

MECHANISMUS VSTUPU XENOBIOTIK DO ORGANISMU A JEJICH DETOXIKACE

ZDENĚK KNEJZLÍK, JAN KÁŠ a TOMÁŠ RUML

Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6

Došlo dne 11.XI.1999

Klíčová slova: detoxikace, cytochrom P450, konjugace, eliminace xenobiotik

Obsah

1. Xenobiotika
2. Mechanismus vstupu xenobiotik do organismu
 - 2.1. Vstup látek do krevního řečiště
 - 2.2. Transport xenobiotik do cílových buněk
3. Biotransformace a eliminace xenobiotik
 - 3.1. I. fáze detoxikace xenobiotik
 - 3.1.1. Enzymové systémy I. fáze detoxikace xenobiotik
 - 3.1.1.1. Cytochrom P450
 - 3.1.1.2. Ostatní detoxikační enzymy
 - 3.2. II. fáze detoxikace xenobiotik
 - 3.2.1. Vznik glukosiduronátů
 - 3.2.2. Konjugace se sacharidy
 - 3.2.3. Sulfatační, acetylační a methylační reakce
 - 3.2.4. Peptidová konjugace
 - 3.2.5. Glutathionový systém detoxikace
4. Exkrece xenobiotik a jejich metabolitů z organismu
 - 4.1. Toxikokinetika
5. Závěr

1. Xenobiotika

Jako xenobiotika (*xenos* – cizí) se označují látky, které se v organismu normálně nevyskytují a nejsou nutné pro jeho zdravý vývoj a ani pro něj neslouží jako zdroj energie. V mikrobiologicky orientovaných publikacích, které pojednávají o degradaci xenobiotik, se většinou za xenobiotikum považuje látka, se kterou se veškeré organismy žijící na zemi v průběhu evoluce nesetkaly. Naopak polutanty jsou látky, které jsou v přírodě normálně přítomné, a to buď ve stopách nebo v bodových zdrojích ve vysokých koncentracích (ropa, těžké kovy). Činností člověka se z těchto zdrojů dostávají okolního prostředí a znečišťují ho.

Xenobiotika lze v současné době zařadit do většiny známých tříd látek. Způsob jejich použití a rozšíření lze použít jako vodítko pro jedno z mnoha dělení (tabulka I). Primárním zdrojem xenobiotik je téměř vždy chemický průmysl, zatímco jako sekundární zdroj xenobiotik se označují ty oblasti lidské činnosti, kde jsou tyto produkty chemického průmyslu používány.

Zařazení sloučeniny do těchto skupin látek nesouvisí pou-

ze s jejími toxikologickými vlastnostmi. Je nutné si uvědomit, že riziko poškození organismu je závislé kromě toxicity látky, i na její koncentraci a době působení.

Tabulka I
Některé sekundární zdroje xenobiotik

Sekundární zdroj xenobiotik	Příklad skupiny látek
Zemědělství	pesticidy, herbicidy
Lékařství	syntetické léky – chemoterapeutika, psychotropní látky
Potravinářství	potravinářská aditiva – ochucovačla, barviva,
Energetický průmysl	CO ₂ , SO ₂ , popílek
Doprava	NO _x , olovo, CO ₂
Spotřební průmysl	plasty, barviva, nátěrové hmoty

2. Mechanismus vstupu xenobiotik do organismu

Vstup xenobiotik do organismu probíhá v několika fázích¹. Většinou se látka nejprve dostává do krevního řečiště, kde může interagovat s plazmatickými proteiny, které mohou sloužit jako její transportéry (např. albumin). Po té dochází k jejímu vstupu do jednotlivých tělních buněk.

2.1. Vstup látek do krevního řečiště

Do krve se látky dostávají třemi hlavními způsoby: trávicím ústrojím (žaludek, střeva), respiračním systémem (plíce, průdušky, nosní sliznice) a pokožkou.

Bariéry mezi krví a tkáněmi jsou tvořeny epitelem, jejichž buňky obsahují značné množství lipidů a fosfolipidů. Například při resorpci ve střevě (enterální resorpce), musí látka překonat fosfolipidovou membránu jednovrstevného střevního epitelu². Podobná situace je i v řasinkovém epitelu dýchacích cest a kožního epitelu, jehož buněčné stěny obsahují značné množství fosfolipidů. Společným znakem těchto tkání je jejich velký povrch, z toho plyne jejich vysoká resorpční schopnost. Způsob, jakým toxická látka do organismu vstupuje, závisí na jejich fyzikálně-chemických vlastnostech a na zdroji, ve kterém se vyskytuje. Ve vztahu k člověku jsou důležité tyto zdroje xenobiotik: potrava, voda a vzduch. Z fyzikálně-chemických vlastností jsou pro možnost poškození organismu význačné: rozpustnost ve vodě a organických rozpouštědlech, těkavost (u kapalin), reaktivita (vypovídá o možné míře poškození). U značné reaktivních látek dochází k poškození sliznice a to vede ke zvýšení průchodu toxických látek do organismu. Z uvedené skutečnosti, že epitel obsahuje velmi vysoké množství lipidů, je patrné, že lipofilní látky budou mít značně usnadněn vstup do organismu. Některá

