

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ

И.С. ПОЛЯКОВА
М.И. ЧУРНОСОВ
С.П. ПАХОМОВ
В.С. ОРЛОВА

*Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет*

e-mail: efimka_i@mail.ru

В статье описан процесс биотрансформации ксенобиотиков, состоящий из трех фаз. Дана подробная характеристика ферментов, участвующих в первой фазе биотрансформации ксенобиотиков (монооксигеназы семейства цитохромов P450), второй фазе (суперсемейство глутатион-S-трансфераз (GST), ариламин-N-ацетилтрансфераза-2), третьей фазе детоксикации (гликопротеин P1). Показаны молекулярные механизмы биотрансформации ксенобиотиков, приведены полиморфизмы основных ферментов, их ассоциации с мультифакториальными заболеваниями.

Ключевые слова: ферменты биотрансформации ксенобиотиков, цитохром P450, эпоксидгидролаза, глутатион-S-трансфераза, гликопротеин P1.

За последние десятилетия, в связи с развитием молекулярной биологии, биотехнологии и генной инженерии, достигнут значительный прогресс в исследовании механизмов управления экспрессией генов, задействованных в физиологических и патологических процессах человеческого организма. Изучение молекулярных механизмов развития мультифакториальных заболеваний является одной из самых динамично развивающихся областей молекулярной медицины. Немаловажную роль в развитии ряда мультифакториальных заболеваний занимают гены ферментов биотрансформации ксенобиотиков. Исследования последних лет показали, что восприимчивость организма к вредным воздействиям окружающей среды в значительной мере зависит от активности ферментов системы детоксикации ксенобиотиков. При наличии функционально ослабленных вариантов таких генов риск возникновения некоторых частых мультифакториальных заболеваний (эндометриоза, невынашивания беременности, гестоза, плацентарной недостаточности, бронхиальной астмы, язвенной болезни желудка и др.) увеличивается [1, 2].

Ферменты детоксикации определяют индивидуальные реакции организма на разнообразные токсические вещества, лекарственные препараты в зависимости от генетически детерминированных особенностей биотрансформации ксенобиотиков, взаимодействия их с рецепторами и ферментными системами [3]. Большинство ксенобиотиков, попав в организм, не оказывают прямого биологического эффекта и, подвергаясь биотрансформации, выделяются в виде метаболитов. Биотрансформация представляет собой процесс, в котором участвуют многие ферменты детоксикации и состоит из трех фаз (рис. 1): активации (I фаза), собственно детоксикации (II фаза) и выведения (III фаза). В ходе первой фазы окислительно-восстановительного или гидролитического превращения молекула токсического вещества обогащается полярными функциональными группами, что делает ее, с одной стороны, более растворимой в воде, с другой стороны, этот промежуточный метаболит становится более реакционно-способным и токсичным [4, 15]. К ферментам первой фазы биотрансформации ксенобиотиков относятся монооксигеназы семейства цитохромов P450 (CYP1-CYP3), алкогольдегидрогеназы, альдегиддегидрогеназы, пероксидазы, эпоксидгидролазы, эстеразы, амидазы, флавиносодержащие монооксигеназы. Превращение молекул на первой фазе биотрансформации усиливает их полярность, уменьшает способность растворяться в липидах. Благодаря этому ряд чужеродных соединений лучше выделяется с мочой [4, 6, 7]. Эффект усиливается, если к образовавшимся в ходе первой фазы метаболитам присоединяются такие эндогенные вещества, как ацетат, сульфат, глюкуроновая кислота, глутатион. Часто сам процесс метаболизма ксенобиотика является пусковым звеном в развитии токсического процесса. В большинстве случаев токсичный метаболит является нестабильным продуктом, подвергающимся дальнейшим превра-

щениям. Его называют промежуточным или реактивным метаболитом. Такие вещества часто вызывают повреждение биосистем на молекулярном уровне. Важной особенностью ферментов первой фазы детоксикации является ее избирательная локализация и высокая мощность на главных путях поступления ксенобиотиков в организм – в желудочно-кишечном тракте и легких, а также многообразии путей метаболизма [8]. На второй фазе детоксикации промежуточные продукты метаболизма конъюгируют с эндогенными молекулами, в результате чего образуются полярные соединения, которые выводятся из организма с помощью специальных механизмов экскреции. К ферментам второй фазы детоксикации относятся: ариламин ацетилтрансферазы, метилтрансферазы, сульфотрансферазы, УДФ-глюкуронозилтрансферазы, глутатион-S-трансферазы и многие другие. Химическая модификация липофильного ксенобиотика ферментами второй фазы детоксикации увеличивает его гидрофильные свойства, что способствует его быстрой экскреции через почки и печень. Энзимы второй фазы обладают слабой субстратной специфичностью и участвуют в превращениях большой группы химических веществ. На третьей фазе биотрансформации системы активного транспорта конъюгированных дериватов обеспечивают выведение из организма продуктов детоксикации через легкие, почки и желудочно-кишечный тракт [5, 8]. Механизм выведения ксенобиотиков обеспечивается семейством трансмембранных Р-гликопротеинов.

