

# СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ ПРООКСИДАНТОВ

*Бобырев В.Н., Островская Г.Ю., Рябушко Н.Н.*

Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава

В последние годы одним из факторов индукции свободнорадикального перекисного окисления (СРПО) липидов в организме и способствующим повреждению макромолекул клеток следует считать поступление в организм ксенобиотиков-прооксидантов, к числу которых относятся многие промышленные яды, пестициды, лекарства-окислители [10, 12, 14, 20]. В связи с расширением использования в промышленности и сельском хозяйстве химических соединений резко возросла их потенциальная роль в индукции СРПО и последующим повреждением печени и других органов и тканей. Следует особо отметить возможность генетических последствий поступления ксенобиотиков, в том числе прооксидантного действия [8, 12]. Под прооксидантами понимают, прежде всего, химические соединения, способные прямо либо косвенно усиливать в организме процессы аутоокисления. Следует подчеркнуть, что прооксидантным действием могут обладать не только химические соединения, но и физические факторы (облучение, электромагнитные поля и т.п.).

В условиях воздействия разнообразных химических веществ в процессе эволюции выработались специальные системы биохимической детоксикации, центральным звеном которой являются микросомальные монооксигеназы. В системе детоксикации липофильных ксенобиотиков можно выделить четыре основных звена [18]: 1) микросомальные монооксигеназы, включая фосфолипиды мембран эндоплазматической сети, 2)

субстраты и ферменты конъюгации, 3) макроэргичес соединения, необходимые для реакций конъюгации поставляющие их процессы биоэнергетики, 4) ферментативные и неферментативные механизмы ангара; кальной и антиперекисной защиты (рис. 1).

Усиление функционирования микросомальных монооксигеназ сопровождается генерацией супероксидных анионрадикалов, образованием перекиси водорода усилением процессов СРПО липидов. Указанные изменения вызывают активацию системы антиоксидантной защиты (САЗ), включающие антирадикальные энзимные механизмы; здесь следует подчеркнуть особую роль системы глутатиона и связанных с ним ферментов, участвующих в реакциях конъюгации и в составе САЗ [5, 18, 27].

В различных руководствах многими авторами предпринимались попытки классифицировать химические агенты, оказывающие токсическое действие на организм [4, 6, 7]. Их классифицировали по химической принадлежности, механизмам повреждающего действия на организм, по проявлениям токсических эффектов; и другим признакам. Нами предлагается классификация ксенобиотиков-прооксидантов по механизмам повреждающего действия на организм (табл. 1). Следует отметить, что многие прооксиданты оказывают токсическое действие по нескольким механизмам, поэтому химическое соединение включалось в соответствующую группу по ведущему механизму повреждающего действия. Предлагаемая классификация объединяет химические соединения, используемые в промышленности и в сельском хозяйстве.

В механизмах детоксикации преимущественно участвуют оксидазы смешанными функциями и ферменты обеспечивающие процессы конъюгации. Оксидазы со смешанными функциями метаболизируют липотропные ксенобиотики, катализируя реакции их С-гидроксилирования в алифатической цепи, в ароматических и ациклических кольцах, в алкильных боковых цепях, М-гидроксилирования. С-

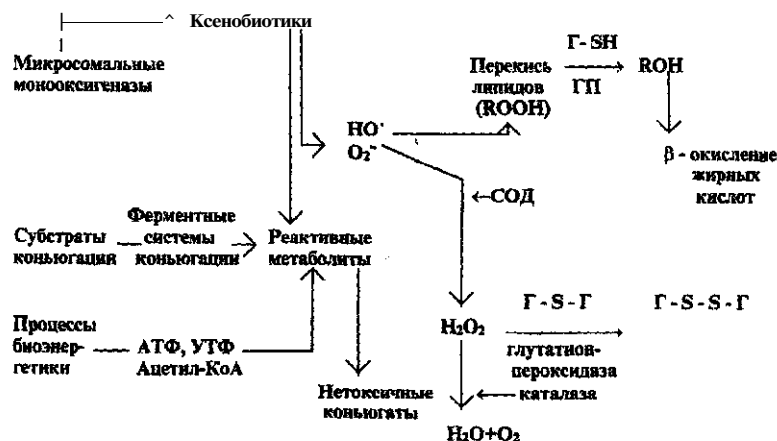


Рис. 1. Схема детоксикации липофильных ксенобиотиков [18].