analog, tj. látky které se v organismu nevyskytují, ale mají značnou podobnost k jeho sloučeninám plnicí v něm fyziologické funkce, mohou do krve vstupovat pomocí kanálů (přenašečů) umístěných na povrchu jednotlivých buněk. Asi nejvíce se této schopnosti látek využívá ve farmacii, kde část molekuly léku je analogická fyziologicky aktivní látce. Je tedy žádoucí využít jejich schopnost resorpce ve střevě, které obsahuje přenašeče pro rozličné látky v celé jeho délce.

2.2. Transport xenobiotik do cílových buněk

Je-li již xenobiotikum obsaženo v krvi, dochází k druhé fázi transportu. Jedná se o distribuci toxické látky do orgánů, tkání a cílových buněk. Největší resorpční plocha a nejdéší doba zadržení krve (vysoký resorpční čas) je v krevních kapilárách, které vytvářejí bariéru mezi tkáněmi a krví. Jejím stěnu tvoří jedna vrstva spojených endotelových buněk, které jsou obklopeny bazální membránou. Tato bariéra je značně odlišná v různých částech těla, což se projevuje i mírou poškození jednotlivých orgánů škodlivými látkami. Kapilární síť srdečního svalu se vyznačuje přítomností endoteliálních buněk s tzv. transcytotickou aktivitou zabezpečující transport tekutin do intersticia. Při tomto transportu nejsou důležité fyzikálně-chemické vlastnosti látky. Látky se tedy do srdečního svalu dostávají bez jakékoli selekce endocytosou krve. Z tohoto důvodu patří srdce k nejnáchylnějším orgánům k působení xenobiotik. Nejběžnější uspořádání, které se vyskytuje například v pankreatu, je síť krevních kapilár, jejichž buněčné stěny jsou propustné pouze pro látky s nízkou molekulovou hmotností. Značnou překážku pro průchod látek představuje hemoencefalitická bariéra, která neobsahuje žádné póry. Při prostupu touto bariérou musí toxická látka projít endotelovou buňkou (tzn. projít luminální a bazální membránou). Naopak volná výměna látek probíhá mezi játry a krví, kde mají stěny krevních kapilár podobu sítě kterou mohou procházet i makromolekulární látky. Z tohoto důvodu jsou játra nejvíce zasažena při chronických otravách.

Transport látek do buněk může probíhat:

- volnou difuzí, to je významné u lipofilních látek. Rychlost tohoto transportu je závislá na koncentračním gradientu látky v intra- a extracelulárním prostředí a na jejím rozdělovacím koeficientu,
- zprostředkovanou difuzí, jak již bylo zmíněno výše u analog, kdy jsou látky transportovány pomocí přenašečů. Rychlost tohoto transportu je závislá na koncentračním gradientu látky a množství přirozené transportované látky, protože xenobiotikum s ní soutěží o přenašeč (kompetice),
- aktivním transportem, pro který je potřeba energie a to buď ve formě ATP (primární aktivní transport) nebo elektrochemického gradientu iontů, většinou vodíkových (sekundární aktivní transport),
- endocytosou, při které se látka dostává do buňky ve formě roztoku obaleného částí cytoplazmatické membrány. Jako příklad tohoto transportu jsme uvedli vstup látek do buněk srdečního svalu.

Prvá fáze, tj. transport xenobiotik do krve, je vynechána při distribuci xenobiotik do buněk epitelů (žaludek, plíce, kůže), které jsou vystaveny na povrchu organismu. Tyto tkáně jsou proto vystaveny přímému působení xenobiotik, což se projevuje zvýšenou četností jejich onemocnění.