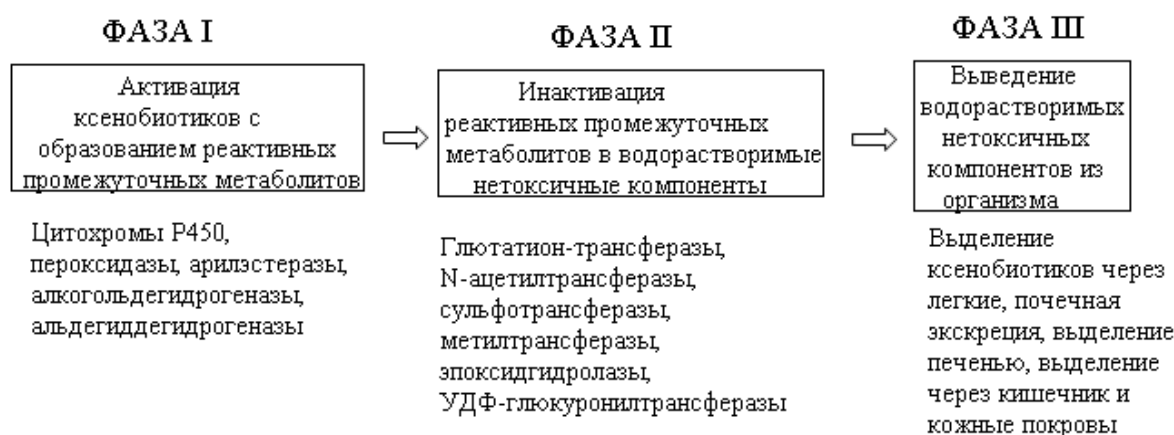


Рис. 1. Основные фазы биотрансформации ксенобиотиков [3]

Способность органов и тканей метаболизировать ксенобиотики зависит от набора и активности ферментов, участвующих в процессе. В значительной степени активность энзимов является внутренней характеристикой конкретной ткани, определяется генетической изменчивостью структуры их генов, а также зависит от пола и возраста [9]. Гены ферментов биотрансформации ксенобиотиков, как и все гены человека, характеризуются значительным полиморфизмом первичной нуклеотидной последовательности ДНК, который определяет межиндивидуальные фенотипические различия в активности энзимов по обезвреживанию химических соединений. Ферменты детоксикации обладают рядом общих свойств. Во-первых, все ферменты детоксикации имеют низкую субстратную специфичность, что позволяет им метаболизировать самые разнообразные по структуре химические соединения, включая такие, с которыми организм никогда не встречался. Во-вторых, ферменты детоксикации обладают выраженным полиморфизмом, то есть существует множество изоформ ферментов с различающейся и перекрывающейся субстратной специфичностью. Вероятно наличие изоформ ферментов детоксикации связано с адаптацией человека к особенностям диеты, климатическим, экологическим факторам жизни [10]. В-третьих, все ферменты детоксикации являются индуцибельными, т.е. их концентрация в клетках может быть резко увеличена в сотни раз при действии специфических индукторов, которые зачастую являются и субстратами. В-четвертых, одновременное поступление в организм нескольких химических веществ различной структуры может приводить к нарушению регуляции процессов индукции ферментов обеих фаз, в результате чего может быть как рез-

кое усиление процессов инактивации, так и, напротив, резкое повышение токсичности ксенобиотиков. В-пятых, наиболее эффективно система детоксикации функционирует при сопряженном взаимодействии ферментов первой и второй фаз, обезвреживая десятки тысяч ксенобиотиков всех химических классов и групп (экоотоксиканты, пестициды, промышленные и сельскохозяйственные яды, пищевые добавки, консерванты, красители, растворители, лекарственные препараты) [11]. Десинхронизация этих процессов вследствие одновременного действия разных ксенобиотиков или в результате неблагоприятного сочетания изоферментов с измененной активностью вследствие генетической изменчивости ведет к быстрой интоксикации организма в результате накопления реактивных высокотоксичных метаболитов. Особенно неблагоприятно сочетание высокой активности ферментов первой фазы и низкой активности ферментов второй фазы. Важно отметить, что функция большинства ферментов системы детоксикации первоначально заключалась в регуляции метаболизма эндогенных субстратов, однако, ввиду широкой субстратной специфичности этих ферментов и роста загрязнения окружающей среды, она постепенно трансформировалась в систему обезвреживания токсических веществ [8, 12]. Таким образом, именно генетически детерминированные особенности функционирования системы биотрансформации ксенобиотиков делают уникальным каждого индивида в отношении его адаптационных способностей – устойчивости или чувствительности к повреждающим факторам среды химической природы.

