

Gyógyszermetabolizmus és gyógyszertoxicitás

Perjési Pál



**„Megújuló gyógyszerészi kompetenciák
gyakorlatorientált elsajátítását szolgáló digitális tananyagok fejlesztése
magyar és angol nyelven,
az egyetemi oktatók felkészítése a 21. század oktatási kihívásaira”
Azonosítószám: TÁMOP-4.1.2.A/1-11/1-2011-0016**

Pécsi Tudományegyetem – Pécs, 2014

© Perjési Pál, 2014

A projekt az Európai Unió támogatásával
az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg

Kézirat lezárva: 2014. március 31.



A kiadásért felel: Pécsi Tudományegyetem

Felelős szerkesztő: Dr. Perjési Pál

Egyéb fejlesztők: Erdősné Moravecz Zsuzsanna

Műszaki szerkesztő: Bencze Zsolt és Erdősné Moravecz Zsuzsanna

Lektorálta: Dr. Halmos Gábor

ISBN 978-963-642-622-4

Terjedelem: 144 oldal

Tartalom

ÁBRAJEGYZÉK	7
ELŐSZÓ	11
I BEVEZETÉS	12
I.1 A TOXIKOLÓGIA TÁRGYA.....	12
I.2 KÉRDÉSEK, FELADATOK.....	16
II A TESTIDEGEN ANYAGOK BEJUTÁSA A SZERVEZETBEN	17
II.1 A TESTIDEGEN ANYAGOK SORSA A SZERVEZETBEN.....	17
II.2 A TESTIDEGEN ANYAGOK MEMBRÁNOKON TÖRTÉNŐ ÁTJUTÁSÁNAK ÚTJAI.....	18
II.2.1 Az egyszerű diffúzió.....	20
II.2.2 Belégzéssel történő felszívódás.....	22
II.2.3 Felszívódás a gyomor-bél rendszerből. A pH szerepe.....	22
II.2.4 Felszívódás a bőrön keresztül. A lipofilitás szerepe.....	28
II.3 KÉRDÉSEK, FELADATOK.....	32
III METABOLIKUS ÁTALAKULÁSOK	33
III.1 FÁZIS I – VAGY FUNKCIONALIZÁCIÓS REAKCIÓK.....	35
III.1.1 Oxidációs reakciók.....	37
III.2 FÁZIS II – VAGY KONJUGÁCIÓS REAKCIÓK.....	51
III.2.1 Konjugáció glükuronsavval.....	52
III.2.2 Konjugáció szulfáttal.....	56
III.2.3 Konjugáció aminosavakkal.....	59
III.2.4 Konjugáció glutationnal.....	60
III.2.5 Acetilezés.....	63
III.2.6 Metilezés.....	65
III.3 A METABOLIZÁLÓ ENZIMEK AKTIVITÁSÁT BEFOLYÁSOLÓ TÉNYEZŐK.....	66
III.4 A TOXICITÁS MOLEKULÁRIS MECHANIZMUSAI.....	70
III.5 KÉRDÉSEK, FELADATOK.....	78
IV A PARACETAMOL TOXICITÁS	81
IV.1 A PARACETAMOL BIOTRANSZFORMÁCIÓJA ÉS TOXIKUS HATÁSAI KIALAKULÁSÁNAK MECHANIZMUSAI.....	81
IV.2 A PARACETAMOL TOXICITÁST BEFOLYÁSOLÓ TÉNYEZŐK.....	83
IV.3 KÉRDÉSEK, FELADATOK.....	85
V A TROGLITAZON TOXICITÁS	86
V.1 A „GLITAZONOK” ALKALMAZÁSA A DIABETES TERÁPIÁBAN.....	86
V.2 A HEPATOTOXICITÁS MECHANIZMUSAI.....	87
V.3 A TROGLITAZON BIOTRANSZFORMÁCIÓJA.....	88