3. Biotransformace a eliminace xenobiotik

V předchozí kapitole byl uveden způsob jak, se xenobiotika dostávají do organismu a cílových buněk v nichž dochází k interakci cizorodé látky s jednotlivými buněčnými komponentami (cytoplazmatická membrána, DNA, proteiny)³. Během evoluce se u jednotlivých organismů vyvinulo mnoho detoxikačních mechanismů. Tyto procesy probíhají ve všech živých systémech a jsou důležité pro zachování jedince, protože při velmi vysoké koncentraci nebo dlouhé době působení toxické látky dochází k irevizibilnímu poškození organismu a tím i k jeho zániku. Způsob detoxikace a exkrece cizorodých látek v živých systémech je závislý na jejich uspořádání a okolním prostředí. U eukaryotických organismů se rozlišují dvě hlavní fáze eliminace xenobiotik.

3.1. I. fáze detoxikace xenobiotik

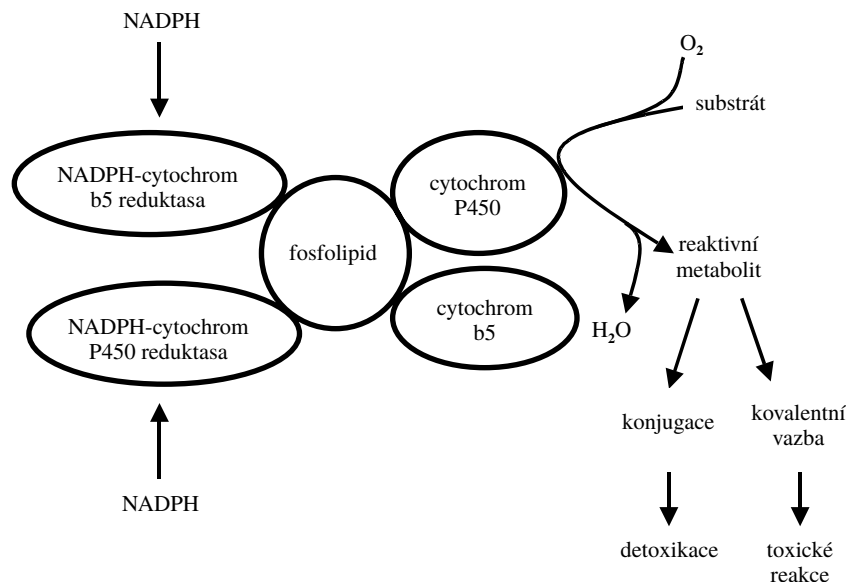
První fáze biotransformace xenobiotik zahrnuje tyto chemické pochody: oxidaci postranního řetězce, hydroxylaci aromatických, deaminaci, tvorbu epoxidů, sulfooxidaci, *N*-hydroxylaci, redukci a hydrolytické reakce. Tyto reakce tedy modifikují molekulu cizorodé látky tak, aby byla schopna konjugace s aminy, kyselinami a alkoholy (II. fáze detoxikace). Produkty těchto reakcí jsou látky mnohem lépe rozpustné ve vodě než původní xenobiotikum, takže nedochází k jejich akumulaci v tělních buňkách, ale jsou vyloučeny z těla ven.

3.1.1. Enzymové systémy I. fáze detoxikace xenobiotik

Většina endogenních látek v organismu je metabolisována enzymy s vysokou specifitou k substrátu. Avšak schopnost biotransformovat xenobiotika vyžaduje jistou „nespecifičnost“ k molekulární struktuře detoxikačních enzymů. Většina organismů takovými enzymy disponuje. V lidském organismu hrají podstatnou roli: cytochrom P450, mono- a dioxygenasy, peroxidasa, fosfatasa a jiné další hydrolasy.

3.1.1.1. Cytochrom P450

Substrátem pro cytochrom P450 (CYP450) jsou jak endogenní metabolity (steroidy, vyšší mastné kyseliny, prostaglandiny), tak i exogenní látky (léky, potravinová aditiva, průmyslové exhaláty), dostávající se do těla potravou, kůží a plícemi. Jedná se o hemoprotein, který má ve své molekule nekovalentně navázan protoporfyrin IX. Po navázání CO absorbuje v pásmu vlnových délek okolo 450 nm (cit.⁴). Přestože tento hemoprotein je přítomen téměř ve všech živých organismech⁵ byl objeven teprve před třiceti léty. Byl nalezen u rostlin^{6,7}, savců⁸, bakterií⁹ a plísň. U savců je obsažen ve všech typech tkání, kromě svalových buněk a kromě erythrocytů. Nejvíce je zastoupen v jaterní tkáni¹⁰, ve které probíhá největší část detoxikačních pochodů¹¹. Později bylo zjištěno, že jde o celou skupinu proteinů, které jsou evolučně velmi staré, z nichž některé skupiny vznikly genovou duplikací¹², takže některé izoenzymy vykazují vysoký stupeň homologie. Dnes je známo více než 150 izoforem¹³, které se vyskytují hlavně jako membránové proteiny v endoplazmatickém retikulu a peroxisomech. Z enzymologického hlediska můžeme CYP450 zařadit do skupiny NADPH-O₂ dependentních monooxygenas, katalyzujících hydroxylační reakce. Donorem elektronů