Таблиця 1. Класифікація ксенобіотиків-прооксидантів

№п/п	Химическое соединение	Механизм действия
1	2	3
1	Гапогенопроизводные: бромбензол, тетрахлорметан, галогенуперодные пестициды	генерація свободних радикалов (СР) $K3CC13-K3C +Cl$
2	Окислители: бихромат калия, периодат калия	блокада SH-груп
3	СР: окись азота	генерація СР
4	Кремний-волокна: асбест, кварц, кроцидолит, хризолит, окись кремния, антофилитамозит	поглощениеиенейтрофшташі с "дыхательным взрывом", продукция активных форм кислорода и перекисей
5	Ингибиторы цитохромоксидазы: цианиды	накопление восстановительных эквивалентов, блокада SH-груп
6	Полициклические углеводороды: бензпирен	активация микросомального окисления
7	Ингибиторы Са <sup>2+</sup> -содержащих ферментов: диэтилдитиокарбамат	ингибирование активности супероксиддисмутазы (СОД) и церулоплазмينا
8	Нитрозосоединения: дитилинитрозамин N-нитрозосоединения	генерація СР нитрозаминна
9	Тяжелые металлы: кадмия ацетат, свинца ацетат, медь, ртуть, серебро	блокада SH-фуп
10	Гидразины: гидразин, фенилгидразин, гидралазкн	снижение уровня SH-груп
11	Фосфор: фосфорорганические инсектициды	образование СР фосфора
12	Параквзт дшват	генерація СР пиридина
13	Аллоксан	генерація СР

дезалкилирования, М-дезалкилирования, 8-дезалкилирования, окислительного дезаминирования, десульфирования и эпоксирирования. Наряду с окислительными превращениями эти ферменты катализируют реакции восстановления нитро- и азосоединений, реакции восстановительного дегалогенирования. Образовавшиеся метаболиты легко конъюгируют с образованием малотоксических соединений.

Оксидазы со смешанными функциями, катализирующие реакции биотрансформации липотропных ксенобіотиків, а также эндогенных стероидов, подинена-сьщенных жирных кислот (ПНЖК) и простагландинів, представляют собой полиферментный комплекс, локализованный на гладком эндоплазматическом ретикулуме и связанный с двумя внемитохондриальными цепями переноса электронов. Общим звеном этих зависимых от НАДФН и НАДИ путей транспорта электронов является цитохром Р-450 [1, 25, 28].

Ферменты, одним из субстратов которых является

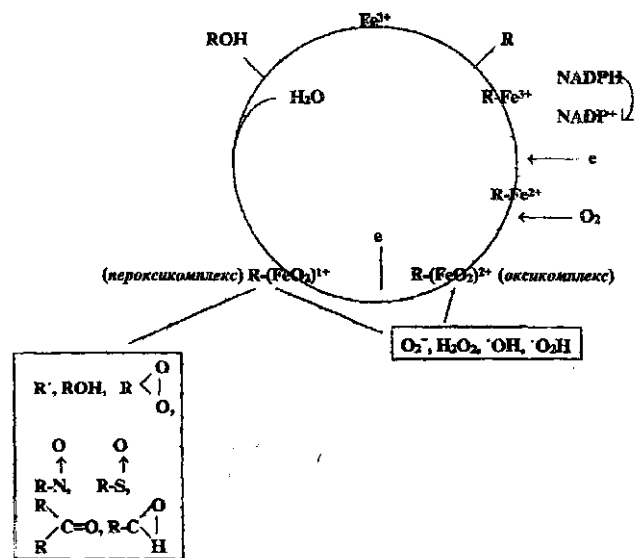


Рис 2. Шлях образования активных интермедиантов в гидроксизязких реакциях [2].

