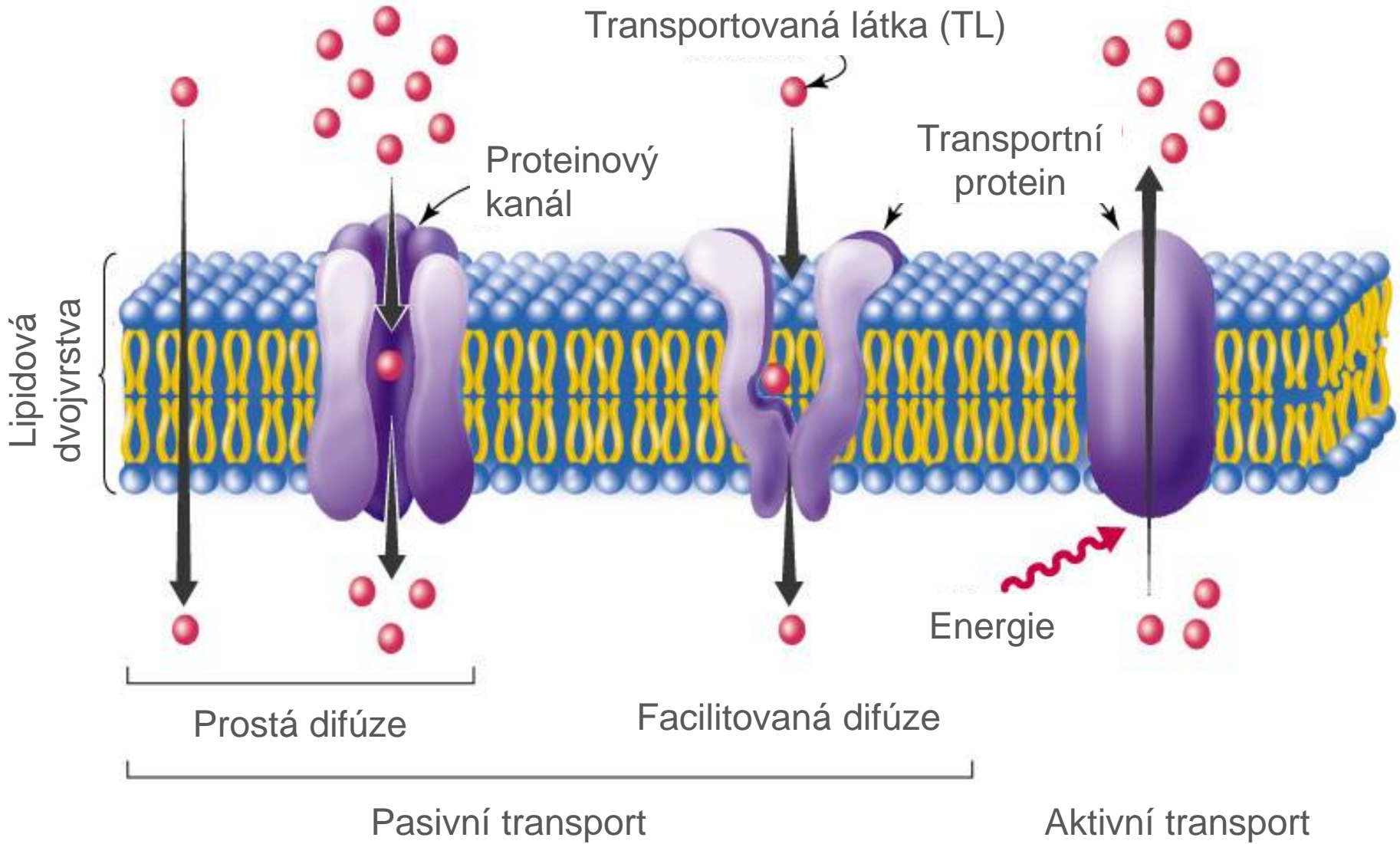
- Vstup/výstup látek do/z buňky pomocí enzymových přenašečů, potřeba specifického přenašeče
- transport po i proti směru koncentračního či elektrochemického gradientu
- překonávání koncentračního gradientu vyžaduje přísun energie - hydrolytické štěpení makroergických vazeb ATP
- i velké nabitě polární molekuly
- proces může být saturován nadbytkem substrátu
- podobné substráty mohou soutěžit o vychytávání
- důležité pro vylučování látek z organismu

játra – několik transportních systémů – pro organické kyseliny, organické báze a neutrální organické látky

CNS, ledviny, střeva - transportní systémy pro různé látky



Vyšší koncentrace TL



Pasivní transport

Aktivní transport

Nižší koncentrace TL



# Transport toxických látek přes buněčnou membránu

**Xenobiotika většinou nemají svůj transportní systém a proto jsou absorbovány pasivní difuzí**

- 1) lipofilní látky procházejí membránou prostou difúzí přes fosfolipidovou dvojvrstvu v důsledku koncentračního spádu
- 2) malé hydrofilní molekuly procházejí bez ohledu na hydrofobní charakter membrány
- 3) látky rozpustné ve vodě difundují proteinovými kanály
- 4) velké hydrofilní molekuly pomocí facilitované difúze
- 5) aktivní transport - anorganické ionty i velké hydrofilní molekuly proti směru koncentračního gradientu



# Transport toxických látek přes buněčnou membránu

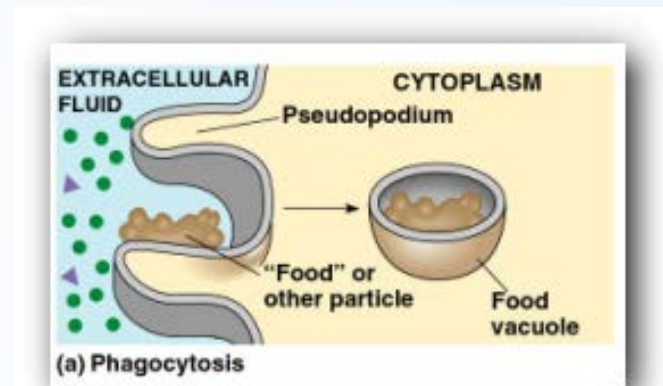
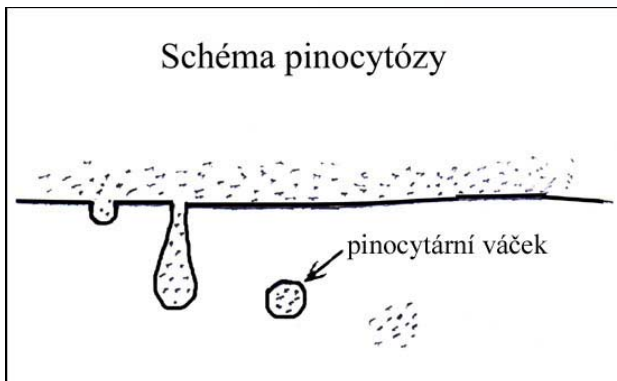
6) částice, kapénky a velké molekuly exo- či endocytózou - nerozpustné částice azbestu, makromolekuly

- přenos (vstup či vylučování) pomocí transportních měchýřků (vesikulů)

**Pinocytóza** - téměř neustále ve většině živočišných buněk.

Buňky pohlcují kapičky extracelulární tekutiny a v ní rozpuštěné látky vchlípením části plazmatické membrány.

**Fagocytóza** – proces, při kterém buňka aktivně vytváří plazmatické výběžky (panožky), aby pohltila větší pevné partikule – využívají všechny buňky těla, neboť většinu látek pro buňku důležitých představují velké polární molekuly, které nemohou samovolně proniknout skrz buněčnou membránu.





# DÝCHACÍ CESTY

## 1. HORNÍ CESTY DÝCHACÍ:

- nosní dutina
- vedlejší dutiny nosní
- nosohltan

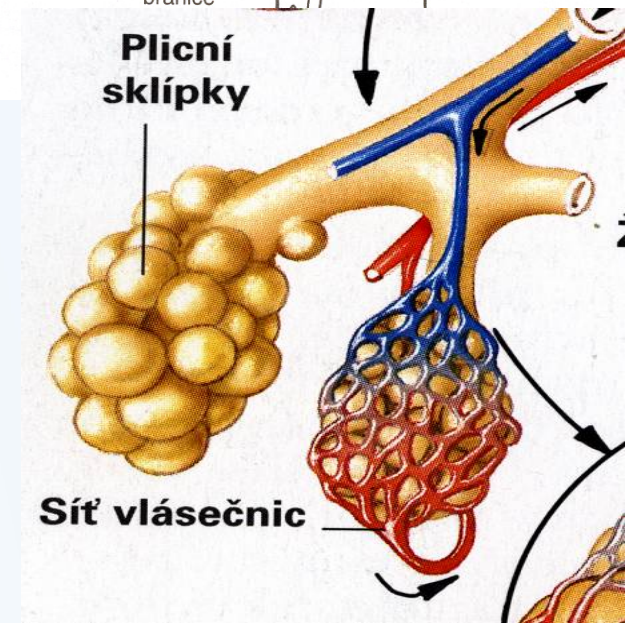
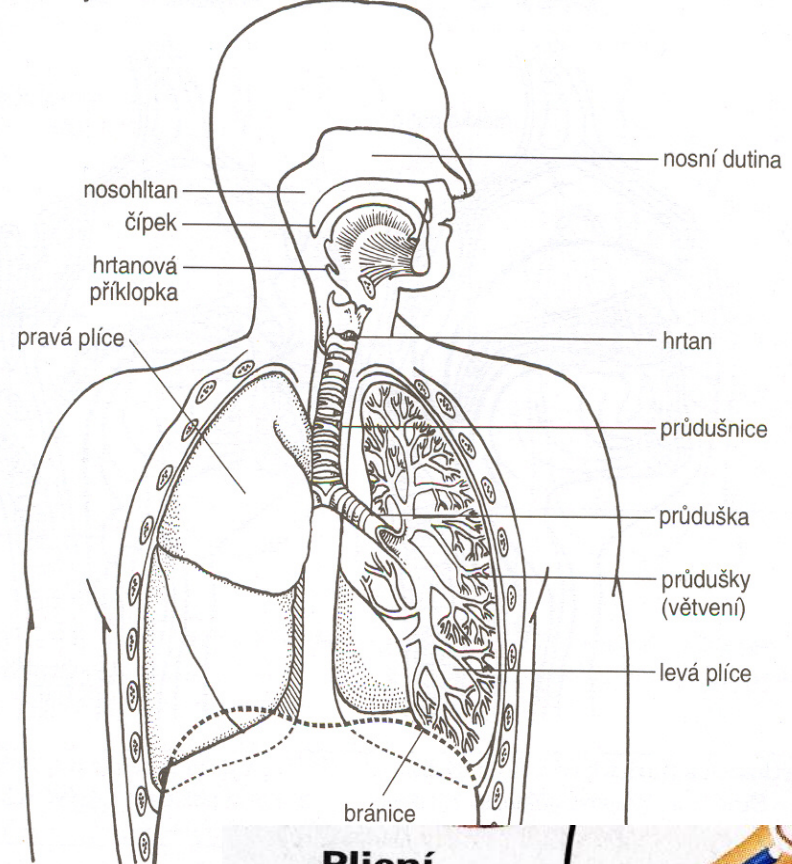
## 2. DOLNÍ CESTY DÝCHACÍ:

- hrtan
- průdušnice
- hlavní průdušky

## PLÍCE

**průdušinky** (bronchioly) = průměr  $< 1 \text{ mm}$  – končí v **plicním váčku** – členěn na **plicní sklípky** (alveoly)

- tvořeny 1 vrstvou plochých buněk (= respirační epitel)
- vysoce prokrvené, absorpční plocha plic cca  $50\text{-}100 \text{ m}^2$
- velká kontaktní plocha – vstřebávání z plic do krve poměrně rychlé
  - výměna plynů difúzí



Dýchací soustavou se do těla dostává množství látek (pevné, kapalně, plynné).

např. – CO, CH<sub>3</sub>Br, azbest, SO<sub>2</sub>,...