Obr. 1. Schematické zobrazení jednotlivých komponent komplexu cytochromu P450

pro monooxygenasový systém cytochromu P450 je NADPH, z něhož jsou elektrony přenášeny flavinovou cytochrom P450 reduktasou na terminální hemoprotein P450, který zároveň váže kyslík a zabudovává jej do molekuly substrátu⁹. Jednotlivé CYP450 se dělí do tříd a podtříd. Každá třída je indukována určitou skupinou látek¹⁴. Každá izoforma CYP450 má rozdílnou K_m pro jednotlivé substráty. Z hlediska detoxikace xenobiotik lze CYP450 rozdělit do čtyř základních tříd¹⁵, které jsou indukovány rozdílnými skupinami látek. Syntéza cytochromů P450 z první třídy je indukována polyaromatickými uhlovodíky skrze tzv. Ah receptor¹⁶. Fenobarbital a látky fenobarbitalového typu indukují tvorbu CYP450 druhé třídy, ale receptor pro tyto látky nebyl doposud nalezen. Glukokortikoid deoxamethason vyvolává zvýšenou tvorbu CYP450 třetí třídy, zatímco peroxisomové proliferátory (velmi různorodá skupina látek) indukují syntézu CYP450 čtvrté třídy¹⁷. Existují ještě další třídy CYP450 mající více členů¹⁸. Isoformy spadající do těchto tříd mají i důležité fyziologické funkce a jejich mutace může vést k velmi závažnému poškození organismu.

3.1.1.2. Ostatní detoxikační enzymy

Mezi další detoxikační enzymy, které katalyzují oxidačně-redukční reakce lze zařadit flavinové monooxygenasy, monoaminoxidasy, alkoholdehydrogenasu, aldehyddehydrogenasy, aldehydoxidasy a xanthinoxidasu¹⁹. Flavinové monooxygenasy²⁰ mohou přeměňovat stejný typ substrátu jako některé izoformy P450. V játrech a placentě se na biotransformaci podílí peroxidasa²¹, která je známa svou širokou paletou substrátů. Hydrolyzu látek, které obsahují esterovou nebo amidovou vazbu, katalyzuje karboxyl esterasa²². Je indukována lipofilními látkami²³, a její nejvyšší obsah je v jaterních buňkách.

3.2. II. fáze detoxikace xenobiotik

Úkolem druhé fáze biotransformace jsou konjugací reakce. Konjugací reakce byly objeveny jako první, protože metabolity toxických látek vzniklé těmito reakcemi jsou při-

tomné v krvi a séru. Můžeme je charakterizovat jako skupinu syntetických metabolických reakcí při kterých xenobiotikum reaguje s endogenní sloučeninou nebo funkční skupinou za vzniku konjugátu, který je obvykle rozpustnější ve vodě než původní látka takto nepozměněná. Sloučenina, která vstupuje do konjugací reakce musí mít ve své molekule skupinu, vhodnou pro reakci s konjugací činidlem za vzniku stabilního produktu. Tato skupina je buď v xenobiotiku obsažena nebo se vytvoří v první fázi biotransformace. Většina konjugací reakcí je katalyzována enzymy ze třídy transferas, které jsou dosti málo specifické vůči endogenní konjugací sloučenině.

3.2.1. Vznik glukosiduronátů

Konjugace s kyselinou glukuronovou patří mezi nejdůležitější konjugací reakce²⁴, protože v ní vystupuje nejvyšší počet xenobiotik, se kterými se vytváří konjugáty. Reakci katalyzuje UDP-glukonosyltransferasa (UDP-GT) a donorem glukuronátu je UDP-glukuronová kyselina. UDP-GT představuje skupinu izoenzymů, které jsou většinou součástí membrán endoplazmatického retikula. Podobně jako u CYP450 jsou jednotlivé izoformy UDP-GT indukovány jednotlivými skupinami látek²⁵. Nejvyšší aktivity UDP-GT byly zjištěny v játrech, v menší míře potom v plicích, kůži a tenkém střevě.

3.2.2. Konjugace se sacharidy

Nejčastější sacharid vystupující v konjugací reakcích je glukosa. Do reakce vstupuje ve formě UDP-glukosy za vzniku β -glukosidu. Přesná tkáňová lokalizace reakce není doposud známa. Některé dusíkaté látky jsou konjugovány s hydroxylovou skupinou ribosy za vzniku *N*-ribosidů.