кислород, можно разделить на две группы: оксигеназы и оксидазы. Оксигеназы катализируют реакции, в которых атомы кислорода внедряются в органический субстрат и разделяются на ди- и монооксигеназы в зависимости от того, сколько атомов присоединяются к субстрату. В реакциях, катализируемых оксидазами, молекула кислорода выступает лишь как акцептор электронов и восстанавливается до супероксиданионрадикала (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), перекиси водорода или двух молекул воды.

Гемопротеины представлены как среда оксиааз, так и ди- и монооксигеназ. Цитохром Р-450 относится к монооксигеназам, однако основная монооксигеназная реакция сопровождается побочными, в которых восстановленные промежуточные комплексы цитохрома с субстратом и кислородом распадаются с образованием O<sub>2</sub>, H-XX H<sub>2</sub>O, как это свойственно оксидазам. Побочное образование\* активных форм кислорода и перекиси водорода на цитохроме Р-450 может иметь существенные последствия для клетки, так как они и особенно гидроксильный радикал, образующийся при их взаимодействии, могут повреждать макромолекулы клеток, что в конечном итоге может приводить к инактивации ферментов, мутациям, повреждению мембран. На первой стадии реакции происходит связывание окисленной формы цитохрома с субстратом. Большинство субстратов вызывают изменения за счет смещения спинового равновесия в сторону высоко спиновой формы. На следующей стадии происходит восстановление этой формы электронами НАДФН, поступающими через НАДФН-цитохром Р-450-редуктазу. Присоединение кислорода к восстановленному фермент-субстратному комплексу приводит к образованию оксикомплекса <PеOг><sup>2+</sup> РН. Его автоокисление приводит к освобождению супероксиданионрадикала и регенерации окисленного фермент-субстратного комплекса. Для продолжения монооксигеназного цикла необходимо восстановление оксидоцитохрома Р-450 вторым электроном, что приводит к образованию пероксидоцитохрома Р-450 (PеOг)<sup>1+</sup> РН. Протонирование пероксидоцитохрома Р-450 приводит к освобождению перекиси водорода [9, 28].

На рис. 2 представлена схема образования реакционных метаболитов двух типов в реакциях гидроксирования. Первый тип - это продукты частичного восстановления кислорода (супероксидный анионрадикал и перекись водорода), являющиеся источниками гидроксильных радикалов, окисляющих самые разнообразные вещества. Второй тип - реакционные метаболиты окисляемых веществ (свободно-радикальные состояния субстрата, эпокси, N-окиси, S-окиси, альдегиды, кетони) [2]. Существуют два пункта образования активных продуктов кислорода, обладающих токсическими свойствами - это окси- и пероксикомплексы цитохрома P-450, тогда как свободнорадикальные формы субстрата могут образовываться только на стадии распада пероксикомплекса.

Из всех ксенобиотиков-прооксидантов наиболее известным и изученным является свободнорадикальный механизм токсического действия четыреххлористого углерода. Введение животным СС14 уже через 1,5-2 часа вызывает перекисидацию липидов ПНЖК микросом печени [30]. По мнению А.Томаси и соавторов [31] токсическое действие СС14 на печень опосредовано СР, вследствие чего наблюдается деструкция эндоплазматической сети в связи с атакой СН<sup>+</sup>-мостиков ПНЖК СР, образующимися при гемолитическом расщеплении СС14. А.И. Арчаков [1] привёл детальный разбор механизма токсического действия четыреххлористого углерода. По его мнению, решающим в повреждающем эффекте является связывание тетрахлорметана с цитохромом P-450. Быстро протекающая реакция восстановления приводит к образованию СС13, являющегося пусковым звеном в механизме повреждающего действия яда. Некоторые авторы [14, 31] считают, что ведущую роль в токсическом действии СС14 играет не СР СС13, а СС13О2, превосходящий в этом отношении другие радикалы; производное о-бензохинона в этих условиях оказывает протекторное действие. Аналогичный защитный эффект проявляют фенольные антиоксиданты (АО) [3]. Цистамин снижает образование перекисей липидов, стабилизирует мембраны лизосом и оказывает гепатозащитное действие при отравлении ССУ; гепатотоксичность снижалась также при применении а-токоферола [6].