V.4	A TROGLITAZON HEPATOTOXICITÁS	92
V.5	KÉRDÉSEK, FELADATOK.	93
VI	A NEM-SZTEROID GYULLADÁSCSÖKKENTŐ SZEREK TOXICITÁSA. A DIKLOFENÁK HEPATOTOXICITÁS.....	95
VI.1	A NEM-SZTEROID GYULLADÁSCSÖKKENTŐ SZEREK CSOPORTOSÍTÁSA ÉS A CIKLOOXIGENÁZ GÁTLÁSÁVAL ÖSSZEFÜGGŐ MELLÉKHATÁSAIK.....	97
VI.2	A NEM-SZTEROID GYULLADÁSCSÖKKENTŐ SZEREK CIKLOOXIGENÁZ-INDEPENDENS TOXICITÁSA. A DIKLOFENÁK HEPATOTOXICITÁS.....	99
VI.3	KÉRDÉSEK, FELADATOK.	105
VII	A SZULFONAMID HIPERSZENZITIVITÁS	106
VII.1	KÉRDÉSEK, FELADATOK.	114
VIII	KÉMIAI KARCINOGENEZIS	115
VIII.1	DEFINÍCIÓK	115
VIII.2	A SEJTOSZTÓDÁS	115
VIII.3	KÖRNYEZETI KARCINOGÉNEK	118
	VIII.3.1 Kémiai anyagok	120
	VIII.3.2 Sugárzó energia	121
	VIII.3.3 Biológiai karcinogének	124
VIII.4	A KÉMIAI KARCINOGENEZIS	125
VIII.5	A KÉMIAI KARCINOGÉNEK KÜLÖNBÖZŐ CSOPORTJAIBA TARTOZÓ TESTIDEGEN ANYAGOK SZERKEZETE ÉS METABOLIKUS AKTIVÁLÁSA.....	131
	VIII.5.1 Policiklusos aromás szénhidrogének.....	131
	VIII.5.2 Aromás aminok	133
	VIII.5.3 Nitrózaminok.....	135
	VIII.5.4 Aflatoxinok	136
	VIII.5.5 Szerkezetükben egymással együtt nem csoportosítható vegyületek, közöttük:	137
	VIII.5.6 Azbeszt, kvarc, talkum.....	141
VIII.6	KÉRDÉSEK, FELADATOK.	142
	FELHASZNÁLT IRODALOM	144

Ábrajegyzék

II-1. ábra: Különböző utakon a szervezetbe jutott anyagok sorsa a szervezetben.....	18
II-2. ábra: A sejtmembrán mozaikmodellje	19
II-3. ábra: Testidegen anyagok egyszerű diffúziójának mechanizmusai	20
II-4. ábra: Testidegen anyagok membrán-permeációja.	21
II-5. ábra: A vékonybél-nyálkahártya struktúrája.....	23
II-6. ábra: A diklofenák protonált (semleges) és ionizált formáinak megoszlása a pH függvényében	25
II-7. ábra: A kémhatás (pH) hatása az acetilszalicilsav és a paracetamol ionizációjára	25
II-8. ábra: Az atropínium-kation ionizációjának pH-függése.....	26
II-9. ábra: A diazepámium és az atropínium kationok ionizációjának pH-függése.....	27
II-10. ábra: A bőr vázlatos felépítése.....	28
II-11. ábra: Az ionizált és a nem-ionizált formák megoszlása hidrofil (víz) és lipofil (oktanol) fázisok között.....	30
III-1. ábra: A benzoésav hippursavvá történő átalakulásának reakciója	33
III-2. ábra: A xenobiotikumok átalakulásának két lehetséges útja (<i>R. T. Williams</i>).....	33
III-3. ábra: A májhomogenizátum szétválasztása sejtalkotókra centrifugálással	34
III-4. ábra: A fahéjsav hippursavvá történő átalakulásának reakciója.....	35
III-5. ábra: A kinasav benzoésavvá történő redukciójának reakciója	35
III-6. ábra: A Prontosil <i>p</i> -aminobenzolszulfonamiddá történő redukciójának reakciója.....	36
III-7. ábra: A CYP450 enzimek egyszerűsített szerkezete	37
III-8. ábra: Humán CYP450 izoformák százalékos megoszlása a májban.	38
III-9. ábra: A CYP450 katalitikus ciklusa. Fe = az enzim aktív helyének hem- vasatomja. R-H = szubsztrát. ROH = oxigenált szubsztrát. XOOH = peroxi-vegyület.	40
III-10. ábra: Aromás szénatomon történő hidroxiláció.....	40
III-11. ábra: Alifás szénatomon történő hidroxiláció.....	41
III-12. ábra: Benzil-szénatom oxidációja.....	41
III-13. ábra: Allil szénatom oxidációja	42
III-14. ábra: Szén-szén kettős kötésen történő epoxidáció.	42
III-15. ábra: O-Dealkiláció	42
III-16. ábra: N-Dealkiláció	43
III-17. ábra: Oxidatív deamináció.....	43
III-18. ábra: Dehidrogénezés	44
III-19. ábra: A flavin monooxygenáz enzimek katalitikus ciklusa.....	44
III-20. ábra: Alifás primer aminok oxidációja hidroxilamin-származékká	45
III-21. ábra: Szekunder aminok oxidációja hidroxilaminokká, illetve nitronokká.....	45
III-22. ábra: Tercier aminok oxidációja N-oxid-származékokká.....	46
III-23. ábra: N-alkil-arilaminok oxidációja hidroxilaminokká	46
III-24. ábra: 1,1-Diszubsztituált hidrazinok oxidációja N-oxid származékokká	46
III-25. ábra: Kénvegyületek oxidációja	46
III-26. ábra: Testidegen anyagok kooxidációja PHS részvételével (CD 163. o).....	47
III-27. ábra: A benzo[a]pirén metabolikus aktivitásának mechanizmusa.....	48
III-28. ábra: A CYP és a PHS enzimek részvétele a benzol mielotoxikus metabolitjának kialakulásában	49
III-29. ábra: A propranolol metabolizmusa	51