3.2.3. Sulfatační, acetylační a methylační reakce

Při sulfátové konjugaci dochází k esterifikaci hydroxylovaných sloučenin kyselinou sírovou²⁶. Do reakce vstupují hlav-

Tabulka II
Klasifikace hlavních typů konjugačních reakcí

Typ reakce	Konjugační činidlo	Reaktivní skupina v xenobiotiku
<i>Reakce s aktivovaným konjugačním činidlem</i>		
Glukuronidace	UDP-glukuronová kys.	-OH, -COOH, -NH ₂ , -NR ₂ ,
Konjugace se sacharidy	UDP-glukosa UDP-xylosa UDP-ribosa	-OH, -COOH, -SH
Sulfatace	PAPS ^a	-OH, NH ₂ , -SH
Methylace	S-adenosylmethionin	-OH, -NH ₂
Acetylace	acetyl	-CoA -OH, -NH ₂
Detoxikace kyanidů	sulfátová síra	-CN
<i>Reakce s aktivovaným xenobiotikem</i>		
Konjugace s glutathionem	glutathion	arenoxidy, epoxidy, alkyl-
Konjugace s aminokyselinou	glycin taurin glutamová kys.	a arylhalogeny -COOH

^a Fosfoadenosylfosfosulfát

ně fenoly, alkoholy, katecholy a hydroxylaminy. Vstupují cí sulfát v aktivované formě 3-fosfoadenosin-5-fosfosulfátu. Z hepatocytů byly izolovány čtyři sulfotransferasy, které nejsou indukovány xenobiotiky. Tato reakce je částečnou alternativou ke glukuronizaci.

Acetylace představuje důležitou metabolickou cestu pro látky obsahující aminoskupinu. reakci katalyzuje *N*-acetyltransferasa²⁷, která se vyskytuje v cytoplazmě ve dvou různých formách, které podléhají odlišné regulaci.

Nejmenší význam pro biotransformaci xenobiotik má methylace. Rozlišujeme *N*- a *O*-methylaci. Methyltransferasy přenášejí methyl z *S*-adenosylmethioninu na vhodný substrát. Všechny methylační reakce probíhají v cytosolu hepatocytů a buňkách nervového vlákna.

3.2.4. Peptidová konjugace

Cyklické a aromatické kyseliny nejsou odbourávány procesem β -oxidace. Většina látek tohoto typu má však velmi nízkou disociační konstantu. Konjugační reakce s aminokyselinami vede ke zvýšení rozpustnosti těchto látek. Pro savce je nejčastější konjugace s glycinem za vzniku hippurových kyselin. Tyto reakce probíhají v matrix mitochondrií, kde jsou aromatické kyseliny aktivované pomocí Acyl-CoA-synthetas²⁸ na Acyl-CoA.

3.2.5. Glutathionový systém detoxikace

Hlavní sloučeninou vystupující v těchto reakcích je tripeptid γ -L-glutamyl-L-cysteinyl-glycin, který se vyskytuje ve dvou formách. V redukované formě jako thiol (GSH) a oxidovaná formě jako disulfid (GSSG). Je přítomný ve všech buňkách těla. Kromě důležitých přirozených fyziologických funkcí se též účastní detoxikace xenobiotik.

Konjugaci glutathionu s elektrofilními sloučeninami katalyzuje glutathion-*S*-transferasa²⁹ (GST), což má za následek

urychlení exkrece toxických látek ledvinami. GST byla nalezena v cytosolu a mikrosomech jaterních buněk. Největší význam má membránově vázaná GST, poněvadž se vyskytuje v blízkosti monoxygenasového systému CYP450, takže látky které prošly touto reakcí a jsou relativně hydrofobní a mají tendenci akumulovat se v membránách endoplazmatického retikula a mohou být přeměněny v monoxygenasovým systémem CYP450. Takto vzniklá štafeta, kde xenobiotikum může vstupovat do následných reakcí, umožňuje poměrně vysokou rychlost jeho detoxikace. GST katalyzuje dva druhy reakcí.