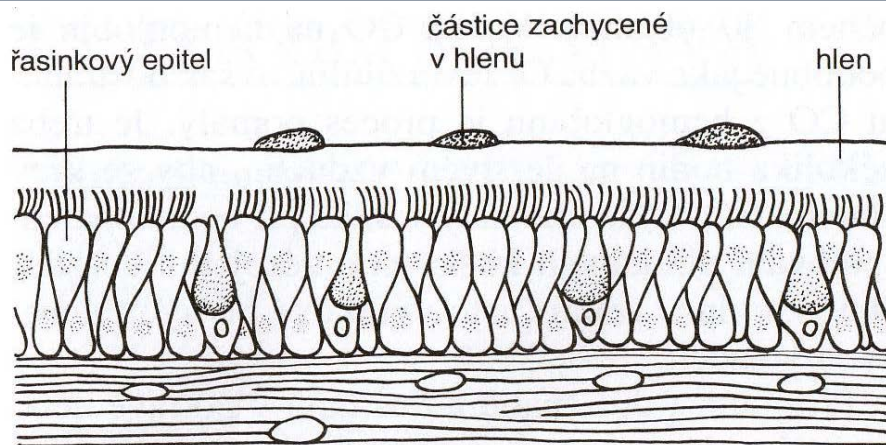
Resorpce probíhá asi z 60 % - velká účinnost.

Jak hluboko se látka/částice do dýchacích cest dostane - závisí na velikosti, tvaru a koncentraci látky/částice v prostředí, na chemických a toxických vlastnostech látky.

## Odstraňování škodlivin řasinkovým epitelem

Mukociliární transport

- obranný mechanismus
- produkce hlenu, na kterém se zachytávají nečistoty
- epitelové buňky s řasinkami – posunují hlen ven
- transport nečistot směrem pryč z dýchacích cest



Obr. 48 **Řasinkový epitel dýchacích cest** posunuje hlen směrem od plic, a tím odstraňuje v hlenu obsažené škodlivé částice směrem od plic

hydrofilní látky – rozpouštění ve sliznici horních d.cest - jsou absorbovány na sliznicích i v plicích

lipofilní látky – jsou absorbovány v plicích, membránami do buněk, stěnami kapilár do krve



# Absorpce toxických látek - PLÍCE

Plíce jsou citlivé ke dvěma druhům toxických látek: dispergovaným částicím ve vzduchu a těkavým organickým látkám a plynům

**Krevní tok a rychlost dýchání** ovlivňují absorpci látek plícemi.

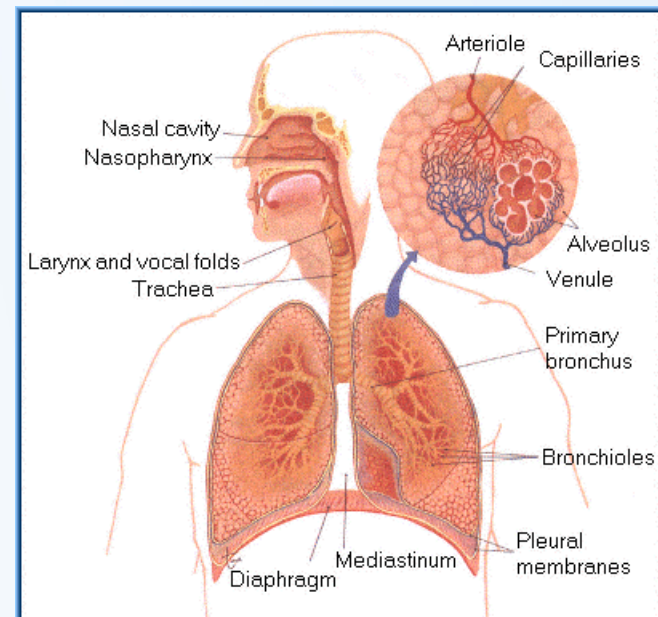
V krvi málo rozpustné látky – absorpce závisí na rychlosti toku krve.

V krvi dobře rozpustné látky - absorpce závisí na rychlosti dechu.

- látky rozpustné ve vodě a tucích procházejí do krevního řečiště
- látky nerozpustné ve vodě ani v tucích se ukládají - pneumokoniózy, rakovina
- malé částice jsou absorbovány pomocí pinocytózy či fagocytózy.

## Vliv velikosti částic na úroveň absorpce

- nad 10  $\mu\text{m}$  - sedimentace, záchyt v horních dýchacích cestách
- okolo 5  $\mu\text{m}$  - záchyt v alveolách kolem 25 %
- okolo 1  $\mu\text{m}$  - záchyt v alveolách kolem 50 %
- okolo 0,25  $\mu\text{m}$  - snížená retence následkem pomalejší sedimentace
- pod 0,1  $\mu\text{m}$  - vliv Brownova pohybu, difuze



# Trávicí ústrojí - gastrointestinální trakt (GIT)

- Trávení (mechanické a chem. zpracování)

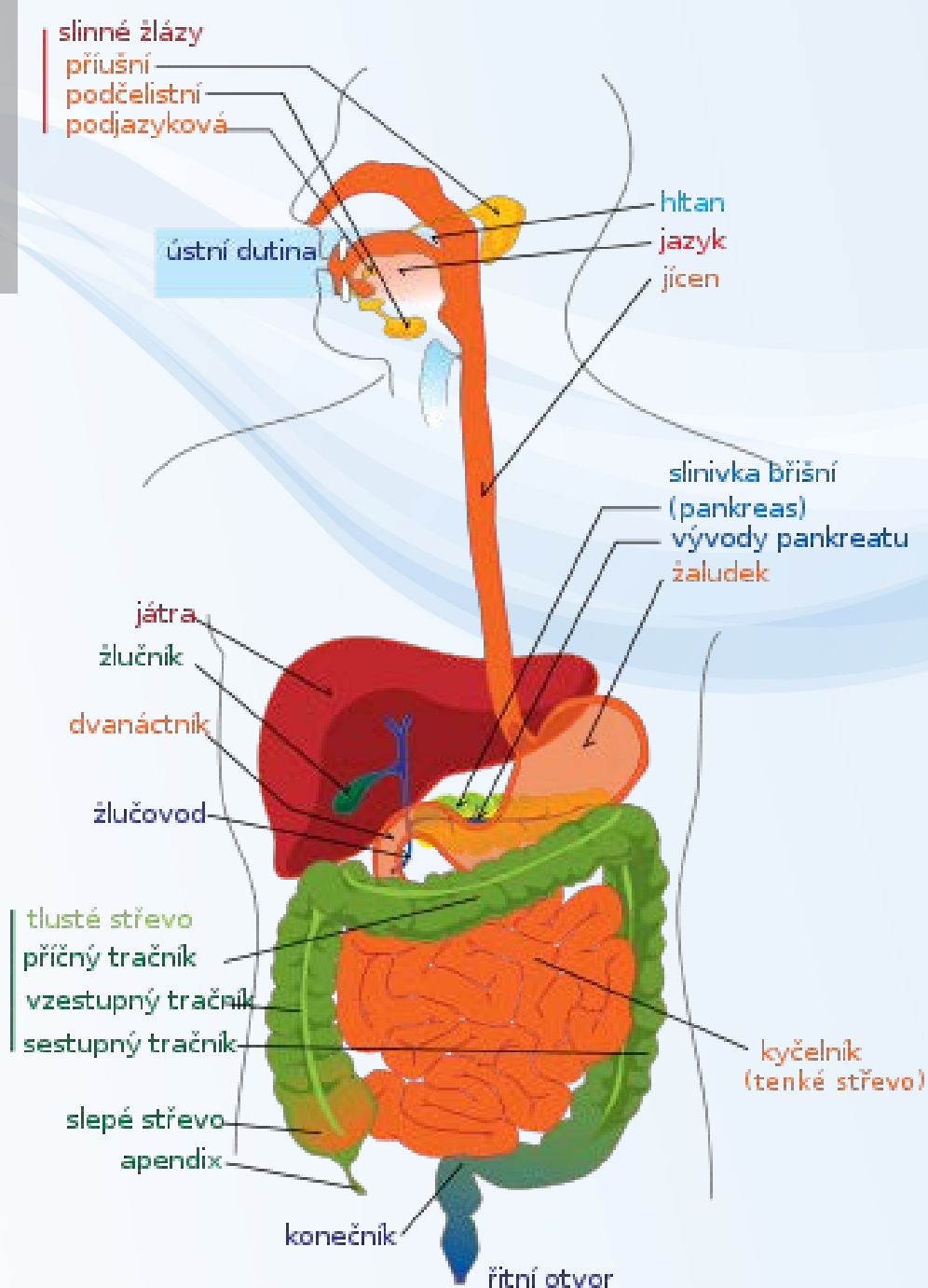
- Vstřebávání (přestup látek stěnou GIT do krve)

- Přeměna a skladování látek/živin (zejména v játrech)

- Vylučování (odstraňování nestrávených zbytků potravy a zplodin metabolismu)

- Absorbce látek - od dutiny ústní až po konečník (rektum)

- Pomalá cesta vstupu, s velkou kapacitou



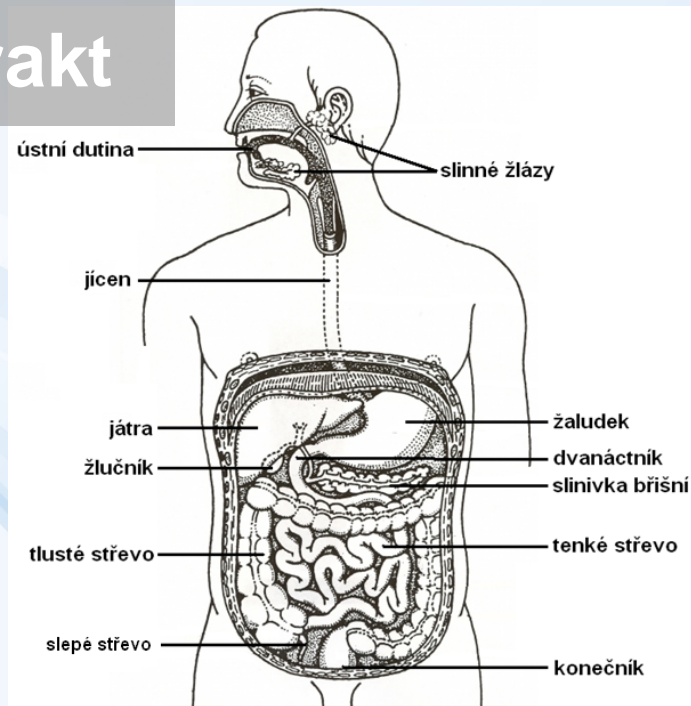
# Absorpce - Gastrointestinální trakt

## Prostá difúze

- především látky lipofilní, látky hydrofilní omezeně
- závisí i na charakteru stravy

vstřebávání závislé na pH - různé látky absorbovány v jiných částech GIT dle jejich fyz.-chem. (acidobazických) vlastností

lipofilní neionické látky se absorbují v celém GIT



## Ústní dutina

- sliny pH 7 (neutrální), sliznice – lipofilní, neionizované látky – do krevního oběhu

## Žaludek

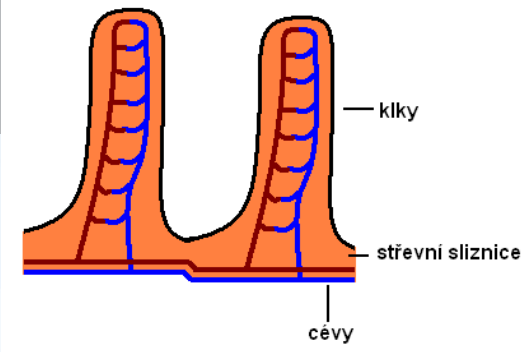
- vakovitý orgán (objem 1 – 2 litry,  $< 5 \text{ m}^2$ ), tři vrstvy hladké svaloviny
- chemické a mechanické trávení, zdržení potravy 2 - 6 hod
- žaludeční šťávy pH 1-3, lipofilní látky i slabé kyseliny



# Absorpce - Gastrointestinální trakt

## Tenké střevo

- trubicovitý orgán, délka 3 - 5 m, průměr kolem 3 - 4 cm
- velký povrch, 200 - 300 m<sup>2</sup>, průchod tráveniny 5 - 9 hod
- dochází zde ke vstřebávání živin (i toxických látek) do krve
- vnitřní povrch pokryt klky (20 - 40/mm<sup>2</sup> - pokryty vrstvou mikrokloků)
- vychlípeniny střevní sliznice 0,3–1 mm pokryté absorpčním epitelem, vstupují do nich cévy – zvětšují plochu pro vstřebávání
- pH v různých částech tenkého střeva 5 - 7 – 8
- nejintenzivnější vstřebávání, i slabé báze



## Tlusté střevo

- trubicovitý orgán (1,5 m), průměr 5 - 7 cm
- zdržení tráveniny 16 - 30 hod, zahuštění nestrávené potravy
- vstřebávání vody, minerálů, vitaminů, ale i toxických látek.
- pH 7-8, < 5 m<sup>2</sup>, vstřebávání více bazických látek

**Konečník** – rychlé vstřebávání přímo do systémového krevního oběhu



# Absorpce toxických látek - Kůže

Kůže - plocha u člověka asi 1,5- 2 m<sup>2</sup>  
- relativně impermeabilní pro xenobiotika  
stále exponována plynům, různým roztokům,...