III-30. ábra: A monoamin-oxidáz enzimek működésének mechanizmusa	51
III-31. ábra: Az euxantinsav és uroklorálsav szerkezeti képletei.....	53
III-32. ábra: A paracetamol és az ibuprofén glükuronsav-konjugátummá történő átalakulásának UDP-glükuronil-transzferáz (UGT) enzimek által katalizált reakciója.....	53
III-33. ábra: A szalicilsav észter- és éter-típusú glükuronid-konjugátuumainak szerkezete.	54
III-34. ábra: A 2-aminonaftalin karcinogén metabolittá történő átalakulása	55
III-35. ábra: A paracetamol szulfát-konjugátummá történő átalakulásának szulfotranszferáz (SULT) enzimek által katalizált reakciója.	56
III-36. ábra: A szulfát konjugáció szerepe a 2-acetilaminofluorén, a szafrol és a 7,12-dimetilbenz[a]antracén metabolikus aktiválásában	58
III-37. ábra: A benzoésav glicin-konjugátuma (hippursav) képződésének reakciója.	59
III-38. ábra: Az etakrinsav és a redukált glutation (GSH) glutation-S-transzferáz (GST) enzimek által katalizált reakciója	60
III-39. ábra: A glutation-konjugátumok merkaptursav-származékká történő metabolizmusának reakcióútja	61
III-40. ábra: A dibrómetán és a brómbenzol GSH-dependens metabolikus aktiválásának mechanizmusa	62
III-41. ábra: A <i>m</i> -nitrobenzaldehyd <i>N</i> -acetil- <i>m</i> -aminobenzoésavvá történő metabolizmusának reakcióútja.	63
III-42. ábra: A prokainamid acetilszármazékká történő átalakulásának <i>N</i> - acetiltranszferáz (NAT) enzimek által katalizált reakciója	63
III-43. ábra: A 2-aminofluorén NAT-katalizált metabolikus aktiválásának mechanizmusa	64
III-44. ábra: A norepinefrin katechol-O-metiltranszferáz (COMT) enzimek által katalizált O-metilezési reakciója	65
III-45. ábra: A testidegen anyagok metabolizmusán alapuló toxikus hatások molekuláris mechanizmusai.	70
III-46. ábra: A toxikus hatás kialakításért végeredményében felelőssé tehető reaktív metabolitok képződésének mechanizmusai.	71
III-47. ábra: Az N-acetil-p-benzoquinonimin (NAPQI) fehérje-SH csoportokkal lejátszódo reakciója.	71
III-48. ábra: A paraquat (PQ ⁺⁺), a doxorubicin (DR) és a nitrofurantoin (NF) szerkezeti képlete	72
III-49. ábra: Szuperoxid gyökkanion képződése paraquat (PQ ⁺⁺), dextrubicin (DR) és nitrofurantoin (NF) redox-ciklus reakcióiban	72
III-50. ábra: A szuperoxid gyökkanion továbbalakulásával képződő reaktív gyökök.	73
III-51. ábra: A lipidperoxidáció molekuláris mechanizmusa.....	74
III-52. ábra 1,4-benzokinonok képződése és redox-ciklusa.....	75
IV-1. ábra: A paracetamol biotranszformációja.....	82
IV-2. ábra: A prosztaglandin-H-szintetáz (PHS) enzim működésének mechanizmusa	83
V-1. ábra: A troglitazon (I), a roziglitazon (II) és a pioglitazon (III) szerkezeti képletei.	86
V-2. ábra: A troglitazon-szulfát (M1) és a troglitazon-glükuronid (M2) szerkezeti képletei.	89