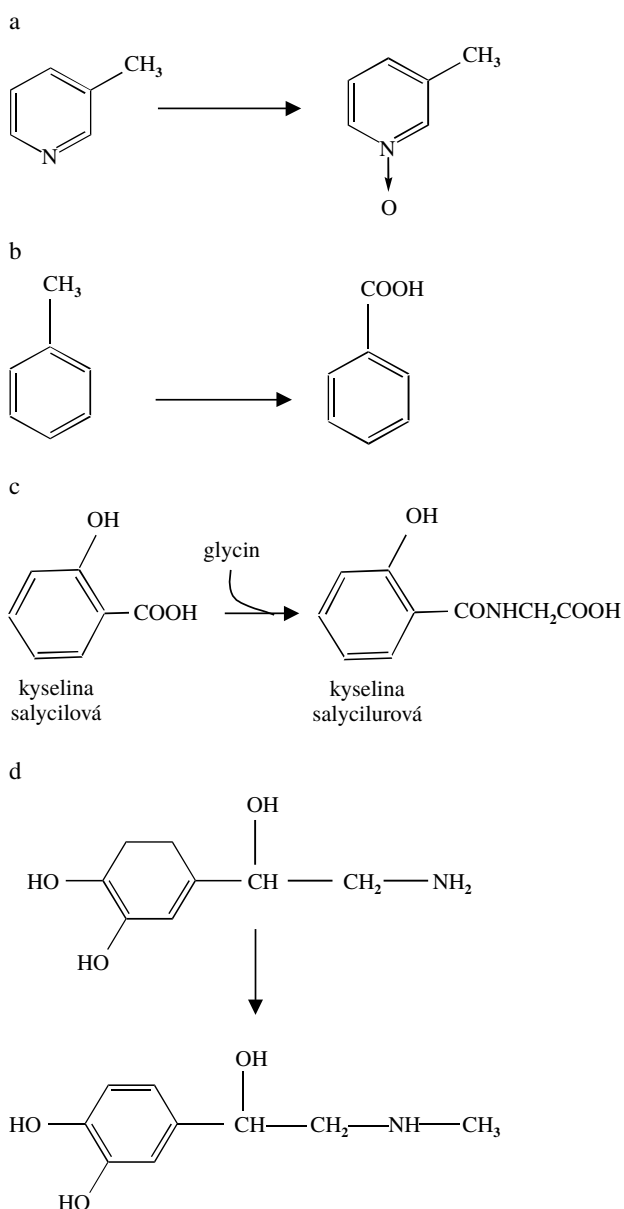


V reakcích prvního typu, do níž vstupují epoxidy, alkyl- a arylhalogenidy, vzniká stabilní konjugát. Ve druhém typu reakce vzniká nestabilní konjugát, který potom samovolně reaguje s další molekulou glutathionu. Toto je typická reakce pro organické hydroperoxydy.

4. Exkrece xenobiotik a jejich metabolitů z organismu

Přeměněné xenobiotikum se z buněk dostává do krve a následně se z organismu vylučuje ve stolici, moči, potu a vydechaném vzduchu. Některé látky, které byly biotransformovány v játrech se mohou dostat do žluči a následně do střeva. Část hydrofilních látek se nemůže ve střevě zpět resorbovat. Někdy ovšem může dojít vlivem bakteriální hydrolyzy konjugátu ke zpětné resorpci toxické látky a vytváří se tak enterohepatální oběh (obdoba u žlučových kyselin) při němž je metabolit udržován v organismu jako v pasti.

Poslední dobou jsou předmětem vysokého zájmu *P*-glykoproteiny, zodpovědné za tzv. multidrug resistance system³⁰.



Obr. 2. Některé typy detoxikačních reakcí – *N*-oxidace (a), oxidace alkylového zbytku CYP450 (b), vznik hippurových kyselin (c), *N*-methylace (d)

Bylo zjištěno, že plní úlohu ochrany živých organismů před vlivy toxických látek v jejich organismu. Jedná se o ATP – dependentní membránové přenašeče organických iontů³¹. Jsou schopné transportovat organické látky z buněčné cytoplazmy do extracelulárního prostředí³². Tak se buňky chrání před vznikem vysoké koncentrace xenobiotika v cytoplazmě. Jeho koncentrace v krvi stoupá a tím se zvyšuje jeho rychlost eliminace ledvinami. Jejich nejčastější výskyt je v endotelálních buňkách trávicího systému. Inaktivace genů kódujících tyto přenašeče vede ke snížení schopnosti bránit se vlivu toxických látek³⁰.

Za nejdůležitější exkrecní orgán jsou považovány ledvi-

ny³³. Při procesu glomerulární filtrace jsou xenobiotika vylučována v moči s ostatními endogenními metabolity. Při postupné filtraci primární moči se utváří značný koncentrační gradient mezi krví a močí, proto jsou-li látky hydrofilní, mohou se zpět resorbovat, a tím dochází k podobné situaci jako v případě enterohepatálního oběhu. Pro zpětnou resorpci látky v ledvinách má též význam pH moči, které značně určuje množství disociované látky a tím velikost eliminace. Pro plynné metabolity má též význam vydýchání plícemi.