Vnější vrstva - stratum corneum – keratinizovaná vrstva s plochými buňkami je efektivní bariérou pro látky rozpustné ve vodě

**Epidermis** – vrchní vrstva, různě tlustá, staří lidé a děti tenčí - skládá se ze stratum corneum a 3 dalších vrstev

**škára** (dermis) - vazivová vrstva, určuje pružnost, mechanickou odolnost, pevnost  
- cévy, nervy, žlázy (potní, mazové), vlasové míšky, lymfatické cévy, buňky imunitního systému

**podkoží** (hypodermis) - vazivo a tuk - chrání orgány před mechanickými a teplotními vlivy

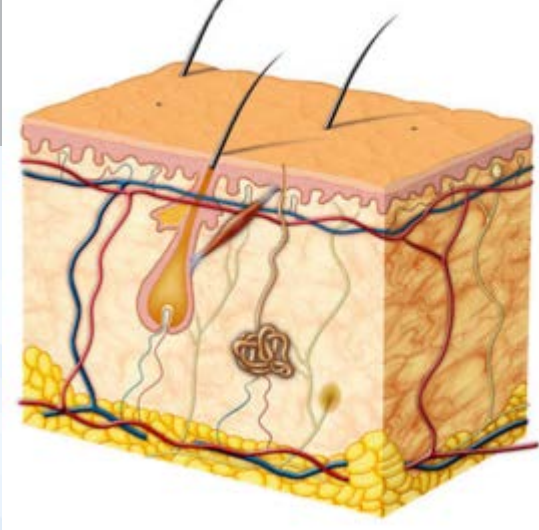
Pasivní difuzí – lipofilní látky - difundují úměrně rozdělovacímu koeficientu

Difúze přes nižší vrstvy, pomocí mazových a potních žlázek – hydrofilnější látky

Polární látky hydratované se váží na bílkoviny stratum corneum

➤ Pomalá cesta vstupu

Výrazné zvýšení propustnosti při zranění, poleptání, popálení...



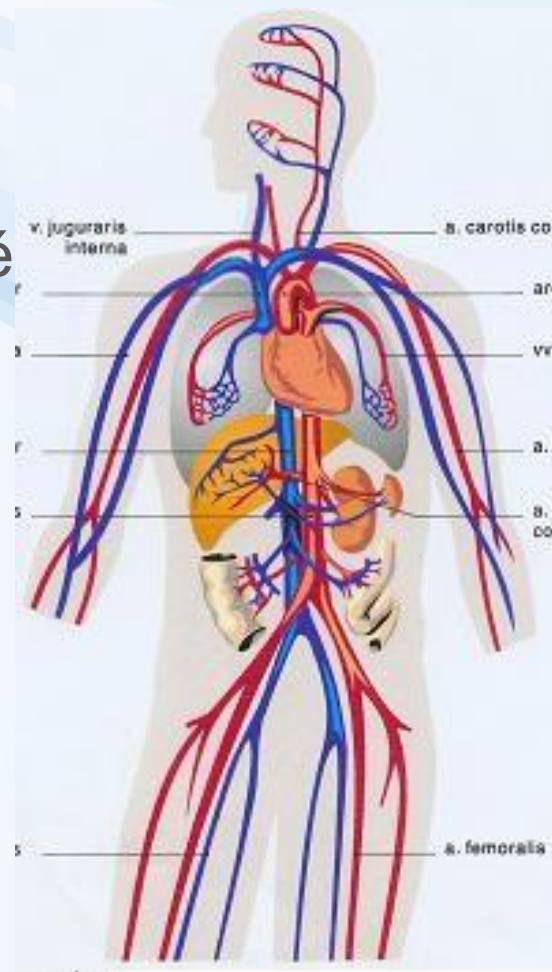
# Absorpce a distribuce látky v organismu

Po absorpci přechází látka do krevního řečiště

- Absorbce kůží – periferní řečiště
- Absorbce plícemi – pulmonární řečiště
- Absorbce orální – portální žíla

V závislosti na fyzikálně-chemických vlastnostech látky je distribuována do jednotlivých tkání.

Absorbce a distribuce v organismu závisí na přechodech membrán





# Transport a distribuce

Transport toxických látek v krvi – volně v plasmě nebo navázané na bílkoviny (zvláště albumin) nebo na buněčné struktury - většinou existují jak ve vázané formě, tak ve volné formě (rovnováha).

Pouze volné látky jsou dostupné pro způsobení účinku či vyloučení. Váží se nekovalentně (iontové interakce, hydrofóbní interakce, vodíkové vazby, Van der Waalsovy síly).

Navázání na proteiny - distribuce látek pozměněna (i exkrece), omezení distribuce, dostupnosti pro receptory a eliminace z organismu. Jedná se o reverzibilní interakci a komplexy slouží jako rezervoár účinné látky.

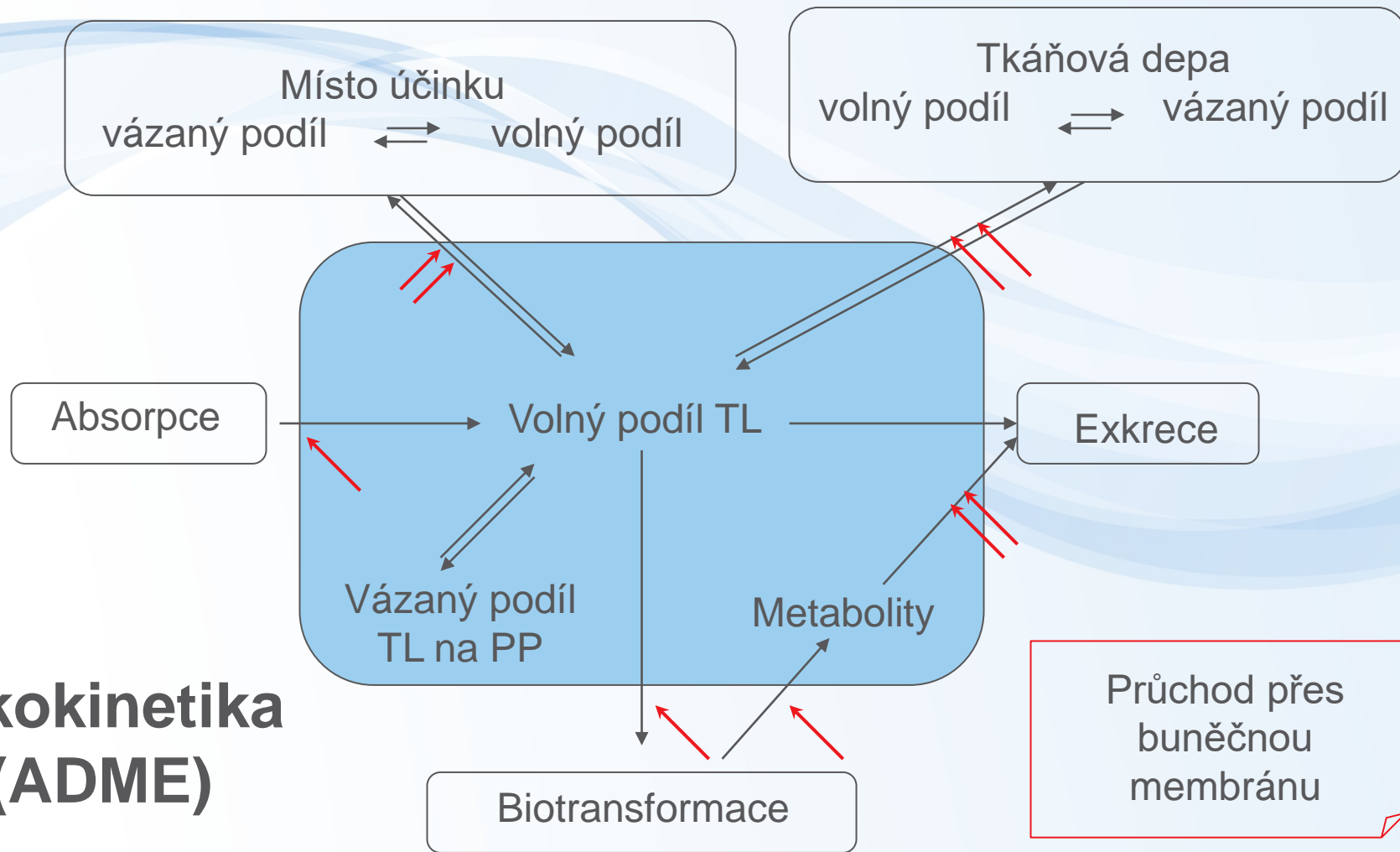
Vazbou na proteiny v plasmě mohou vytěsnit endogenní látky.

Dynamické rozdělení látky do jednotlivých buněk, tkání, orgánů

- Prokrvení, proudění krve
- Rychlosti přestupu látky z kapilár do tkáňových tekutin a pak do buněk – depozice ve tkáních
- Vazba toxických látek na plazmatické bílkoviny
  - » Albumin,  $\beta$  lipoproteiny,  $\alpha$  lipoprotein, transferin, ceruloplasmin,  $\alpha$ 1 kyselý glykoprotein



# Toxikokinetika (ADME)



Rovnováha mezi vázanou a volnou formou - ovlivňuje ji koncentrace bílkovin, afinita k vazebným místům, přítomnost jiných látek a metabolitů

Transport látek je ovlivněn u procesů bez přísunu energie koncentračním gradientem (koncentrace v místě vstupu, rychlost odplavování díky prokrvení), velikostí plochy u orgánů s velkým povrchem (plíce, tenké střevo).

# Distribuce látky v organismu - závisí na:

- Charakteru látky - rozpustnosti ve vodě, polaritě, velikosti a geometrii molekuly
- Místě vstupu látky do organismu
- Typu expozice
- Vazbě látky a metabolitů na proteiny plazmy
- Stupni ionizace při pH plazmy 7,4
- Prokrvení tkání, transport látky
- Rozdělení mezi krev a tkáně - obsah vody ve tkáních
- Prostupu membránami a rozpustnosti ve tkáních

*Např. Alkohol proniká rovnoměrně do vody v celém těle x řada látek má silnou vazbu na bílkoviny plazmy a nachází se jen v plazmě a extracelulární tekutině*



# Distribuce látky

Různé cesty podání mají významný vliv na distribuci toxické látky (intravenózní vs. orální)

- Při distribuci se největší množství toxických látek dostává do **jater a ledvin**.
- Řada toxických látek má afinitu vůči specifickému orgánu či orgánové soustavě. Distribuce a akumulace toxické látky v cílových tkáních důležitá pro orgánovou toxicitu.