V-3. ábra: A troglitazon kromángyűrűs molekuláris részletek metabolikus transzformációi	90
V-4. ábra: A troglitazon 2,4-tiazolidin-dion-gyűrűs molekuláris részletek metabolikus transzformációi	91
VI-1. ábra: A Prostaglandinok ($PGF_{2\alpha}$, PGD_2 , PGE_2), a prosztaciklin (PGI_2) és a tromboxánok (pl. TXA_2) arachidonsavból kiinduló szintézisútjai	96
VI-2. ábra: A diklofenák humán hepatocitákban azonosított oxidatív metabolitjai	100
VI-3. ábra: Az 5-hidroxidiklofenák (M3) <i>p</i> -benzokinonimin-származékká (M6), valamint a diklofenák-glükuronid (M7) 4'-hidroxidiklofenák-glükuroniddá (M8) történő oxidatív átalakulásai	102
VI-4. ábra: A diklofenák-glükuronid reakciója fehérjékkel	104
VII-1. ábra: Testidegen anyagok túlérzékenységi reakció (hiperszenzitivitás) vagy autoimmun betegség kialakulásához vezető egyszerűsített mechanizmusa	107
VII-2. ábra: A különböző hatástani csoportba tartozó szulfonamidok egy-egy képviselőjének szerkezete	111
VII-3. ábra: A szulfaszalazin bakteriális azoreduktázok által katalizált metabolizmusa	111
VII-4. ábra: A szulfametoxazol metabolikus aktiválása	113
VIII-1. ábra: A sejtciklus általánosított sémája	116
VIII-2. ábra: Az elektromágneses spektrum tartományai	122
VIII-3. ábra: A DNS kettős spirál feltételezett károsodásai	125
VIII-4. ábra: Néhány tumor promóter szerkezete	127
VIII-5. ábra: A szervezetbe kerülő testidegen anyagok lehetséges átalakulásai	130
VIII-6. ábra: Néhány policiklusos aromás szénhidrogén szerkezete	131
VIII-7. ábra: A benzo[a]pirén metabolikus aktiválása	132
VIII-8. ábra: A 7,12-dimetilbenzantracén metabolikus aktiválásának mechanizmusa	133
VIII-9. ábra: A 4-aminobifenil aktiválásának molekuláris mechanizmusa	134
VIII-10. ábra: Az N-acetilbenzidin aktiválásának molekuláris mechanizmusa	134
VIII-11. ábra: A 2-acetilaminofluorén aktiválásának molekuláris mechanizmusa	135
VIII-12. ábra: Az N-nitrozodimetilamin metabolikus aktiválásának mechanizmusa	136
VIII-13. ábra: Az aflatoxin B ₁ metabolikus aktiválásának mechanizmusa	137
VIII-14. ábra: A vinilklorid metabolikus átalakulásának molekuláris mechanizmusa	138
VIII-15. ábra: A mustárnitrogének aktiválásának molekuláris mechanizmusa	139
VIII-16. ábra: A ciklofoszfamid metabolikus aktiválásának molekuláris mechanizmusa	139
VIII-17. ábra: A hidrazin metabolikus aktiválásának molekuláris mechanizmusa	140
VIII-18. ábra: A hidroxilgyökök DNS-károsító és mutagén hatásainak támadáspontjai	142

Előszó

A szervezetbe kerülő testidegen anyagok (gyógyszerek, élelmiszerek, stb.) a szervezet endogén biokémiai mechanizmusainak részvételével kémiaiilag átalakulnak a szervezetben. Az átalakult származékok (metabolitok) szerkezetét, mennyiségét, valamint további sorsát elsősorban a testidegen anyagok (xenobiotikumok) néhány alapvető fizikai-kémiai tulajdonsága, így a (tér)szerkezet, az ionizációs készség, valamint a lipofil-hidrofil fázisok közötti megoszlási hányados határozza meg.