Важную роль в первой фазе детоксикации играют цитохромы P450 1A1, P450 1A2, P450 1B1. Цитохром P450 1A1 участвует в монооксигеназной активации полициклических ароматических углеводородов и ароматических гетероциклических аминов с образованием реактивных токсических метаболитов – эпоксидов, фенолов, гидроксировании микотоксинов, флованоидов, кофеина, теофиллина. В литературе имеются данные об ассоциациях данного фермента с раком легких, раком полости рта, раком молочной железы, почечно-клеточной карциномой, острым лейкозом, В-клеточным хроническим лимфолейкозом [6, 13, 14].

Цитохром P450 1A2 участвует в метаболической активации посредством N-гидроксилирования преимущественно ароматических аминов, а также гетероциклических аминов. CYP1A2 также активизирует полициклические ароматические углеводороды, нитрозамины и афлотоксин B1, тем самым продуцируя различные классы метаболитов, обладающих цитотоксическими канцерогенными свойствами. CYP1A1 кодирует фермент арилуглеводородкарбоксилазу, который участвует в метаболизме эстрогенов, осуществляя активацию эстрадиола. Метаболизирует никотин, фенацетин, кофеин, теофиллин, пропранолол, гидроксигирует микотоксины, флованоиды. Выявлены ассоциации этого фермента с онкологическими заболеваниями, эндометриозом, установлено, что он повышает риск возникновения инфаркта миокарда с каждой лишней выпитой чашкой кофе [6].

Цитохром P450 1B1 участвует в метаболизме холестерина, стероидов и липидов. Имеются данные об ассоциациях этого фермента с онкозаболеваниями, гормональными нарушениями, развитием глаукомы [13, 14].

mEPHX1 – митохондриальная эпоксидгидролаза – относится к семейству эпоксидгидролаз, которые контролируют промежуточный этап детоксикации, присоединяя воду к эпоксидам, превращая их в трансгидродиолы и далее в конъюгаты с глюкуроновой кислотой и глутатионом.

Различный уровень ферментативной активности митохондриальной эпоксидгидролазы обусловлен однонуклеотидными заменами в 3 и 4 экзоне гена EPHX1: мутация T337C (Tyr113His) – «медленный» аллель S, мутация A415G (His139Arg) – «быстрый» аллель F. Имеются данные, что эти два полиморфные варианты не влияют на экспрессию и трансляцию гена EPHX1, но могут изменять посттрансляционную стабильность белка. Показано, что «медленный» аллель гена EPHX1 приводит к синтезу фермента со сниженной способностью к гидроксированию ксенобиотиков. Данные полиморфные варианты четко коррелируют с уровнем ферментативной активности EPHX1 [15].

Выявлена положительная корреляция «медленного» аллеля гена ERH1 с заболеваниями органов дыхания. В сочетании с курением у таких индивидов чаще, чем в среднем в популяции, развиваются респираторные заболевания, а также эмфизема легких и обструктивная пневмония. Отмечена ассоциация некоторых полиморфных вариантов гена эпоксидгидролазы с различными нарушениями репродуктивной системы (преэклампсия, спонтанные аборт) и онкологическими заболеваниями (рак легких, яичников) [6].

Группа генов детоксикации второй фазы представлена суперсемейством глутатион-S-трансфераз (GST). GST катализируют взаимодействие глутамата с электрофильными атомами N, C, S, O и отвечают за конъюгацию сульфидгидрильной группы с молекулами ксенобиотиков. Полиморфизм глутатион-S-трансфераз определяет индивидуальную чувствительность организма к воздействию факторов внешней среды. Глутатион относится к водорастворимым антиоксидантам, присутствует в высоких концентрациях в каждой клетке, а также в сыворотке крови. Известно, что глутатион-опосредованная детоксикация играет ключевую роль в обеспечении устойчивости клеток к перекисному окислению липидов, к свободным радикалам, алкилированию белков. Ферменты GST широко представлены во всех органах и тканях. GST могут подвергаться амплификации в опухолевых тканях и таким образом обеспечивать резистентность к химиотерапии.