Гепатотоксическим эффектом обладает акрилонитрил вследствие образования активных форм кислорода и перекисей. Окисление акрилонитрила в микросомальной системе сопровождается модификацией макромолекул под действием активных продуктов неполного восстановления кислорода (Of, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, OH). Использование токоферола с целью профилактики заболеваний среди рабочих производства акрилонитрильного синтетического каучука оказывает протекторный эффект [2].

Изучение механизма действия химического канцерогена группы нитрозаминов показало, что, как при изолированном, так в комбинированном поступлении в организм, они нарушают функционирование оксидаз со смешанной функцией (цитохром P-450) в микросомах печени, вследствие чего наблюдается либилизация мембранных структур и модификация поверхностного слоя липидов. Мембраноповреждающий эффект обу-

словлен реакциями СРПО липидов в клеточных мембранах. Методом спиновых меток показано образование в микросомальной фракции печени СР ИЗОДИЭИЛИИГ розамина; ионо- и 3-оксипиридины в этих условиях вызывают образование СР [2,14].

• Бензпирен (3,4-бензпирен или бенз(а)пирен) по химической структуре представляет собой полициклоароматический углеводород. Он является одним из наиболее сильных канцерогенов [11]. В организме человека и животных биотрансформируется по типу реакции гидроксирования с образованием оксидбензпирена, 3,6-бензопиренхжоннов и других активных метаболитов преимущественно в печени. Результаты экспериментальных исследований дают основание считать повреждающее действие результатом воздействия СР и продуктов СРПО липидов. По мнению С.Н. Голикова и соавторов [6], мембраноповреждающий эффект бензпирена, сопровождающий эмбриональное, гонадотоксическое, мутагенное и канцерогенное действие, наступает в значительной степени за счет активации СРПО липидов. АО аскорбат, цистевин, глутатион тормозят мутагенное действие бензпирена, аналогичными свойствами обладают фенольные АО [3].

СР участвуют в клинических проявлениях интоксикации тяжелыми металлами, агрессивных пылей и прочих соединений. Хроническая интоксикация соединениями фосфора - политропное поражение органов и систем. Н.Ж. Орманов [5] считает, что в механизме первичного действия фосфора ведущее место принадлежит образованию СР. При этом было установлено, что образуются активные радикалы кислорода (супероксиданионрадикал и синглетный кислород), а также гидроксильный радикал.

Соединения фосфора занимают третье место после озона и сернистого ангидрида как загрязнители биосферы [24]. Этому способствуют также технологии производства алюминия, фосфорных удобрений, эмали, фторопластов, фторорганических соединений, в т. ч. лекарственных препаратов. При биотрансформации фторидов наблюдается падение активности антиоксидантных ферментов (каталазы, пероксидазы, СОД и др.), падение уровня восстановленного глутатиона и аскорбата, а также накопление первичных и вторичных продуктов СРПО липидов [19,24].