Významný také přechod přes fyziologické bariéry (placenta, hematoencefalická bariera - krev/mozek) - předpoklad pro teratogenní a neurotoxické účinky



# Obrana organismu proti xenobiotikům, která pronikla do organismu

- Rychlé vyloučení
- Depozice v méně citlivých orgánech  
(tuková tkáň, kosti)
- Depozice ve vnitrobuněčných organelách
- Tvorba komplexů  
(i.e. metalothionein a Se/Hg)
- **Biotransformace**



# Depozice ve tkáních

- v případě, kdy absorpce dané látky je větší než její vylučování
- při chronických intoxikacích

## Depozice v tukových tkáních

- silně lipofilní sloučeniny (DDT)
- postupný návrat do krevního řečiště
- rychlé odbourání tuku (hladovění) může rychle zvýšit koncentrace v krvi

## Depozice v měkkých tkáních

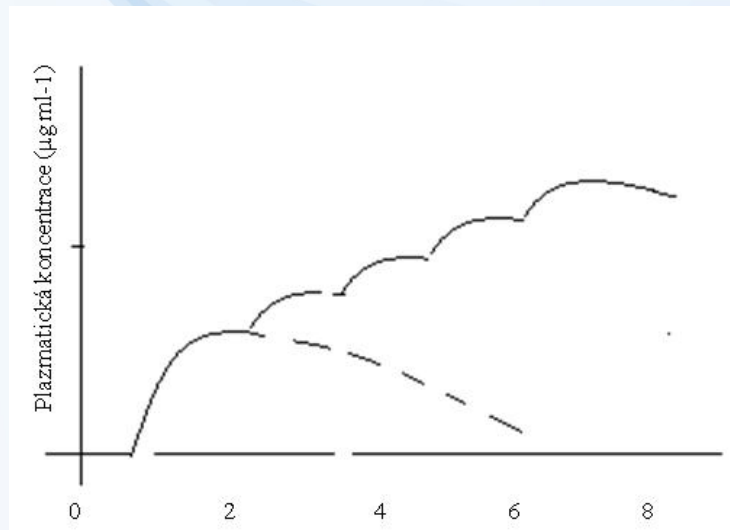
- velké množství látek se ukládá v játrech
- halogenované uhlovodíky – hepatotoxické
- Pb - játra, Cd - ledviny

## Depozice v kostech

- látky analogické vápníku – fluor, Pb, stroncium

## Depozice ve vlasech

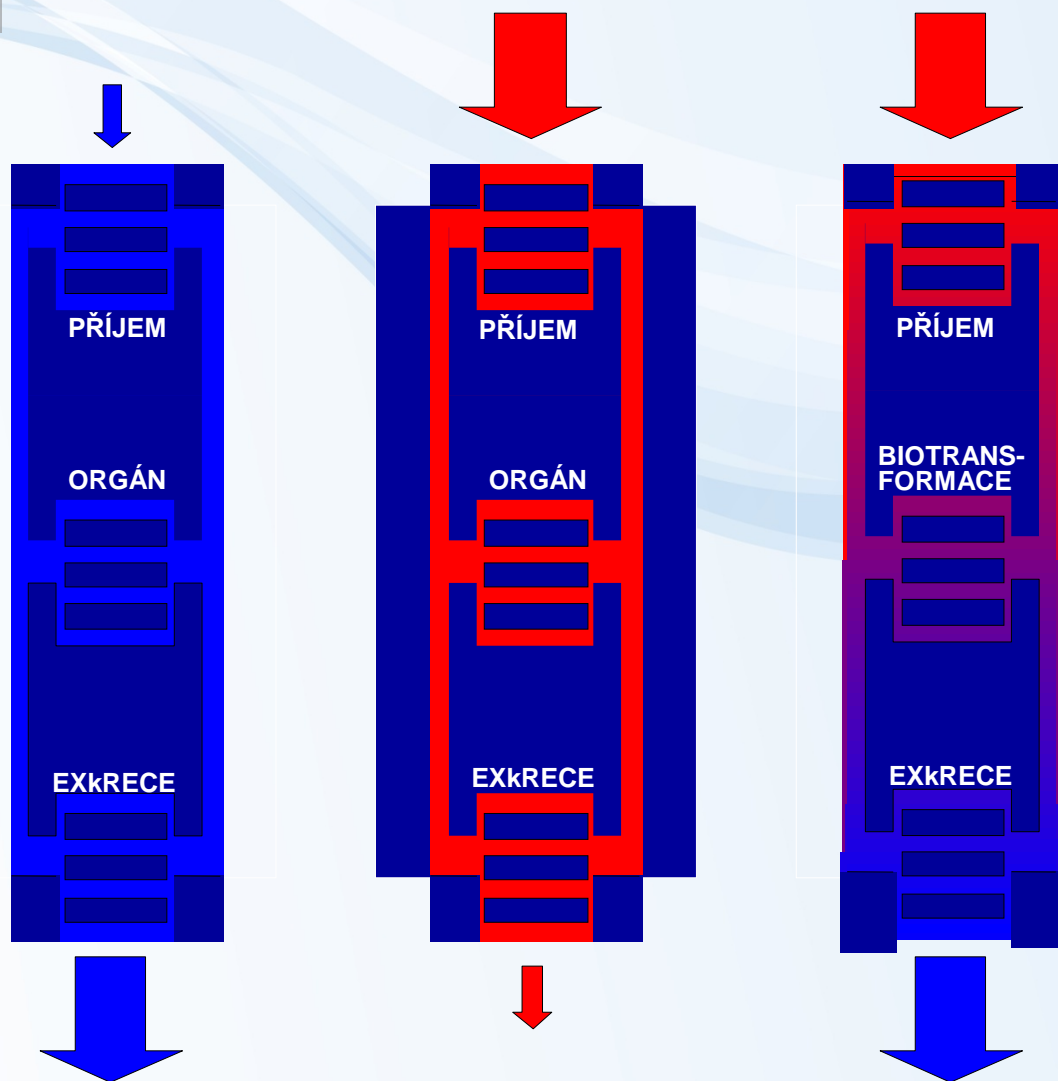
- některé kovy Hg, As
- vlasy a nehty: Mg, Mn, Sb, Se, Cd, Cr, Pb, Ni, Zn



# Biotransformace/ Metabolismus

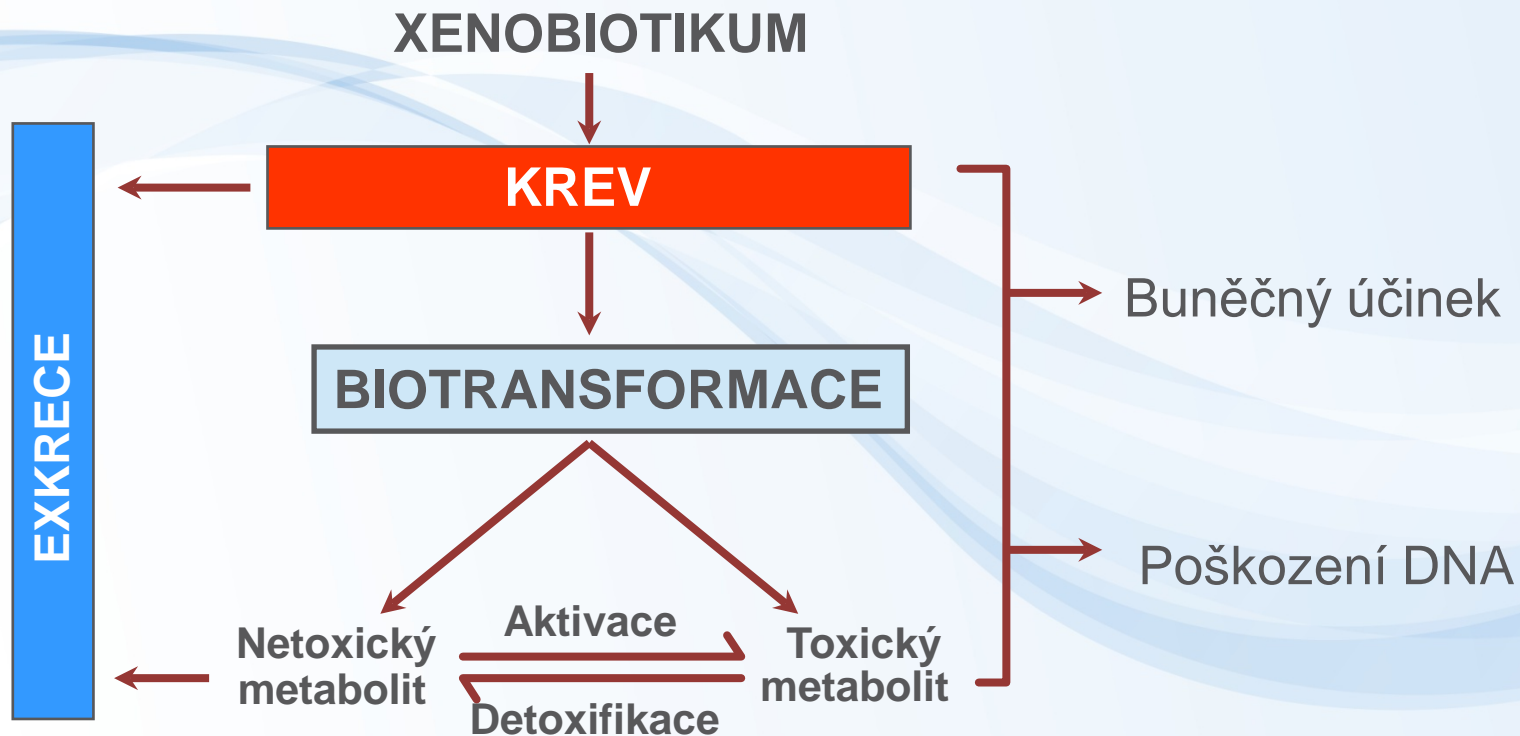
- Přeměna chemické látky biochemickými mechanismy
- Proces ve kterém jsou látky modifikovány pomocí enzymatických reakcí
- Jedná se nejen o xenobiotika, ale i látky tělu vlastní
- Dynamický proces závislý na endogenních a exogenních látkách

## Příjem a vylučování hydrofilních a lipofilních látek



**Biotransformace zvyšuje hydrofilitu/rozpusťnost látek  
a usnadňuje jejich vylučování**







# Biotransformace/Metabolismus

Většina látek prochází biotransformací – aktivace či redukce toxického účinku

Některé látky eliminovány nezměněny (zejména anorganické látky)

- Moč, žluč, pot, dech, stolice

## **Při biotransformaci**

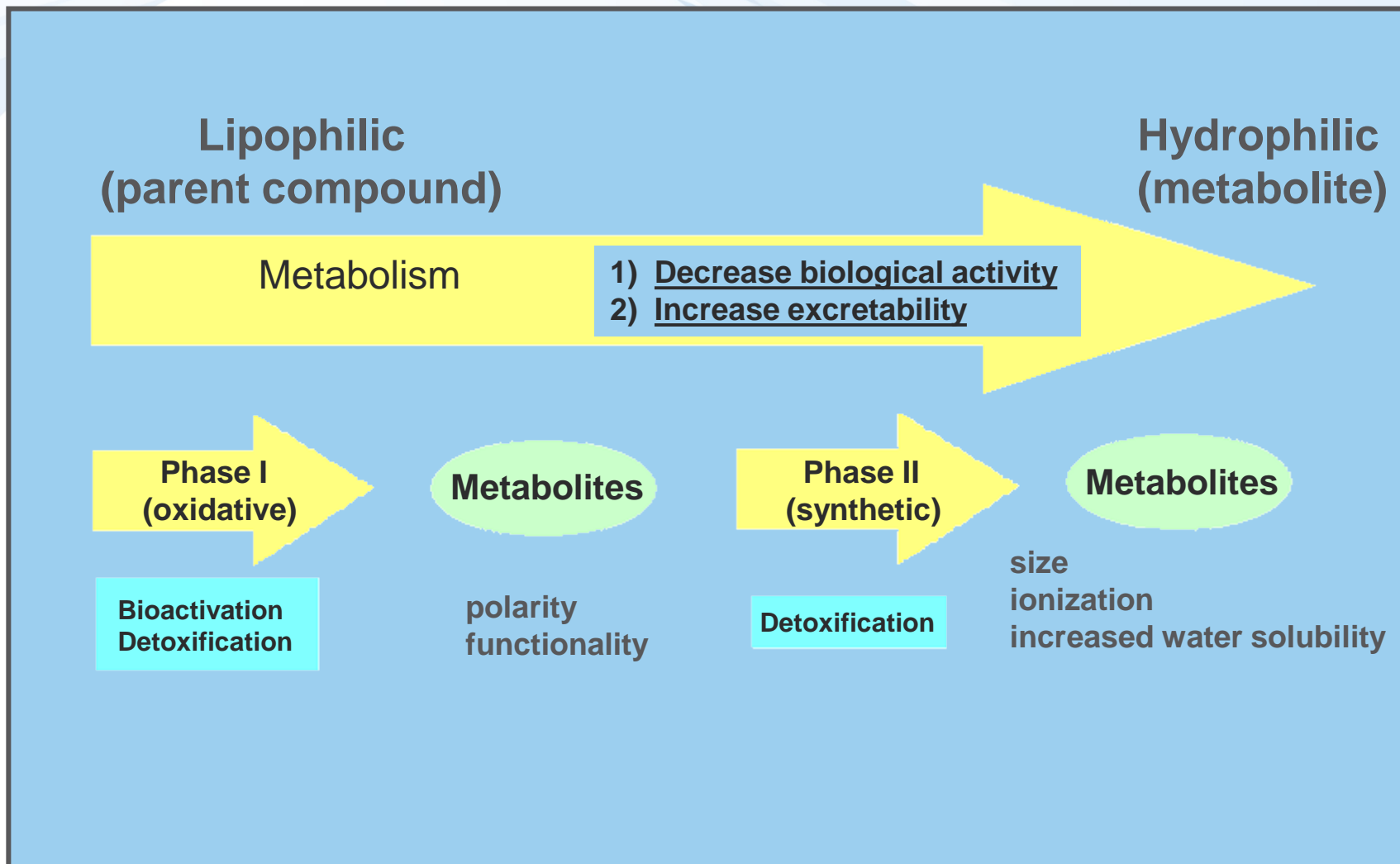
- změna struktury
- změna biologické účinnosti
- změna fyzikálních vlastností (na kterých závisí rychlost průchodu membránami, vyloučení)