4.1. Toxikokinetika

V předchozích kapitolách byl osvětlen vstup a eliminace xenobiotik v lidském organismu. Tento proces lze za jistých zjednodušujících podmínek popsat jednoduchými rovnicemi. Procesy, jako resorpce nebo eliminace xenobiotika, probíhají exponenciálně, což lze vysvětlit skutečností, že množství látky které projde za časovou jednotku membránou, závisí na koncentračním gradientu mezi dvěma prostory (Fickův zákon). Při renální eliminaci závisí na glomerulární filtraci, která určuje množství látky v primární moči. Jakmile začne klesat koncentrace toxické látky v krvi, bude se příslušně snižovat i její obsah v primární moči.

Exponenciální závislost znamená to, že časový průběh, který je nutný ke snížení koncentrace na polovinu, je konstantní a nezávisí tedy na počáteční koncentraci látky. Tento časový úsek se nazývá poločas ($t_{1/2}$) a je v těsném vztahu k rychlostní konstantě k , která vystupuje ve vztahu $t_{1/2} = \ln 2/k$. Tato vlastnost eliminačních a resorpčních procesů umožňuje v případě eliminace udávat plazmatický objem, který by se za časovou jednotku očistil od látky, kdyby se zbývající látka zase nerozdělovala v celém prostoru. Množství plazmy formálně zbavené toxické látky se označuje jako clearance³⁴. V závislosti na tom zda příčinou poklesu koncentrace látky v krvi je vylučování nebo chemická přeměna, se hovoří o renální nebo jaterní clearanci. Velmi častý je případ kdy se část toxické látky resorbované do krve částečně detoxikuje v játrech a zbylá část je vyloučena ledvinami bez chemické přeměny. Potom je nutné jednotlivé clearance sčítat a tak dostaneme celkovou clearanci (cl_{tot}), která znázorňuje výkonnost eliminačních procesů. Vztah mezi poločasem vyloučené látky a totální clearancí je vyjádřen rovnicí: $t_{1/2} = \ln 2 \cdot V_{ap}/cl_{tot}$ kde V_{ap} je zdánlivý distribuční objem, který je definován jako poměr mezi dávkou toxické látky a objemem plazmy³³.

Při jaterní eliminaci většinou klesá plazmatická hladina látky s časem exponenciálně, neboť metabolisující enzymy působí v rozsahu své aktivační křivky. Proto se s klesající koncentrací snižuje i množství metabolisované látky za časovou jednotku.

Je-li lidský organismus vystaven periodicky vlivu toxických látek, lze pozorovat jejich charakteristický fázovitý koncentrační průběh v plazmě. Hodnoty koncentrací látky v plazmě v různých časech lze popsat pomocí Batematovy funkce. Je nutné podotknout, že průběh této funkce je značně závislý na cestě xenobiotika do organismu.

Po delší době expozice může dojít k akumulaci látky, jejíž velikost lze zjistit z kombinací výše uvedených rovnic. Po jisté době se vytvoří rovnovážný akumulační stav při kterém je rozdíl mezi vstupem a výstupem toxické látky nulový, jedná se tedy o stacionární stav. Výška hladiny kumulační rovnováhy (c_{ss}) závisí na množství látky, která vstupuje do krve, a lze

ji určit z rovnice: $c_{ss} = D/(t \cdot cl)$. Rychlost, jíž je dosaženo kumulační rovnováhy, odpovídá rychlosti eliminace toxické látky. Na závěr je nutné ještě jednou upozornit, že takto odvozené vztahy vychází ze zjednodušujících předpokladů. Přesto se však i s tímto náhledem se lze dostat k poměrně přesným a reprodukovatelným výsledkům.

5. Závěr

V tomto přehledovém článku jsme v krátkosti čtenáři pootevřeli okénko jak se organismus vyrovnává s nežádoucími látkami z okolí. Tato vlastnost je pro organismus bytostně důležitou záležitostí. V současnosti na živý organismus pohlížíme jako na dynamický systém, pro nějž je charakteristická snaha o udržení stacionárního stavu. Vysoké odchylky od stacionárního stavu vedou k nevratnému poškození organismu a následně ke smrti. Takový stav může nastat po expozici organismu škodlivé látky, z tohoto pohledu je schopnost detoxikace jistě zajímavou vlastností, která má své postavení v evolučním procesu organismů. Detoxikační mechanismy mohou však být dvousečnou zbraní. Některá xenobiotika jsou transformována na látky, které jsou pro organismus toxické. Proto je například při onemocnění jater snaha inhibovat jejich cytochromoxidasový systém detoxikace léčiv.