Проксидантным действием обладают и многие соединения тяжелых металлов [14]. Внутривенное введение ацетата кадмия вызывает снижение активности СОД в печени на 54%, в почках - на 56%, концентрация перекисей в печени увеличивается на 28%, а малонового диальдегида (МДА) в печени и почках - на 27%. На основании этих экспериментов Л.Хусай и соавторы [23] утверждают, что механизм прооксидантного действия кадмия связан с блокадой СОД, что в конечном итоге приводит к увеличению перекисей и усилению СРПО липидов. Y. Shukla и соавторы [29] считают ведущим механизмом прооксидантного действия кадмия нарушение пула глутатиона и глутатионсвязанных ферментов.

Достаточно мощным прооксидантным действием обладают цианиды. Механизм их действия большинство

авторов связывают с блокадой тиоловых групп дыхательных ферментов. При ингаляторном введении крысам паров HCN в ткани печени и легких обнаружили падение активности глутатион-трансферазы, снижение уровня небелковых и белковых тиоловых групп, в ткани легкого наблюдали индукцию СРПО липидов [26]. Среди путей детоксикации цианидов центральное место занимает реакция вытеснения цианидов сульфитной группой из молекулы тиосульфата [6].

В последние годы появилось достаточно много публикаций по изучению прооксидантных эффектов минеральных пылей. Было установлено, что при фагоцитозе пылевых частиц наблюдается накопление липидов, повреждение мембран лизосом и повышение содержания продуктов СРПО липидов [21]. Специфику взаимодействия пыли с фагоцитами позволяет выявить хемиллюминесценция, обусловленная СР кислородом. СР кислорода не только оказывают прямое повреждающее действие на клеточные мембраны, но и облегчают деструкцию микроорганизмов лизосомальными ферментами. Различные минеральные волокна в разной степени инициируют аутоокисление. так, действие пыли хризотила и асбеста на организм опосредовано перекисями, а влияние кремнезема - супероксидным радикалом. Существенный интерес представляет сообщение N.Hodenberg и M.Klochars [22] о классификации минеральных волокон по способности индуцировать образование СР. Минеральные волокна располагаются в следующей последовательности: кварц > хризолит А > кроцидолит > хризолит В > амозит > антофилит. По мнению авторов, способность минеральных волокон индуцировать СР может лежать в основе патологии легких (фиброз, рак, воспаление).

Блокада антиоксидантных ферментов приводит к индукции СРПО липидов. В работе В.Ф. Почерняевой [17] показано, что введение диталдитиокарбамата вызывает снижение в крови активности СОД и каталазы на 34 и 12%, одновременно наблюдалось падение скорости метаболизма; на фоне снижения потребления кислорода компенсаторно повысился в тканях восстановленный глутатион на 56%. Аналогичное снижение активности СОД в миокарде при введение диэтилдитиокарбамата наблюдали А.И.Матюшин и соавторы [13].

Учитывая разнонаправленное действие диэтилдитиокарбамата на СРПО липидов по данным литературы, мы исследовали состояние СРПО липидов, антиоксидантную обеспеченность и активность антиоксидантных ферментов у крыс и кроликов при хроническом введении ингибитора. Часть животных на фоне диэтилдитиокарбамата получала антиоксидантный фермент церулоплазмин. Результаты проведенного исследования позволили сделать вывод, что длительное введение животным диэтилдитиокарбамата вызвало развитие синдрома перекисидации, сопровождающегося накоплением продуктов СРПО липидов, снижением антиоксидантной обеспеченности и резким угнетением активности антиоксидантных ферментов. Введение церулоплазмينا оказало нормализующее влияние на активность антиоксидантных ферментов и снизило уровень СРПО липидов; следует отметить и повышение

обеспеченности организма животных гидрофильными и гидрофобными АО [16].