**Cíl:** snížení až vymizení toxicity, snížení koncentrace v místě účinku  
snížení rozpustnosti v tucích, zvýšení rozpustnosti ve vodě a míry vylučování

X Bioaktivace – u některých karcinogenů - organofosfáty, PCB, PAH  
zvýšení toxicity či objevení toxicity (genotoxicity) původně netoxické látky



# Obecné schéma metabolismu xenobiotik

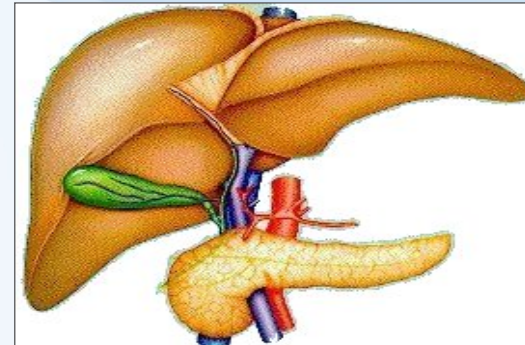


# Biotransformace

- **Hlavním místem biotransformace jsou játra**
- Biotransformační procesy probíhají také **v plicích, ledvinách, kůži, sliznicích i gastrointestinálním traktu** (tj. v místech jejich vstupu a exkrece)
- V malé míře také mozek, nos, srdce, krev,....

## Výsledek biotransformace:

- 1) Poločas látky v organismu se snižuje
- 2) Doba expozice látce se snižuje
- 3) Snižuje se možnost akumulace látky
- 4) Většinou se mění biologická aktivita látky
- 5) Mění se doba biologické aktivity látky



➤ Metabolismus je hlavním faktorem určujícím toxicitu látky

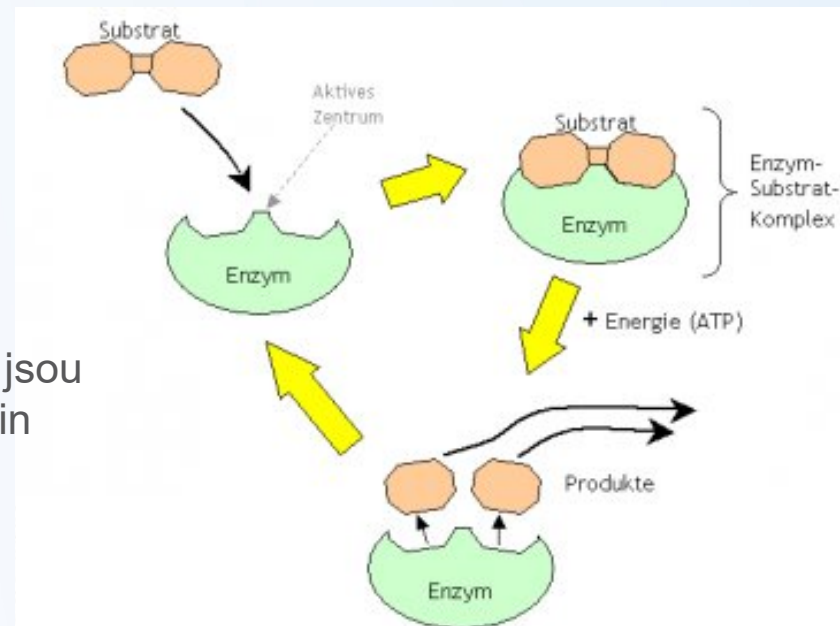


# METABOLISMUS JE ZPROSTŘEDKOVÁN ENZYMY

- Biotransformační reakce – zpravidla katalyzovány **enzymy**
- **ENZYMY** – proteiny vážící substráty  
mají/nemají koenzymy – např. hem nebo nukleotidy
- katalytická funkce - zvyšují rychlosti reakcí snížením jejich aktivační energie
- specifické, většinou přeměňují jeden nebo několik málo substrátů - jedním definovaným způsobem
- aktivita enzymů závislá na: koncentraci substrátu, teplotě, pH a přítomnosti aktivátorů a inhibitorů

**Subcelulární lokalizace – cytosol, endoplasmatické retikulum (ER), méně mitochondrie  
přítomny i mimo buňku – např. krevní plasma (esterasy)**

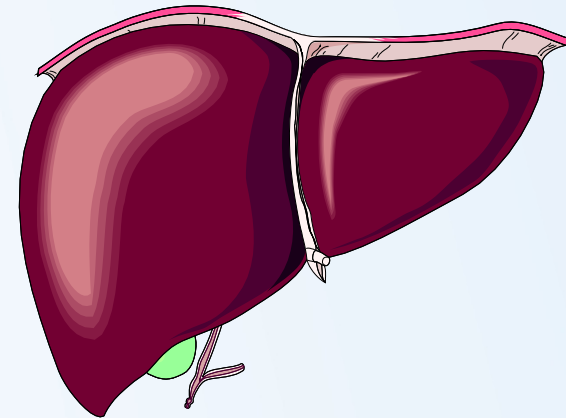
- Zvýšená koncentrace xenobiotika často indukuje syntézu enzymů
- Enzymy účastnící se biotransformace xenobiotik jsou používány i při metabolismu endogenních sloučenin



# Enzymatickou reakcí se může sloučenina:

- *zabudovat* do chemických procesů v těle (chemická složka) nebo se stát zdrojem energie
  - *přeměnit v neškodnou látku* (detoxifikovat) a vyloučit z organismu
  - *přeměnit (aktivovat) ve vysoce toxický metabolit*
- metabolická aktivace – reaktivní meziprodukty metabolismu často zodpovědné za toxický účinek látky, která by bez aktivace byla méně toxická
- např. v důsledku vysoké reaktivity s DNA, RNA a jinými makromolekulami v organismu

**Metabolizace látek** - individuální variabilita, ovlivňují ji genetické faktory, faktory zevního prostředí, věk a pohlaví.



# Fáze biotransformace



toxická látka je přeměněna ve fázi 1 na polárnější metabolit X – OH, který může být více nebo méně toxický, a tento je pak substrátem pro konjugační reakce, kdy vzniká již neaktivní derivát

**I. Fáze: Funkcionalizační** = uvolnění nebo vnesení funkční skupiny -OH, -NH<sub>2</sub>, -COOH, -SH,.....  
cytochrom P450 (CYP) a jeho izomery

**II. fáze: Konjugační** = spojení s další částicí (zbytkem molekuly) - glukuronidace, glutathionová konjugace, sulfatace, acetylace, aminokyselinová konjugace...

Vzniklé konjugáty jsou polárnější než vlastní látky a lépe se vylučují močí.



# Příklady reakcí I. fáze biotransformace

Reakce	Příklad xenobiotika
<b>Hydroxylace</b>	aromatické uhlovodíky
Sulfooxidace	disulfidy (R-S-R)
Dehydrogenace	alkoholy, aldehydy
Redukce	nitrosloučeniny (R-NO <sub>2</sub> )
Hydrolýza	estery

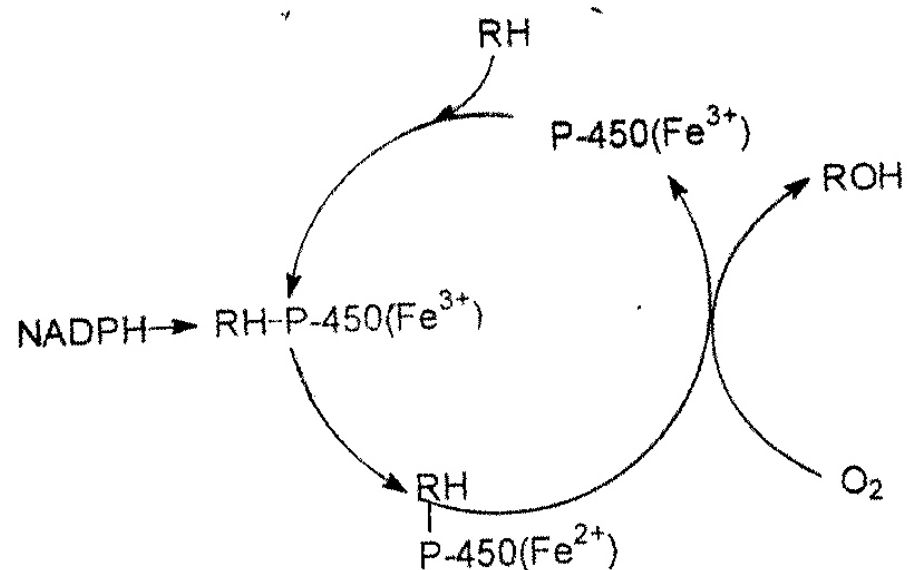
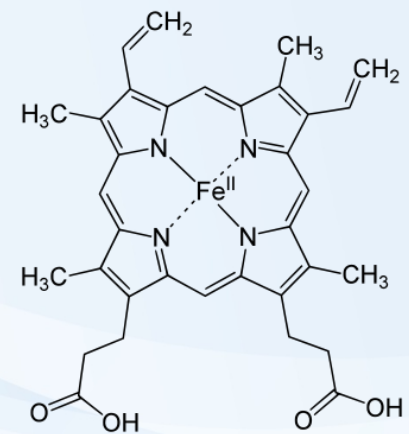
## Enzymy I. fáze

- Poměrně nespecifické ⇒ zásadní výhoda!
- **Monooxygenasy (systém cytochromu P-450)**
- Flavinové monooxygenázy, Peroxidázy
- Hydrolázy – např. esterázy – karboxyesterázy
- Reduktázy – např. azoreduktázy
- Oxidázy – např. alkoholdehydrogenáza a další ...



# Cytochromy P450 - součást multienzymového komplexu

- skupina enzymů obsahujících jako koenzym hem (cca 150 izoformem)
- obsaženy ve všech tkáních (kromě svalů a erytrocytů)
- enzymový systém - vázán na fosfolipidovou část membrány endoplazmatického retikula (ER), i v jádře
- největší koncentrace v játrech – tam nejvíce biotransformačních pochodů
- obsahuje  $\text{Fe}^{3+}$  a váže na sebe xenobiotikum a kyslík
- další složka NADPH-cytochrom reduktasa – redukuje  $\text{Fe}^{3+}$  cytochromu P450 na  $\text{Fe}^{2+}$ . Ten je v ER zapojen do systému transportu elektronů.