Во второй фазе детоксикации важное биологическое значение имеют генные семейства глутатион-S-трансфераз T1, M1, P.

GSTM1 и GSTT1 – генные семейства глутатион-трансфераз μ -класса (GSTM) и θ -класса (GST T1), особенностью которых является наличие «нулевых» генотипов – генотипов с двумя аллелями, имеющими протяженные делеции, при которых не образуются полноценные ферменты. Известно, что «функционально неполноценные» варианты генов детоксикации, особенно «нулевые» варианты глутатион-S-трансфераз, приводящие к отсутствию соответствующих белковых продуктов, обнаруживают наиболее выраженную ассоциацию с эндометриозом [16, 17].

Важная роль в эмбриональном развитии принадлежит ферменту второй фазы детоксикации плацентарной глутатион-S-трансферазе – продукту гена GSTP1. Полиморфизм гена GSTP1 обусловлен заменой нуклеотидов в положениях 313 и 341, что приводит к появлению трех функционально различных форм фермента GSTP1*a, *b, *c. Обе мутантные формы (*b и *c) функционально менее активны, особенно у гомозигот по соответствующим аллелям. Имеются данные об ассоциации данного гена с гестозом [6].

NAT2 – ген, продукт которого ариламин-N-ацетилтрансфераза-2 играет важную роль в ацетилировании ароматических и гетероциклических аминов. Аллельные варианты NAT2 гена связаны с точковыми мутациями, большинство из которых нарушает каталитические функции и стабильность фермента. Существуют не меньше 13 аллельных вариантов гена NAT2 [18].

К ферментам третьей фазы детоксикации относится гликопротеин P1, функцией которого является АТФ-зависимое выведение ксенобиотиков. Субстратами этого фермента являются сердечные гликозиды, блокаторы медленных кальциевых каналов, статины, макролиды, цитостатики, противовирусные препараты. Установлены ассоциации гликопротеина P1 с эффективностью и безопасностью лекарственной терапии.

Таким образом, проведенный анализ современной литературы позволяет заключить, что в настоящее время все больше возрастает интерес исследователей к изучению влияний химического загрязнения окружающей среды, уровень которого непрерывно возрастает в экономически развитых странах мира, на формирование распространенных заболеваний [8, 10, 19]. Для экологической генетики все больше приобретает актуальность идентификация в различных популяциях специфических генов и средовых факторов, взаимодействие которых формирует норму реакции устойчивости человека и его адаптацию к изменяющейся среде обитания [20, 21]. В этой связи наиболее подходящими генетическими маркерами для исследований являются поли-

морфные варианты генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков, экспрессия которых, в отличие от других классов генов, непосредственно регулируется влияниями средовых факторов химической природы [7, 22, 23]. Тем не менее, несмотря на повсеместно нарастающее загрязнение окружающей среды, высокий уровень химизации промышленности, сельского хозяйства и быта, изучение экогенетических механизмов мультифакториальной патологии по-прежнему остается недостаточным.

Работа выполнена в рамках Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 гг (государственный контракт №16.740.11.0609).