A szervezetbe kerülő gyógyszerek metabolikus átalakulásainak kémiája a gyógyszerészi kémiai ismeretek integráns része. Több éves oktatási tapasztalataink alapján azonban megállapítható, hogy a gyógyszervegyületek metabolizmusának kémiai alapjai, a keletkezett metabolitok fizikai-kémiai jellemzése, valamint megismert mellékhatások és a vegyületek metabolikus átalakulásai közötti összefüggések molekuláris szintű megismerése túlmutat a tantárgy oktatására rendelkezésre álló óraszámokon.

Jelen tananyag a gyógyszerészi kémia tananyagot kiegészítő választható kurzusként meghirdetett tantárgy főbb fejezeteinek alapján íródott. A tantárgy keretében a hallgatók megismerkednek a szervezetbe kerülő testidegen anyagok (köztük a gyógyszerként alkalmazott vegyületek) kémiai átalakulásainak kémiai természetével, a keletkező metabolitok szerkezetével, valamint a reakciókat katalizáló enzimek működésének mechanizmusával. A tananyag áttekintést ad a keletkező reaktív metabolitok, és azok további átalakulásai során keletkező reaktív származékok képződésének és eliminációjának, valamint biológiai makromolekulákkal lejátszódó reakcióinak legfontosabb reakcióútjairól, és azoknak a testidegen vegyületek (elsősorban gyógyszervegyületek) nemkívént (toxikus) hatásainak kialakulásában betöltött szerepéről. A tananyag elősegíti a gyógyszervegyületek nemkívént hatásainak, valamint metabolikus transzformációin alapuló kölcsönhatásainak (interakcióinak) molekuláris szintű megértését.

A szerkesztők köszönetüket fejezik ki Dr. Halmos Gábor egyetemi tanár Úrnak (Debreceni Egyetem), aki lelkiismeretes lektori munkájával, építő jellegű megjegyzéseivel, javításaival járult hozzá, hogy a hallgatók hiteles, megbízható forrásból ismerkedjenek meg a gyógyszermetabolizmus és a gyógyszerek nemkívént hatásai közti alapvető összefüggésekkel.

A tananyag modulszerű felépítése lehetővé teszi, hogy a jövőben szükség szerint újabb területekkel, további metabolikus transzformációkon alapuló nemkívéntatos hatások molekuláris alapjainak részletes tárgyalásával bővüljön. Ezzel kapcsolatban a tananyag szerkesztője örömmel vesz minden hozzá eljuttatott javaslatot. Természetesen a szerkesztő köszönettel vesz bármi, a javításra vonatkozó megjegyzést.

Pécs, 2014. március

A szerkesztő

I Bevezetés

I.1 A toxikológia tárgya

A *toxikológia* a testidegen anyagok (xenobiotikumok) és az élő szervezet között kialakuló, nemkívánatos (káros) biológiai hatást eredményező kölcsönhatás vizsgálatának tudománya. Hasonlóan a farmakológiához, a toxikológia is két egymáshoz szorosan kapcsolódó területre osztható:

1. *Toxikokinetika*: a szervezetnek a testidegen vegyületre gyakorolt hatását vizsgálja. Jellemzi a vegyület sorsát a szervezetben: a felszívódását, eloszlását, metabolizmusát és kiválasztását, valamint e folyamatok molekuláris mechanizmusait.
2. *Toxikodinámia*: a testidegen vegyületnek a szervezetre gyakorolt káros (toxikus) hatását tanulmányozza. Jellemzi a hatás klinikai tüneteit, valamint a hatás kialakulásának molekuláris mechanizmusát.

A toxikológia ugyanakkor egy szakma, melynek két fő tevékenységi köre van:

1. kísérletes toxikológia, és az
2. alkalmazott toxikológia.

A *kísérletes toxikológia* kísérletek végzésén alapuló kutatómunka, amely lehet

- a. alapkutatás: a toxokinetikai és toxikodinámiai mechanizmusok vizsgálata; valamint
- b. alkalmazott kutatás a gyógyszer-, élelmiszer-, valamint a kozmetikai iparban, valamint a mezőgazdasági és állattenyésztési tevékenységek során felhasznált vegyületek toxikokinetikájának és toxikodinámiájának leíró jellemzése a hatósági irányelvek szerint.