# 1. FÁZE BIOTRANSFORMACE: monooxygenázové reakce

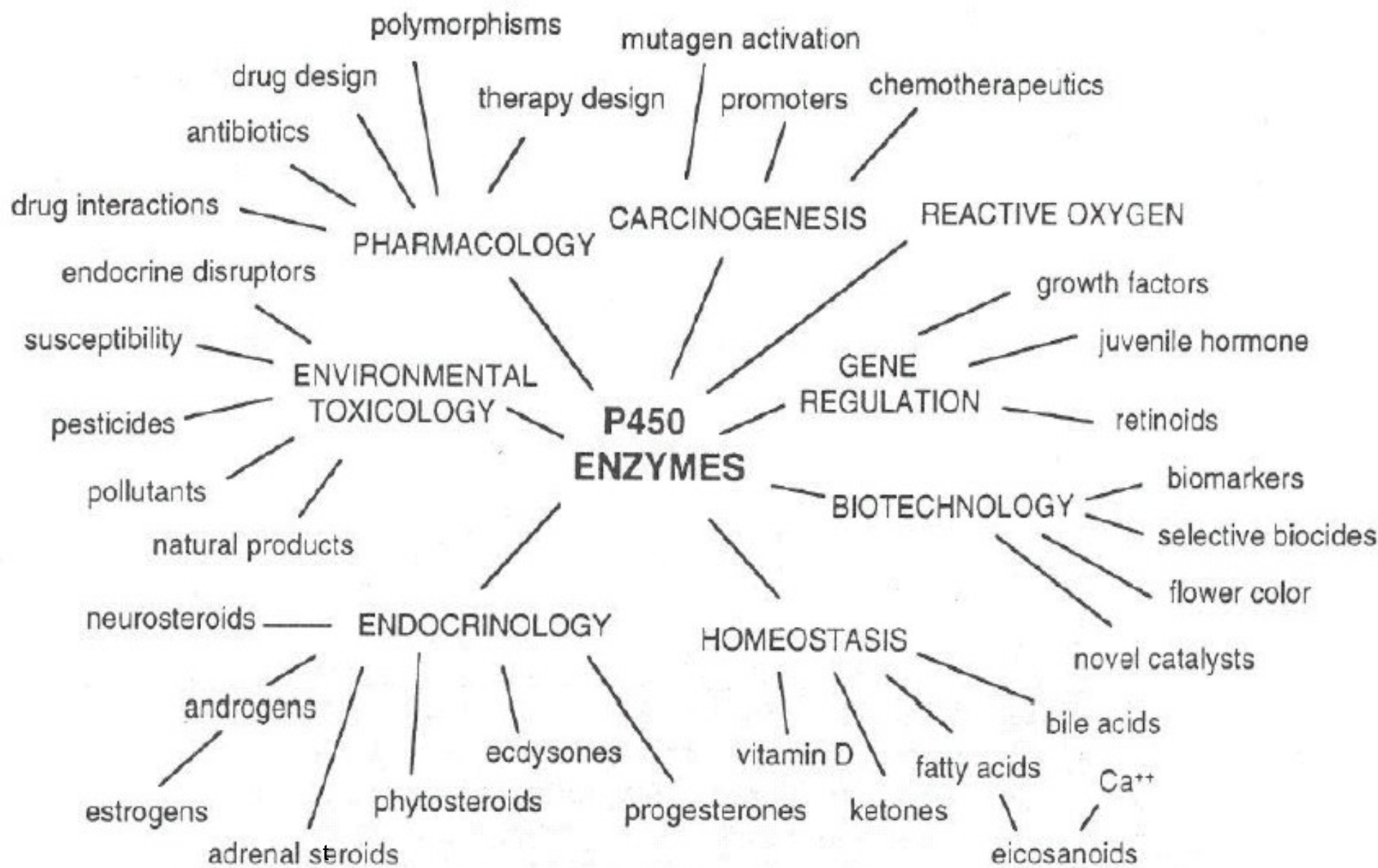
- Nejvíce oxidace, méně časté redukce a hydrolýza xenobiotik
- Nejčastější oxidace = hydroxylace v postranním řetězci nebo na aromatickém jádře - vznik hydroxylové skupiny
- Monooxygenázy (oxidázy se smíšenou funkcí) – z molekuly  $O_2$  se inkorporuje jeden atom O do substrátu - nutná přítomnost NADPH a  $O_2$

CYP enzymy



- Aktivace molekuly kyslíku, „roztržení“ vazby
- Přenos elektronů z NADPH na CYP enzym
- Oxidace substrátu (xenobiotika) R-H a NADPH (hydroxylace, N-demethylace, epoxidace....)





Zkratka: P = pigment, 450 = vlnová délka (nm), při které enzym výrazně absorbuje po navázání oxidu uhelnatého CO



# VYBRANÉ JATERNÍ MIKROSOMÁLNÍ CYTOCHROMY P450

<u>Enzym</u>	<u>Substráty</u>	<u>Existence polymorfismu</u>
CYP1A/1A2	karcinogeny	16 alel
CYP1B1	dtto, estrogeny	23 alel
CYP2A6	nikotin, léčiva	22 alel
CYP2B6	antivirotika	16 alel
CYP2C9	warfarin, fenytoin	12 alel
CYP2C19	omeprazol, diazep.	19 alel
CYP2D6	antidepresiva atd.	>60 alel
CYP2E1	paracetamol, nitros.	13 alel
CYP3A4	mnoho	25 alel
CYP3A5	mnoho	zatím 23 alel

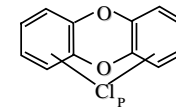
- ZÁKLADNÍ VLASTNOST STEJNÁ, SUBSTRÁTY A FUNKCE JINÉ
- OD SYNTÉZY STEROIDNÍCH HORMONŮ A OXIDU DUSNATÉHO PŘES AKTIVACI POLYCYKlickÝCH AROMATICKÝCH UHLOVODÍKŮ A KARCINOGENŮ K METABOLISMU LÉČIV

# Indukce a inhibice CYP 450

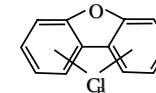
- Některá xenobiotika vyvolávají **indukci syntézy CYP** nebo sníží rychlost rozkladu, metabolická kapacita CYP se tím zvýší
- Indukce - řada (lipofilních/toxických) látek - organochlorové látky, polyaromatické uhlovodíky (PAH), polychlorované bifenyly (PCB) ...
- Je-li současně s induktorem expozice látkami metabolizovanými stejnými CYP ⇒ látky odbourány rychleji ⇒ **méně účinné**
- Dlouhodobé expozice subletálním dávkám  
---> indukce detoxikačních enzymů  
=> vzrůst **tolerance** organismu k toxikantu (**adaptace**)  
=> příliš dlouhé působení: energetické vyčerpání

- Některá xenobiotika působí jako **inhibitory CYP**
- Současná expozice inhibitorů s toxikanty  
⇒ zvýšená koncentrace toxikantu  
⇒ nežádoucí účinky

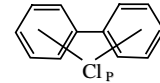
*některé látky – stabilní, jen pomalá nebo žádná biotransformace (organochlorové látky ...)*



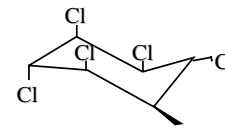
**PCDDs**  
(P = 4 to 8)



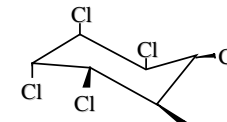
**PCDFs**  
(P = 4 to 8)



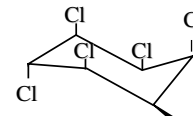
**PCBs**  
(P = 0 to 10)



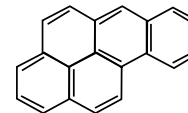
**γ-HCH**



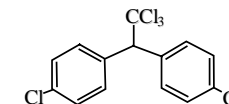
**α-HCH**



**β-HCH**



**benzo[a]pyrene**



**DDT**  
and metabolites



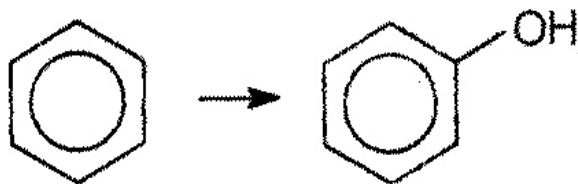
**HCB**

# Některé typy reakcí, které jsou katalyzovány mikrosomálními monooxygenasami závislými na cytochromu P-450

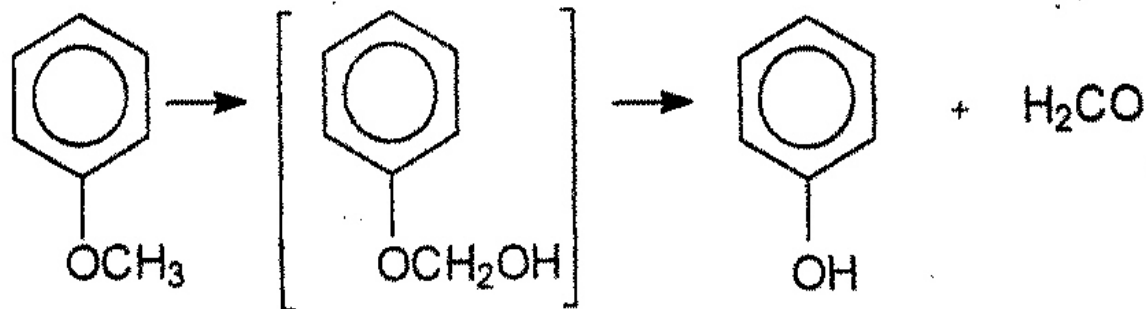
a) alifatická a alicyklická hydroxylace



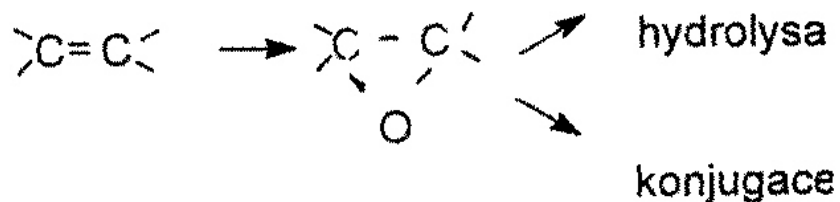
b) aromatická hydroxylace



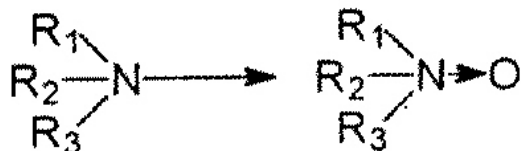
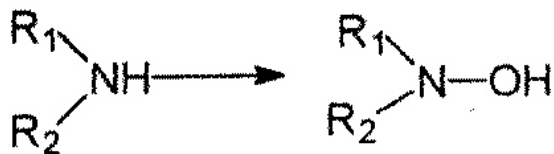
c) O- nebo N- dealkylace



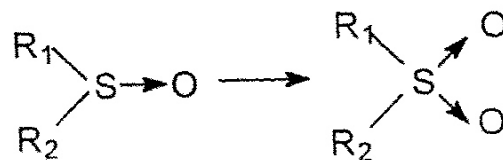
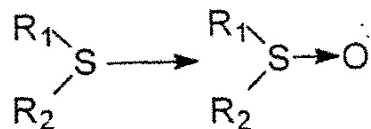
#### d) oxidace izolované dvojné vazby



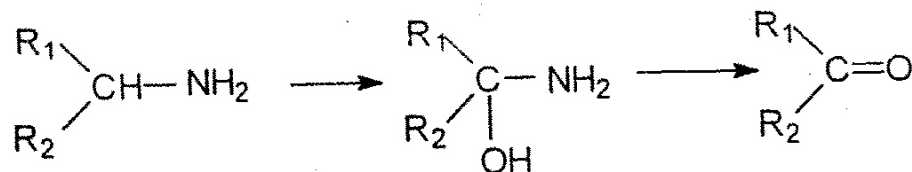
#### e) N-oxidace



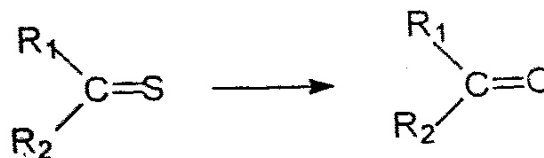
#### f) sulfoxidace



#### g) deaminace



#### h) desulfurace



## Další reakce I. fáze

**Redukční reakce** probíhají na endoplazmatickém retikulu i v cytoplasmě

Např. redukce karbonylu :



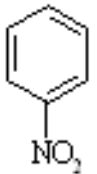
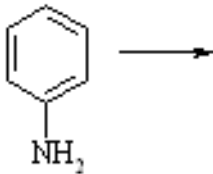
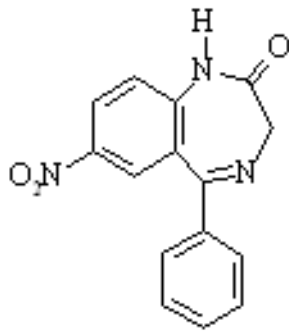
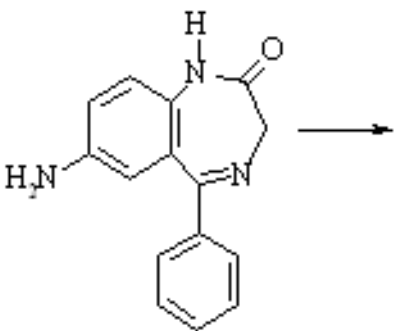
**Hydrolytické reakce:** štěpení esterových, amidových, etherových vazeb, ale také C-N vazby v karbamátech, nitrilech atd.