Список литературы

1. Thornton-Wells, T.A. Genetics, statistics, and human disease: Analytical retooling for complexity / T.A. Thornton-Wells, J.H. Moore., J.L. Haines // *Trends Genet.* - 2004. - Vol.20. - P.640-647.
2. Rosendaal, F.R. Forum on genetic studies in complex disease / F.R. Rosendaal, P.H. Reitsma // *J. Thromb. Haemost.* - 2004. - Vol.2. - P.342.
3. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины / Под ред. В.С. Баранова. – СПб. - 2009. – 528 с.
4. Кулинский, В.И. Обезвреживание ксенобиотиков / В.И. Кулинский // *Соросовский образовательный журнал.* 1999. - №1. - С.8-12.
5. Куценко, С.А. Основы токсикологии. – СПб. - 2002. - 720 с.
6. Ding, X. Human extrahepatic cytochromes P450: Function in xenobiotic metabolism and tissue-selective chemical toxicity in the respiratory and gastrointestinal tracts X. Ding, L.S. Kaminsky // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* - 2003. - Vol.43. - P. 149-173.
7. Симон, В.А. Цитохром P450 и взаимодействие лекарственных веществ / В.А. Симон // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* - 2002 - №6. - С.25-30.
8. Саприн, А.Н. Ферменты метаболизма и детоксикации ксенобиотиков / А.Н. Саприн // *Успехи биологической химии.* – 1991. – Т.32. – С. 146-172.
9. Райе, Р.Х, Гуляева Л.Ф. Биологические эффекты токсических соединений: курс лекций / Новосибирск: Изд-во Новосиб. гос. ун-та. - 2003. - 208 с.
10. Carlson, C.S., Eberle M.A., Kruglyak L., Nickerson D.A. Mapping complex disease loci in whole-genome association studies / C.S. Carlson, M.A. Eberle, L. Kruglyak, D.A. Nickerson // *Nature.* - 2004. - Vol.249. - P.446-452.
11. Худoley, В.В. Канцерогены: характеристики, закономерности, механизмы действия. СПб: НИИХимииСПбГУ. - 1999. – 419 с.
12. Bahring, S. The study of gene polymorphisms. How complex is complex genetic disease? / S. Bahring, A. Aydin, F.C. Luft // *Methods. Mol. Med.* - 2003. - Vol.86. - P.221-235.
13. Tsuchiya, Y. Human CYP1B1 is regulated by estradiol via estrogen receptor / Y. Tsuchiya, M. Nakajima, S. Kyo et al. // *Cancer Res.* - 2004. - Vol.64. - P.3119-3125.
14. Chang, T.K.H. Real-time polymerase chain reaction analysis of CYP1B1 gene expression in human liver / T.K.H. Chang, J. Chen, V. Pillay et al. // *Toxicol. Sci.* - 2003. - Vol.71. - P.11-19.
15. Beata, D.P. Polymorphisms in human soluble epoxide hydrolase / D.P. Beata, P.K. Srivastava, J. Vazquez-Matms et al. // *Mol. Pharmacol.* - 2003. Vol.64. - P.482-490.
16. Hayes, J.D. Glutathione transferases / J.D. Hayes, J.U. Flanagan, I.R. Jowsey // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* - 2005. - Vol.45. - P.51-88.
17. Gilliland, F.D. Effect of glutathione S-transferase M1 and P1 genotypes on xenobiotic enhancement of allergic responses: randomized, placebo-controlled crossover study / F.D. Gilliland, Y. F. Li., A. Saxon, D. Diaz-Sanchez // *Lancet.* - 2004. - Vol.363. - P.119-125.
18. Polonikov, A.V. The ecological toxicogenetic concept of multifactorial diseases: from understanding the etiology to clinical application / A.V. Polonikov, V.P. Ivanov, M.A. Solodilova // *Medical Genetics.* - 2008 Vol.7 (11) - P.3-20.
19. Polonikov, A.V. Genetic variation of genes for xenobiotic-metabolizing enzymes and risk of bronchial asthma: The importance of gene-gene and gene-environment interactions for disease susceptibility / A.V. Polonikov, V.P. Ivanov, M.A. Solodilova // *Journal of Human Genetics* - 2009 - 54 (8). - P.440-449.
20. Ahsan, H. Measures of genotype versus gene products: promise and pitfalls in cancer prevention / H. Ahsan, A.G. Rundle // *Carcinogenesis.* - 2003. - Vol. 24, №9. - P. 1429-1434.
21. Полоников, А. В. Эколого-токсикогенетическая концепция мультифакториальных заболеваний: от понимания этиологии до клинического применения / А.В. Полоников, В.П. Иванов, М.А. Солодилова // *Медицинская генетика : ежемесячный научно-практический журнал.* – 2008. – Том 7, № 11. – С. 3-20.

303 с.

22. Середенин, С.Б. Лекции по фармакогенетике. М.: Мед. информ. Агенство, 2004. –

23. Клинические лекции по акушерству и гинекологии / под ред. А. Н. Стрижакова, А. И. Давыдова, Л. Д. Белоцерковцевой. – М. : Медицина - 2004. - 624 с.

MOLECULAR AND GENETIC MECHANISMS OF XENOBIOTIC BIOTRANSFORMATION

I.S. POLJAKOVA M.I. CHURNOSOV S.P. PACHOMOV V.S. ORLOVA

*Belgorod National
Research University*

e-mail: efimka_i@mail.ru

The article describes the process of biotransformation of xenobiotics, which consists of three phases. The in-depth characterization of enzymes involved in xenobiotic biotransformation, the first phase (monooxygenase family of cytochrome P450), the second phase (the superfamily of glutathione-S-transferase (GST), arylamino-N-acetyltransferase-2), the third phase of detoxification (glycoproteins P1). Showing the molecular mechanisms of biotransformation of xenobiotics, are key enzymes polymorphisms and their associations with multifactorial diseases.

Key words: enzymes biotransformtsii xenobiotics, cytochrome P450, epoksidgidrolaza, glutathione-S-transferase, glycoprotein P1.