Az *alkalmazott toxikológia* ugyancsak a toxikológiai szakmai tevékenység, melynek számos ága van eltérő feladatokkal:

- a. *klinikai toxikológia*: az emberi mérgezések diagnosztizálása és kezelése;
- b. *foglalkozási toxikológia*: a munkahelyi vegyi anyagokkal történő mérgezések megelőzése, diagnosztizálása;
- c. *igazságügyi toxikológia*: a kriminális háttérű balesetek és halálesetek esetén mérgezés igazolása, vagy kizárása;
- d. *környezet-toxikológia* (ökotoxikológia): a természetes környezetünkben élő élőlények (halak, vadak, madarak, méhek, stb.) a környezetet szennyező vegyi anyagokkal (pl. peszticidek) történő megelőzése, igazolása, kezelése; valamint
- e. *hatósági toxikológia*: toxikológiai vonatkozású, a kémiai bizonyosságot érintő törvényi szabály-alkotás és alkalmazás, amely állami intézmények feladata.

Általánosságban megfogalmazva a toxikológia tárgya az élő szervezetet károsító, veszélyes környezeti tényezők hatásának tanulmányozása. E tényezők fizikai, kémiai és biológiai természetűek lehetnek. A toxikológia meghatározásánál általában egy szűkebb értelmezést használunk, ahol csak a kémiai természetű tényezőket vesszük figyelembe. Ebben az értelemben a toxikológia a mérgek és mérgezések tudománya.

Általában mérgeknek tekintünk minden olyan anyagot, ami károsító hatást fejt ki valamely biológiai rendszerre, súlyosan veszélyeztetve annak funkcióját, mely károsítást

egészen a halálig terjedhet. A károsító hatás kialakulása azonban minden a szervezetbe kerülő testidegen anyag esetén az alkalmazott dózis függvénye. Ezt az alapvető felismerést elsőként *Paracelsus (Philippus Aureolus Theophrastus Bombastus von Hohenheim)* (1493-1541) írta le, megfogalmazva, hogy minden anyag mérge, azonban mérgező tulajdonsága (a fiziológias folyamatokat negatívan (károsan) befolyásoló hatása) a dózis függvénye.

A *Paracelsus* által először felismert természeti törvényszerűség értelmében a toxikológiai folyamatok vizsgálata és értelmezése során elengedhetetlen a dózis definíciójának rögzítése. *Dózis* alatt valamely anyag azon mennyiségét értjük, amely bekerül az élő szervezetbe. A szervezetbe bekerülő dózishoz az a hányadát, ami parenterális (a gyomor-bélrendszer kikerülésével történő) bekerülés esetén bejut a szisztémás keringésbe *biológiai értékesíthetőségnek* nevezzük. Az intravénásan – közvetlenül a véráramba kerülő anyag biológiai értékesíthetőségét 100 %-nak tekintjük. Így az egyszeri expozíció hatását az alkalmazott vegyület dózisával és biológiai értékesíthetőségével jellemezhetjük.

A szervezetre nézve káros (toxikus) hatást kiváltó anyag biológiai válaszát az alábbi szempontok alapján jellemezhetjük:

1. szervezet
2. dózis
3. az expozíció módja
4. az expozíció időtartama.

1. Régóta ismert, hogy az anyagok ugyanazon dózisára adott biológiai válasz a *különböző szervezetekben (faj, nem, életkor, testsúly, táplálkozás, egyéni hajlam)* különbözőségeket mutat. E különbözőségeket a következő fő szempontok magyarázzák:

- a. anatómiai felépítés
- b. az anyagcsere biokémia jellegzetességei, valamint
- c. genetikai faktorok

2. Minden anyag toxikus hatását egy *dózis-válasz függvénnyel* lehet jellemezni. Ez a függvény írja le, hogy az alkalmazott dózis emelésével a károsító hatás hogyan változik. Azt a biológiai hatást (válaszreakciót), amely egy adott dózis károsító hatásának jellemzésére használható, *tünetnek* nevezzük. A tünet az alkalmazott dózis nagyságának függvényében változhat. Például, a szénmonoxid vérszintjének emelkedésével a tünet az enyhe fejfájástól az eszméletvesztésig (illetve akár a halál beálltáig) terjedhet. A különböző tünetekre külön-külön felírhatjuk a kumulatív dózis-válasz függvényt, ami az alkalmazott dózis függvényében az expozíció nyomán kialakult tünetek százalékos gyakoriságát írja le.