Таким образом, собственные и литературные данные дают основание заключить, что многие химические вещества, используемые в промышленности и сельском хозяйстве, при попадании в организм вызывают индукцию СРПО липидов, токсические продукты которого могут оказывать повреждающее действие на макромолекулы клеток. Изложенное является основанием для применения препаратов антиоксидантного действия в качестве средств предотвращения повреждающего действия токсических продуктов СРПО липидов. В настоящее время накопилось достаточно материала экспериментальных и клинических исследований, свидетельствующего о протекторных эффектах АО при биотрансформации ксенобиотиков-прооксидантов. По мнению U. Meyer [25], АО способны не только предохранять от свободнорадикального повреждения, но и участвовать в положительной модуляции ферментов второй фазы биотрансформации ксенобиотиков.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Арчаков А.И. Микросомальное окисление. - М: Наука.- 1975. - 327 с.
2. Арчаков А.И., Карузина И.И. Окисление чужеродных соединений и проблемы токсикологии // Вести. АМН СССР. -1988. - №1. - С. 14-23.
3. Барабой В.А. Растительные фенолы и здоровье человека. - М.: Наука. -1984.-160 с.
4. Бобырев В.Н. Участие свободнорадикального окисления липидов в генезе побочных действий "Парле-Биоантиоксиданты и свободнорадикальный гитогия." - Полтава. -1987. - С. 51-55.
5. Бобырев В.Н. Биохимическая фармакология и молекулярные механизмы действия антиоксидантов в качестве средств лечения и профилактики свободнорадикальной патологии.: Автореферат, дис. докт. мед. наук. - М., 1991. - 43с.
6. Голиков С.Н., Саноцкий И.Б., Тиунов Л.А. Общие механизмы токсического действия. - М. Медицина, 1986. - 280с.
7. Гусяк Ю.І. Молекулярні аспекти хімічної екології вільнорадикальні механізми токсичної загибелі клітини // Проблеми екології та медицини - 1997. - Т.1, № 1-2. - С. 6-9.
8. Губский Ю.И., Левицкий Е.Л., Ленчевская Л.К., Вистунова Е.И. Влияние хлористого кадмия на ДНК-РНК-полимеразную активность и перекисное окисление липидов фракций хроматина печени крыс // Укр. биохим. журн. -1993. - Т. 65, № 5. - С. 112-115.
9. Жуков А.А., Жирное Г.Ф. Механизм оксигеназных реакций: основные, промежуточные и побочные продукты оксигеназного цикла // Вестник АМН СССР. - 1988. - №1. - С 33-43.
10. Захаренко В.А., Мельников Н.Н. Пестициды в современном мире // Агрехимия. - 1996. - №1. - С.100-108.
11. Лакин К.М., Крылов Ю.Ф. Биотрансформация лекарственных веществ. - М., 1981.-240С.
12. Малышева А.Г. Закономерности трансформации органических соединений в окружающей среде // Гигиена и сан. - 1997. - №3. - С. 5-10.
13. Матюшин А.И., Герасимов А.Н., Горяшина И.П. Действие диэтилдитиокарбамата на активность суперок-