Jiné transformace zahrnují např. **cyklizaci** (která je spontánní a neenzymová) nebo naopak **otevření** heterocyklického nebo aromatického kruhu

**Hydratace, dehalogenace**



# Redukce nitroskupin

Parent compound	Metabolites
 <p><b>nitrobenzene</b></p>	 <p><b>aniline</b></p>
 <p><b>nitrazepam</b></p>	 <p><b>7-aminonitrazepam</b></p>

# Redukce aldehydů, ketonů

Parent compound	Metabolites
$\text{Cl}_3\text{C}-\text{CH}\begin{matrix} \text{OH} \\ \text{OH} \end{matrix}$ <p><b>chloralhydrate</b></p>	$\text{Cl}_3\text{C}-\text{C}\begin{matrix} \text{O} \\ \text{OH} \end{matrix} \longrightarrow \text{Cl}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{OH} \longrightarrow$ <p><b>trichloroethanol</b></p>
$\begin{matrix} \text{H}_3\text{C} \\ \text{H}_3\text{C} \end{matrix} \text{C}=\text{O}$ <p><b>acetone</b></p>	$\begin{matrix} \text{H}_3\text{C} \\ \text{H}_3\text{C} \end{matrix} \text{CH}-\text{OH}$ <p><b>isopropanol</b></p>





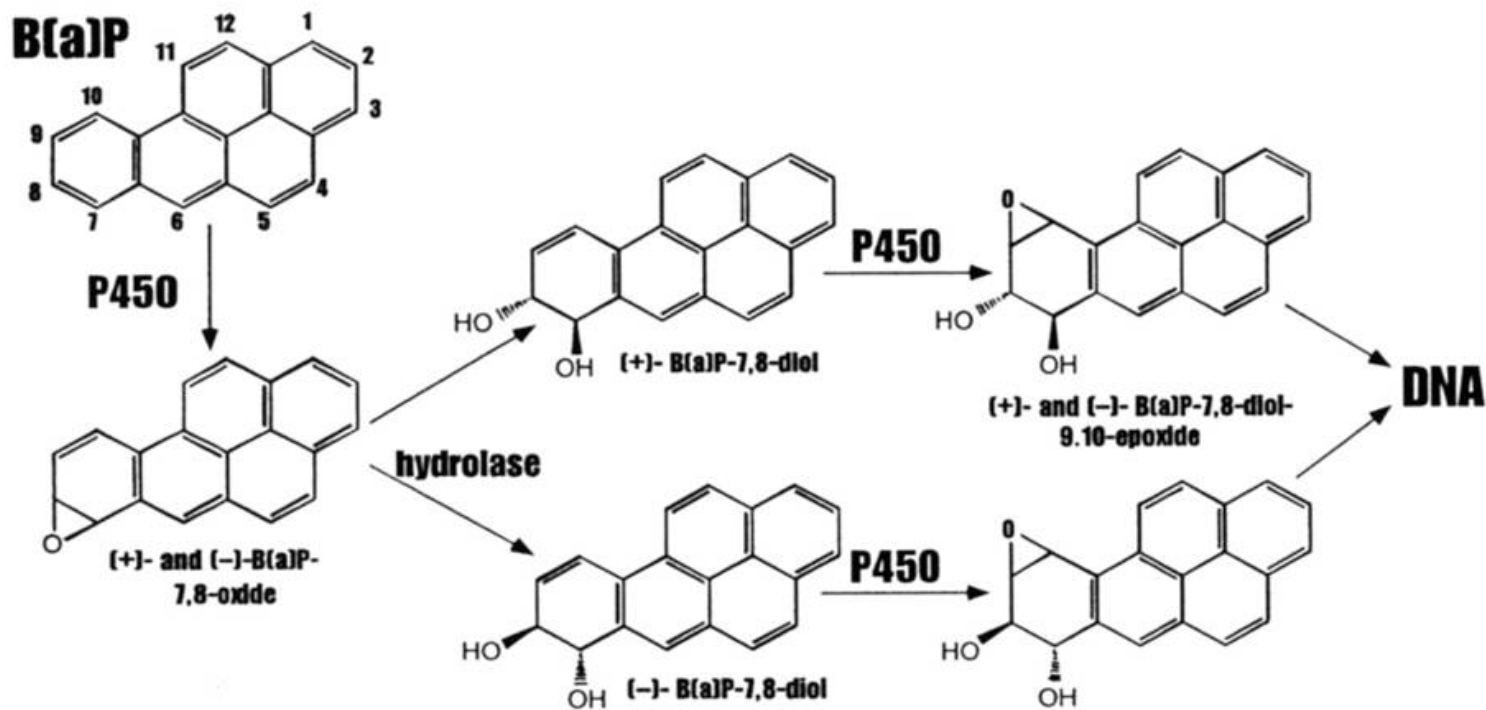
**Metabolická Aktivace** - při metabolizaci některých látek vznikají toxičtější metabolity

## Příklad – POLYCYKlickÉ AROMATICKÉ UHLOVODÍKY

- epoxidace benzo[a]pyrenu (BaP) - Cyp1 přidá epoxid, hydroxyláza přidá trans hydroxylové skupiny k BaP

-> oxidovaný BaP se váže na guanosinové zbytky v DNA, inhibuje normální vazbu DNA topoisomerázy 1, narušuje replikaci DNA

**- genotoxické působení**



# Konjugace – II. Fáze přeměny cizorodých látek

- Konjugace - přidání polární skupiny do cizí molekuly (do původní nebo z 1. fáze) - více rozpustné, méně toxické
- Konjugát vzniká reakcí aktivované endogenní složky s xenobiotikem
- Potřeba endogenní složky - tím xenobiotika zasahují do intermediárního metabolismu
- Zvýšení polárního charakteru, konjugát již nemůže pronikat do buněk a je vylučován nejčastěji ledvinami
- Konjugace probíhá v játrech (v malém rovněž kůže a střevo)

Typ konjugace	Konjugační činidlo	Skupina v xenobiotiku
Glukuronidace	UDP-glukuronát	-OH, -COOH, -NH <sub>2</sub>
Sulfatace	PAPS (3'-fosfoadenosine-5'-fosfosulfát)	-OH, -NH <sub>2</sub> , -SH
Methylace	SAM (S-adenosylmethionin)	-OH, -NH <sub>2</sub>
Acetylace	Acetyl-CoA	-OH, -NH <sub>2</sub>
Glutathionem	Glutathion	Ar-Hal, Ar-epoxydy
Aminokyselinou	Glycin, taurin	-COOH

# Konjugační reakce II. fáze (1.)

## 1. Konjugace s kyselinou glukuronovou

- **kyselina glukuronová**, aktivovaná forma UDP-glukuronát → vytváří O- nebo N- glukuronidy (**UDP glukuronosyltransferasy** – nejběžnější cesta detoxikace, ale může se účastnit na aktivaci)
- adice na OH, COOH, amino, thio skupiny
- Steroidy, arom. aminy, amfetaminy, flavonoidy, léčiva

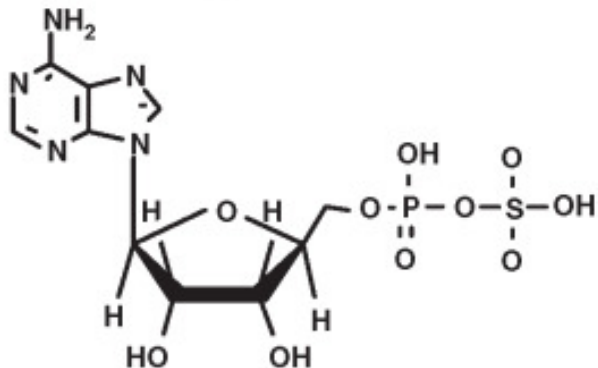


## 2. Sulfatace

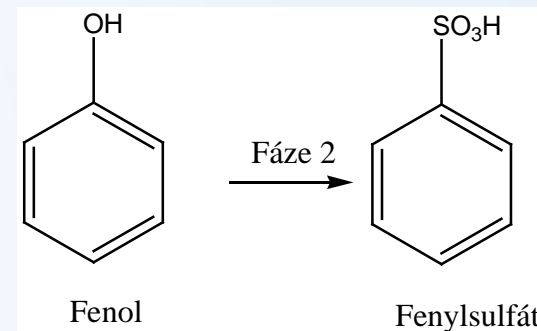
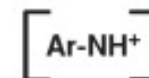
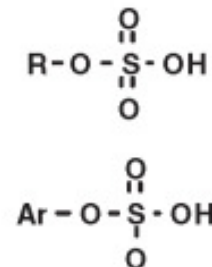
- adice sulfátu na hydroxylovou skupinu
- $\text{H}_2\text{SO}_4$ , aktivovaná forma: aktivní sulfát PAPS, reaguje s xenobiotiky aromatické -OH a  $-\text{NH}_2$ ; produkt: aryl-alkylsulfáty (**Sulfotransferasy**)

R - OH, Ar - OH, Ar - N - OH,

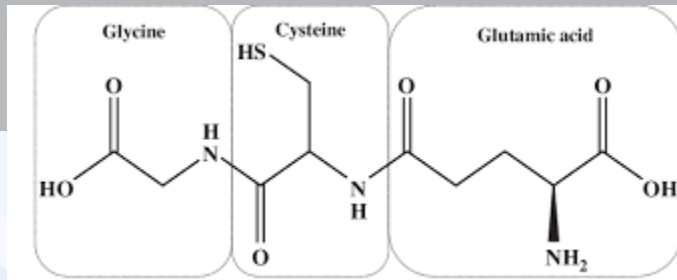
+



sulfotransferase



# Konjugační reakce II. fáze (2.)



## 3. Konjugace s glutathionem

- **Glutathion** ( $\gamma$ -glutamylcysteinyl-glycin, GSH)
- tripeptid s nukleofilním S atomem, elektrofilní látky (s nedostatkem elektronů) se vážou na nukleofilní skupinu –SH glutathionu (**glutathion-S-transferasa**). Konjugáty dále metabolizují na merkapturové kyseliny.
- konjuguje polycyklické aromatické sloučeniny, halogenované alkylsloučeniny epoxidy, aromatické nitro sloučeniny, nenasycené alifatické sloučeniny

## 4. Acetylace

- **Acetát**, aktivované činidlo: Acetyl-CoA, konjuguje sloučeniny s  $-\text{NH}_2$ ; produkt N-acetylderiváty (**N-acetyltransferasy**)
- aromatické amino sloučeniny, sulfonamidy, hydraziny, hydrazidy

## 5. Konjugace s aminokyselinami

- **Glycin**, konjuguje aromatické a heterocyklické kyseliny; produktem je kyselina hippurová a podobné látky
- cizí organické kyseliny reagují s koenzymem A a následně s aminokyselinou

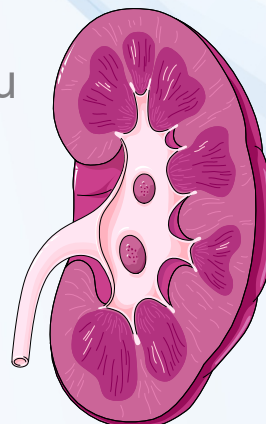
Enzymy Fáze II **jsou indukovatelné**

- zvýšeným výskytem substrátů (z I. fáze detoxifikace)
- reaktivních toxikantů v buňkách

# Vylučování

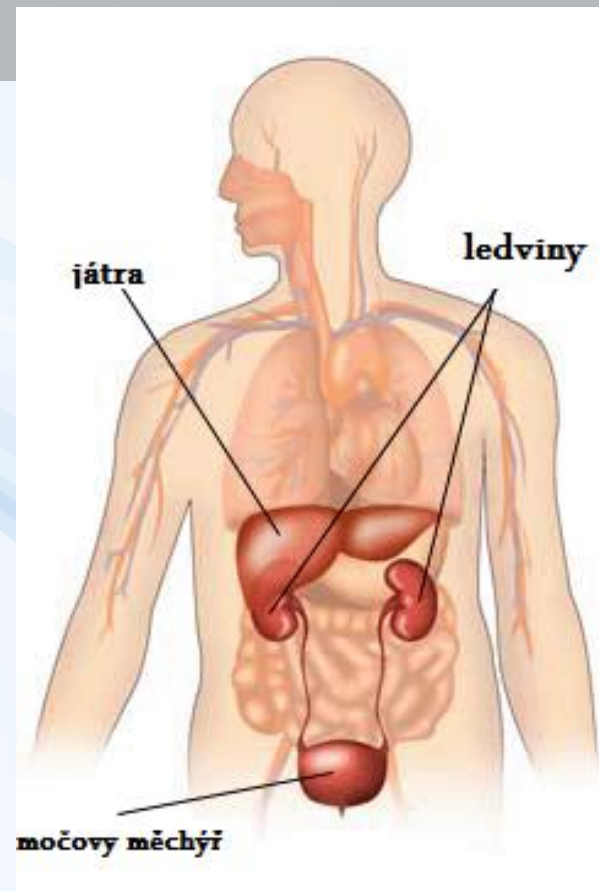
## Ledviny - moč

- glomerulární filtrace, tubulární absorpce nebo sekrece
- limitovány velikostí molekul
- rozhoduje funkce ledvin i krevního oběhu
- polární hydrofilní látky
- malé ve vodě rozpustné molekuly