Az egyes tünetekre kapott dózis-válasz függvények természetesen nem esnek egybe és más-más lefutást is mutathatnak. Vannak olyan görbék, melyek szűk dózis-tartományon belül meredeken változnak, mások kevésbé meredeken emelkednek és csak igen magas dózis-tartományban érik el (vagy el sem érik) azt a szintet, ahol a vizsgált csoport minden egyede mutatja az adott káros elváltozást.

A dózis-válasz függvény lefutásából számos a toxikus vegyületekre, illetve a toxikus hatásra jellemző következtetés vonható le. A szigmoid típusú dózis-válasz görbe jól definiált élettani/biokémiai folyamat változására utal. Az ettől eltérő alakú görbék összetett élettani/biokémiai hatásokra utal. Igen jellegzetes az esszenciális anyagok (pl. vitaminok, mikroelemek) U-alakú dózis-válasz görbéje.

A vegyületek alapvető toxikológiai jellemzésére hagyományosan a halálozást (mortalitást) használjuk. Ennek oka, hogy a halálozás egyértelműen meghatározható és a vizsgált csoporton belül számszerű módon kifejezhető biometriai módszerek segítségével. Az experimentális toxikológiában a toxicitás mértékeként az akut közepes letális dózist használjuk, amely a vizsgálati anyagnak azt a dózist jelenti, ami egyszeri kezelést követően a vizsgálatba bevont kísérleti állatok 50 %-ának pusztulását okozza. Ezt az értéket LD_{50} értéknek nevezzük.

Az LD_{50} értékek alapján A. Hodge és B. Sterner végezte el a vegyi anyagok méregerősség szerinti osztályozását, akik az anyagokat hat különböző toxicitású csoportba sorolták (I-1. Táblázat).

I-1 táblázat: A mérgező anyagok méregerősség szerinti osztályozása az LD_{50} értékek alapján.

Méregkategória	Orális LD_{50} (patkány)	Példák
nagyon erős mérge	<1 mg/ts. kg	alkaloidák
erős mérge	1-50 mg/ ts.kg	arzéntrioxid
mérge	50-500 mg/ts. kg	ólom, mangán, réz
gyenge mérge	500-5000 mg/ts. kg	élelmiszer színezékek
gyakorlatilag nem mérgező	5000-15000 mg/ts. kg	szerves savak
relatív hatás nélkül	>15000 mg/ts. kg	élelmiszerek

Magyarországon a *Kémiai Biztonsági Törvény* (2000. évi XXV. Törvény) szerint előírt veszélyes anyagok méregkategóriáit az I-2. Táblázat tartalmazza.

I-2 táblázat: A Kémiai Biztonsági Törvény (2000. évi XXV. Törvény) szerint előírt veszélyes anyagok méregkategóriái.

Kategória	Orális LD_{50} (patkány, mg/ts. kg)	Dermális LD_{50} (patkány vagy nyúl, mg/ts. kg)	Inhalációs LD_{50} (patkány, mg/liter/4 óra)
nagyon mérgező	< 25	< 50	< 0,25
mérgező	25-200	50-400	0,25-1
ártalmatlan	> 200-2000	> 400-2000	> 1-5

3. Az *expozíció módja* meghatározza az adott dózisban a szervezetbe kerülő anyag biológiai értékesíthetőségét. A testidegen anyagok szervezetbe történő bejutásának legfontosabb útjai a következők:

- orális – szájon át történő expozíció
- dermális – bőrön át történő expozíció
- inhalációs – beléggzéssel történő expozíció
- egyéb parenterális utak – pl. intravénás (i. v.), intramusculáris (i. m.), stb.

A különböző expozíciós utak közti toxicitások különbözősége hasznos információt szolgáltat az anyagok sorsáról a szervezetben.

4. Az *expozíció időtartama* alapján megkülönböztetjük a vegyületek ún.

- akut,
- szubkrónikus, és
- krónikus toxicitását.

Az akut (heveny) mérgezést az egyszeri, nagy méregadag hatására rövid idő alatt, legfeljebb egy nap alatti gyors kialakulás jellemzi. A félheveny (szubkrónikus) mérgezésnél a mérgezés napokra vagy hetekre húzódik el. Az idült (krónikus) mérgezés hónapok, évek, évtizedek alatt a szervezetbe jutó kicsi, önmagában nem mérgező anyagok összegeződő hatása révén jön létre.