- сиддисмутазы в сердце крыс. // Фармакол. и токсикол. -1983. - т.46, №4. - С 46-49.
14. Митрохин Н.М., Жигачева И.В., Чаморовская Л.Т. Активация перекисного окисления липидов в митохондриях печени и острая токсичность химических соединений // Гигиена и сан. -1991. - №1. - С. 49-51.
  15. Орманов Н.Ж. Peroxidация липидов и состояние антиперекисной системы у больных с хронической интоксикацией соединениями фосфора // Гиг. труда и проф. заболеваний. -1990. - №4. - С52-54.
  16. Островская Г.Ю., Бобырев В.Н. Влияние церулоплазмина на показатели свободнорадикального перекисного окисления липидов и активность антиоксидантных ферментов при хроническом поступлении диэтилдитиокарбамата // Вестник проблем биологии и медицины. -Полтава - Харьков, 1998. - №9. - С.82-86.
  17. Почерняева В.Ф. Экспериментальне обґрунтування застосування антиоксидантів як гонадопротекторів. Автореф. дис... докт. мед.наук. -Київ, 1997.-40 с.
  18. Тиунов Л.А. Биохимические основы токсического действия ядов // Основы общей и промышленной токсикологии. - Л., 1996. - С 184-198.
  19. Цебржинский О.И. Воздействие фторид-иона на антиоксидантный статус животных / (Dop. Проблемы экологии, биологии, медицины, гигиены. - Полтава, 1993. - С.99-101.
  20. Evidence of adverse effects of pesticides: Report of the British Society for Allergy and Environmental Medicine with the British Society for Nutritional Medicine / / J . Nutr. Med. -1995. - V.5, №4. - P. 341-352.
  21. Gulumain M., Kilroe-Smith T.A. Crocidolite - induced lipid peroxidation. II. Role of antioxidants // Environm. Res. - 1987. - V. 44, № 2. - P. 254-259.
  22. Hedenborg M., Klockars M. Production of reactive oxygen metabolites induced by asbestos fibres in human polymorphonuclear leucocytes // J. Clin. Pathol. - V. 40, №10. - P. 1189-1193.
  23. Hussain T., Shukia G.S., Chandra S.V. Effect of cadmium on superoxide dismutase and lipid peroxidation in liver and kidney of growing rats. In vivo and studies // Pharmacol. Toxicol. -1987. - V. 60, № 3 - P. 355-358.
  24. Jedrzejuk D., Milewicz A. Toksykologia flucytolu bromatol i chem. toksykol. - 1996. - V.29, №3. - I 211.
  25. Meyer U. A. Overview of eozymes of metabolism // J. Pharmacokinetics and Biopharm. - 1996. - V.24, №5. - P. 449-459.
  26. Misra A., Jupta J., Dutta K., Ray P. Modulation of sulphhydryl homeostasis following exposure to cadmium // J. Toxicol. clin. exp. -1988. - V. 8, № 1. - P. 3-10.
  27. Parke D.V., Sapota A. Chemical toxicity and reactive oxygen species // Int. J. Occup. Med. and Environmental Health. - 1996. - V. 9, №4. - P. 331-340.
  28. Poulos T. L. Cytochrome P450 // Curr. Opin. Biotechnol. - 1995. - V. 5, №6. - P. 767 - 774.
  29. Shukia J.S., Srivastava R.S., Chandra S.V. Glutathione metabolism in liver, kidney and testis of rats exposed to cadmium // Industr. Hyg. - 1987. - V 25, №3.-P. 13
  30. Tokahashi T., Sugimoto N., Tokahata K. et al. Carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in the rat: protective effect against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity by a ubiquinol-regeneration system coupled with cytosolic NADPH-dependent ubiquinol reductase // Biol. and Pharm. -1996. - V. 19, №8. - P. 1005-1012.
  31. Tomasi A., Albano E., Banni S., et al. Free radical metabolism of carbon tetrachloride in rat mitochondria. A study of the mechanism of activation // Biochem J. -1987. - V. 245, № 2. - P. 313-317.

## FREE RADICAL MECHANISM OF THE BIOTRANSFORMATION OF XENOBIOTIC-PROOXIDANTS

V.N.Bobyrev, G.Yu. Ostrovskaya, N.N.Riabushko

The data of the world and our country's literature are quoted in this review on formation of xenobiotic-prooxidants in active products of the free radical peroxide oxidation of lipids during the process of biotransformation that can give an injurious effect on the cell macromolecules. The original classification of the xenobiotic-prooxidants is presented in it. Prooxidant effects of carbon tetrachloride, isocyanide derivatives, carbamates, cyanides and other compounds are reviewed.

The given material is the substantiation of application of the antioxidant preparation for prevention of injurious effect of toxicant products of the autooxidation.

Ministry Public Health of Ukraine  
 Ukrainian Medical Stomatological Academy  
 314024, Shevchenko str. 23, Poltava, Ukraine

*Матеріал надійшов до редакції 2/Вт*