Tato práce vznikla za finanční podpory grantu č. 94009 Československo-americké grantové agentury, grantu č. 96074 Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy a grantu č. 203/99/1447 GA ČR.

LITERATURA

- Lullmann H., Mohr K., Ziegler A.: *Atlas of Pharmacology*, str. 22. Thieme, Stuttgart 1993.
- Hunt S. M., Groff J. L.: *The Digestive System: Mechanism for Nourishing the Body*, str. 39. Wadsworth, New York 1990.
- Pumford N. R., Halmes N. C.: *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 37, 91 (1997)
- Russel D. W.: *J. Biol. Chem.* 246, 3870 (1971).
- Chapple C.: *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49, 311 (1998).
- Bolwell G. P., Bozak K., Zimmerlin A.: *Phytochemistry* 37, 1492 (1989).
- Schuler M. A.: *Crit. Rev. Plant Sci.* 15, 235 (1996).
- Gebthart R.: *Pharmacol. Ther.* 52, 275 (1994).
- Pulos T. L., Cupp J. V., Li H.: *Cytochrome P450: Structure, Mechanism and Biochemistry*, sv. 2. Case Bound, New York 1995.
- Jungerman K., Katz N.: *Physiol. Rev.* 69, 708 (1989).
- Oinonen T., Lindros K. O.: *Biochem. J.* 329, 17 (1998).
- Dogra S. C., Whitelaw M. L., May B. K.: *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 25, 1 (1998).
- Sagakuchy M., Mihara K., Sato R.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 81, 3361 (1984).
- Honkakoski P., Moore R., Washburn K. A., Negishi M.: *Mol. Pharmacol.* 53, 597 (1998).
- Masters C. J.: *Biochem. Pharm.* 56, 667 (1998).
- Schmidt J. V., Bradfield C. A.: *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 12, 89 (1996).
- van de Bosh H., Shutgens R. B. H., Wanders R. J. A.: *Annu. Rev. Biochem.* 61, 157 (1992).
- Stiborová M., Hudeček J., Hodek P., Frei E.: *Chem. Listy* 93, 229 (1999).
- Beedham C.: *Pharm. World Sci.* 19, 255 (1997).
- Chung W. G., Park C. S., Roh H. K., Cha Y. N.: *Mol. Cells* 7, 738 (1997).
- Barnea E. R., Sorkin M., Barnea J. D.: *Early Pregnancy* 1, 141 (1995).
- Satoh T., Hiosokava M.: *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 38, 257 (1998).
- Hosokava M., Maki T., Satoh T.: *Mol. Pharmacol.* 31, 579 (1987).
- Chat M., Suleman G., Roux F., Minn A.: *Life Sci.* 62, 151 (1998).
- Schrenk D.: *Biochem. Pharmacol.* 55, 1155 (1998).
- Beckmann J. D., Henry T., Lee P., Ulphany J.: *Chem. Biol. Interact.* 109, 372 (1998).
- Lyakhovich V. V., Vavilin V. A., Gutkina N. I., Laktonova I. P., Makarova S. I., Mitrofanov D. V., Ostashevsky V. A., Chasovnikova O. B.: *Vopr. Med. Khim.* 43, 330 (1997).
- Terriere L. C.: *Annu. Rev. Entomol.* 29, 71 (1984).
- Rea P. A., Li Z. S., Lu Y. P., Drozdowicz Y. M.: *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49, 727 (1998).
- Shinkel A. H.: *Semin. Cancer Biol.* 8, 161 (1997).
- Zhang L., Brett C. M., Biacommini K. M., *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 38, 431 (1998).
- Bain L. J., McLachlan J. B., LeBlanc G. A.: *Environ. Health Perspect.* 105, 812 (1997).
- Ito K., Iwatsubo T., Knamitsu S., Nakajima Y., Sugiyama Y.: *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 38, 461 (1998).
- Houston J. B.: *Biochem. Pharmacol.* 47, 1469 (1997).

Z. Knejzlík, J. Káš, and T. Ruml (*Department of Biochemistry and Microbiology, Institute of Chemical Technology, Prague*): **Mechanism of Xenobiotics Entry into the Organism and Their Detoxication**

This review is focused on mechanisms of entry, detoxication and excretion of toxic compounds in mammals. The entry into blood stream and subsequent transport into target cells is discussed. Biotransformation in cells generally proceeds in two major phases, enzymatic and chemical modifications of toxic compounds. The major enzyme system involved in the biotransformation of xenobiotics is the group of cytochromes P450. Formation of new functional groups, which is important for conjugation reactions, is catalyzed by the enzymes. The mechanisms of excretion of toxic compounds from the organism is discussed.