## Játra - žlučová exkrece

- zejména lipofilní látky
- důležitá cesta exkrece velkých polárních látek
- žluč je sekretována v játrech (hepatocyty), a žlučovodem do dvanáctníku, a následně stolicí ven z těla
- důležitá je molekulová hmotnost vylučované látky (300 a více)
- exkrece do žluči - aktivní proces - tři specifické transportní systémy ( pro neutrální látky, kationty a anionty)



# Vylučování

## Plíce

- vydechováním: **těkavé látky, plyny**, těkavá organická rozpouštědla.
- exkrece pasivní difúzí z krve do plicních sklípků (alveolů) dle koncentračního gradientu
- díky rychlé výměně plynů - stálé zachování koncentračního gradientu

## Vylučování žlázami

- slinné, potní, mazové, slzné
- sliny, pot, slzy - látky hydrofilní/lipofilní

## Vylučování mateřským mlékem

- lipofilní látky s dlouhým biologickým poločasem
- přímá expozice kojenců



# Setrvání látky v organismu

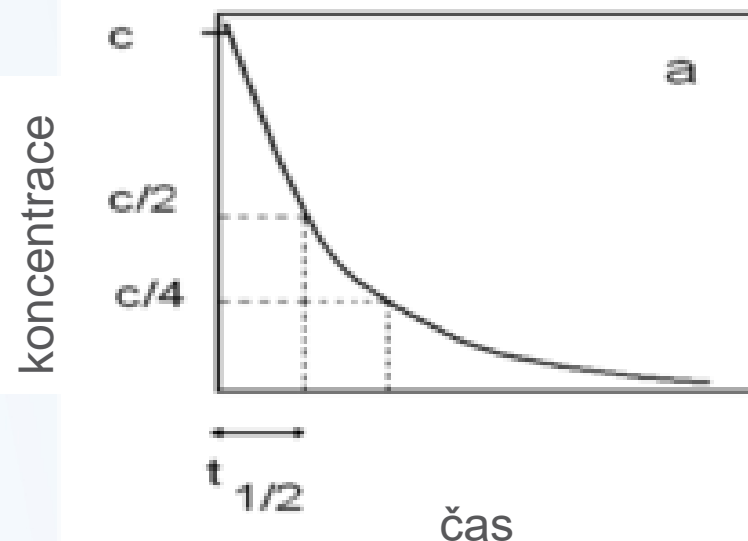
## Poločas látky v organismu $T_{1/2}$

Vypočítán ze závislosti plazmatické koncentrace na čase.

= čas, za který se koncentrace látky sníží o polovinu

= čas potřebný k eliminaci poloviny látky z organismu

➤ Je určen metabolismem, distribucí a exkrecí dané látky.



Čím je vyšší, tím je látka delší dobu v organismu.

Rychlá eliminace snižuje pravděpodobnost výskytu toxicity látky a snižuje trvání jejího biologického účinku.



# Vylučování / Exkrece

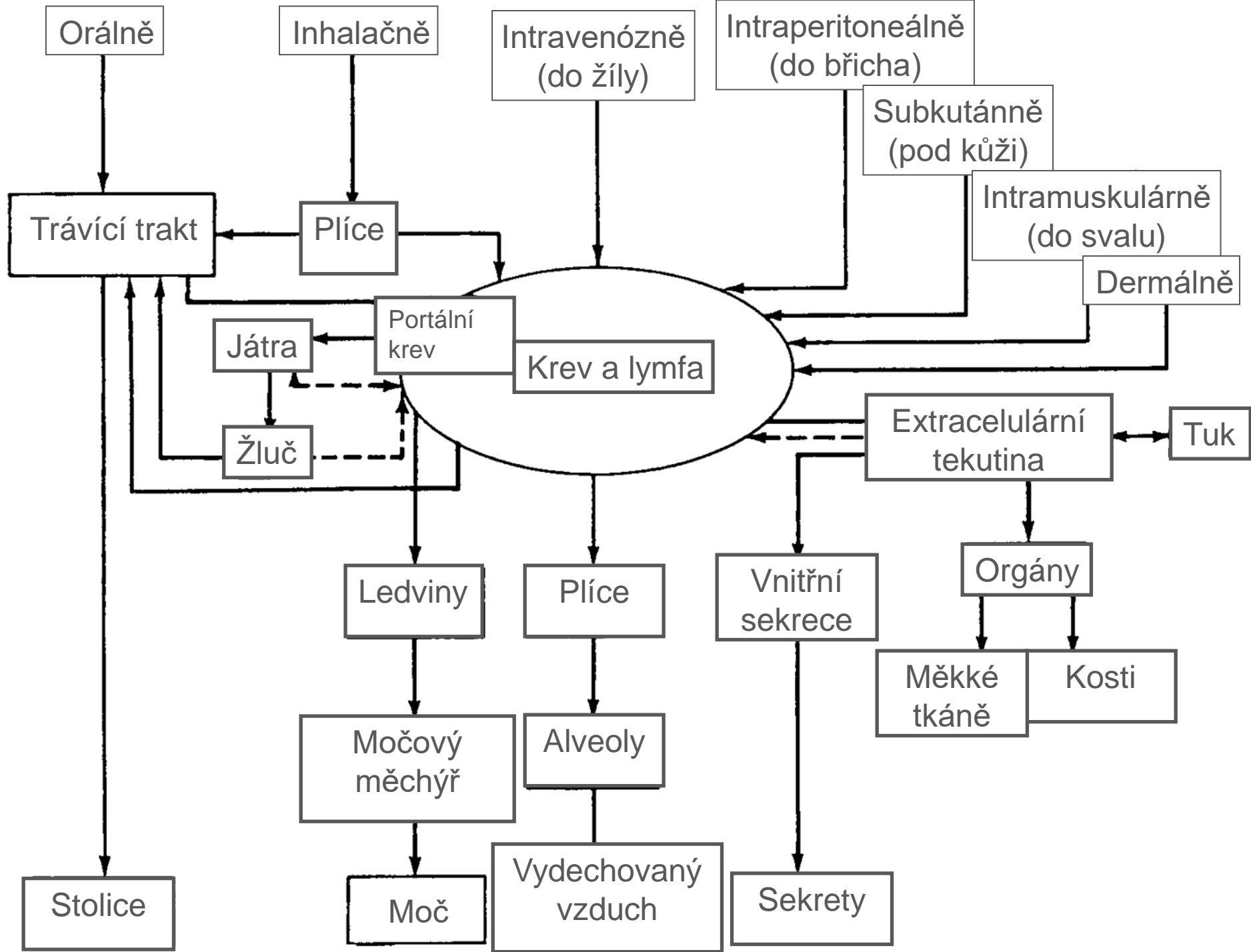
Rychlost vylučování ( $t_{1/2}$  - biologický poločas) z tělních tekutin nebo z těla podmiňuje stupeň a trvání (vratného) účinku

Způsob vylučování důležitý pro:

stanovení zátěže organismu toxikantem (např. **Hg** ve vlasech, **Cd** v moči/krvi)  
rezidua vet. léčiv v potravinách (mléko)







# Působení látek ve směsích

Možné nespecifické spolupůsobení:

- Indukce/inhibice enzymů ovlivňujících osud a biotransformaci dalších látek

**Výsledky interakce v působení:**

## **Aditivita**

- chemické látky působí, aniž by navzájem mezi sebou interagovaly a navzájem ovlivňovaly svou toxicitu. Výsledný toxický účinek je součtem toxických účinků obou látek. Toxicita směsi toxikantů A a B je stejná jako suma toxicit toxikantů A a B působících samostatně ( $2 + 3 = 5$ )

## **Antagonismus**

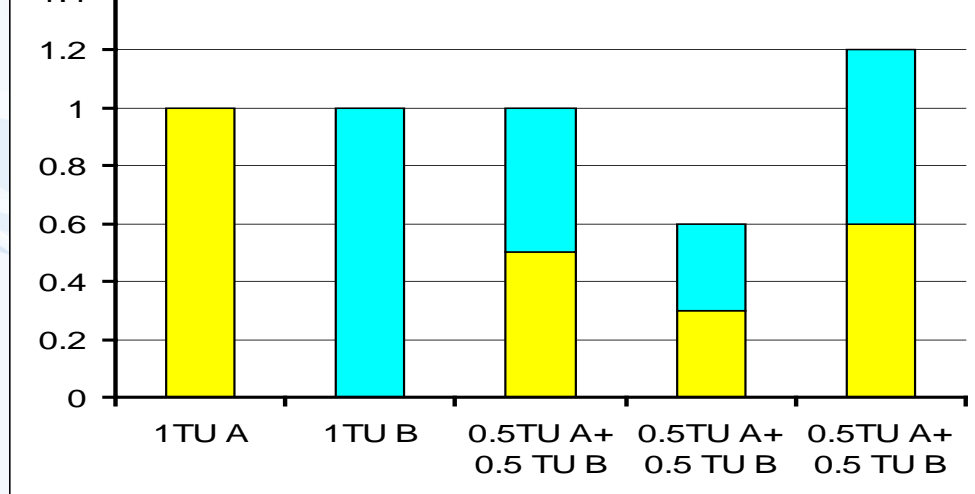
- působení jedné látky vyvolá snížení citlivosti biologického objektu k druhé látce. Výsledný toxický účinek je menší, než by odpovídalo součtu toxických účinků jednotlivých látek. Toxicita směsi toxikantů A a B je nižší než suma toxicit toxikantů A a B působících samostatně ( $6 + 4 = 8$ )

## **Synergismus**

- jedna látka zvyšuje působení látky druhé či citlivost biologického objektu k druhé látce (nebo obě látky navzájem). Výsledný toxický účinek je větší než součet účinků jednotlivých látek. Toxicita směsi toxikantů A a B je vyšší než suma toxicit toxikantů A a B působících samostatně ( $2 + 2 = 20$ )

## **Potenciace**

- toxický účinek látek se potencuje, tzn. že jedna samostatně netoxická látka zvyšuje citlivost biologického objektu k druhé látce a toxicitu další chemikálie ve směsi. Výsledný toxický účinek je větší než součet toxických účinků jednotlivých chemických látek ( $0 + 4 = 15$ )



# Typy antagonismu

- Funkční
  - opačný vliv na tu samou fyziologickou funkci, na stejné struktury, ovlivnění stejného pochodu, receptoru atd. – využívá se při symptomatické léčbě otrav
- Chemický
  - jedna látka chemicky interaguje s druhou a inaktivuje ji
  - chelatace kovů, neutralizační reakce, interakce kation + anion
- Dispoziční
  - změny v příjmu, distribuci nebo vylučování
- Receptorový
  - Zablokování receptoru - kompetitivní a ireverzibilní (nekompetitivní) antagonismus - antagonisté se váží na receptory, ale neaktivují je, brání agonistům ve vazbě na ně a jejich aktivaci



# Toxikodynamika

## VAZBA x INTERAKCE x VYVOLÁNÍ TOXICKÉHO ÚČINKU

- účinky toxických látek na organismus, interakce látky s organismem, která je zodpovědná za sledovaný efekt
- studuje mechanismy účinku - inhibice či indukce enzymů, interference s funkcemi buněk, aktivace a deaktivace látek metabolickou cestou, biochemické a biofyzikální pochody, které probíhají přes receptory nebo noreceptorovým mechanismem.

## Jak toxické látky způsobují toxicitu

Poškozením normálních buněčných funkcí

- Vazba a poškození proteinů (strukturní, enzymy)
- Vazba a poškození DNA (mutace)
- Vazba a poškození lipidů
- Reagují v buňce za vzniku "volných radikálů", které poškozují lipidy, proteiny a DNA
- Poškození homeostázy vápníku
- Zásah do buněčného cyklu
- Narušení interakcí receptor-ligand
- Narušení funkce membrán
- Narušení produkce energie v buňce....