A huszadik században a toxikológiai kategóriák egy új mérgezési formával, a larvált vagy látens mérgezéssel egészültek ki. E mérgezésnek két fő csoportját különböztetjük meg. Az egyik csoport mérgezéseinél a szervezetbe jutó igen kis mennyiségű mérgező anyagok a szubakut vagy krónikus mérgezés kezdete után igen hamar, valamilyen enyhe, larvált elváltozást hoznak létre a szervezetben. A másik csoport mérgezésénél az enyhe expozíciót évekre, évtizedekre terjedő nyugalmi szak követi. A káros elváltozás csak ezen időszak eltelte után jelentkezik. E mérgezés csoportnál az is előfordul, hogy a mérgezetten egész élete alatt semmilyen káros tünet nem jelentkezik, de a károsodást az utódokra örökíti.

Az anyagok többsége esetén az akut és a hosszabb időn keresztül tartó expozíció által okozott toxikus hatások jelentősen különböznek. Az akut toxikus hatások általában a nagy dózisú gyorsan felszívódó vegyületek hatásait jellemzi. A szubkrónikus és a krónikus toxikus hatás szempontjából megkülönböztethetünk olyan anyagokat, melyek – lassú kiürülésük eredményeképpen *felhalmozódnak* (kumulálódnak) a szervezetben, és így az ismételt a szervezetbe kerülő – akut toxicitási teszten toxikus hatást nem mutató – dózis toxikus hatást eredményez. A folyamat ellentéte, amikor a krónikus expozíció eredményeképpen *hozzászokás, tolerancia* alakul ki.

A toxikus hatású vegyületek csoportosításának számos lehetősége adódik. E tananyag keretében – a tárgyalás szempontjainak figyelembevételével – a toxikus hatás kialakulásának molekuláris szempontból történő csoportosítása szempontjából

- a. a szervezetben történő kémiai (metabolikus) átalakulások nélkül toxikus hatásokat eredményező, valamint
- b. a szervezetben történő metabolikus átalakulások eredményeképpen toxikus hatásokat eredményező vegyületeket különböztetünk meg.

Az első (a) csoportba tartozó vegyületekre példaként megemlíthető a szénmonoxid, a hidrogén-cianid, az ólomion, az oxálsav, és a tetrodotoxin.

A második (b) csoportba tartozó vegyületeknek két további alcsoportját különböztethetjük meg.

1. Azok a vegyületek, melyek metabolikus átalakulása(i) eredményeképpen reaktív származékokká alakulnak, melyek kovalens kötést kialakítva a szervezet makromolekuláival megváltoztatja azok fiziológiás funkcióját. E vegyületek egy-egy példáját képviseli például az amigdalin, ami hidrogén-cianiddá, az arzenation, ami arzenitionná, a paracetamol, ami *N*-acetil-*p*-benzokinon-iminné alakulva, a metabolitok és a celluláris makromolekulák kölcsönhatásának eredményeképpen fejtenek ki toxikus hatást.
2. A második (b) csoportba sorolható toxikus hatású vegyületek hatásai molekuláris mechanizmusára az a jellemző, hogy a metabolizmusuk során keletkező reaktív származékok a celluláris környezetben dioxigénnel (O₂) reagálva oxigén-centrumú reaktív származékokat képeznek, melyek közvetlenül vagy a celluláris

makromolekulák kovalens módosításával reaktív oxigén- vagy nitrogénszármazékok (ROS; RNS), vagy reaktív fragmensmolekulák (pl. malonaldehid, 4-hidroxinonenal) képződését eredményezi, és ez utóbbi vegyületek okozzák a celluláris makromolekulák (fehérjék, szénhidrátok, nukleinsavak) funkcionális károsodást eredményező kovalens módosítását.

Jelen tananyag csak toxikus hatással bíró vegyületek második (b) csoportjába tartozó anyagok néhány képviselője toxikus hatásának molekuláris mechanizmusát mutatja be.

I.2 Kérdések, feladatok

1. Jellemezze a toxikokinetika vizsgálatok főbb területeit!
2. Sorolja fel az alkalmazott toxikológia ágazatait!
3. Jellemezze a Kémiai Biztonsági Törvény (2000. évi XXV. Törvény) szerint előírt veszélyes anyagok méregkategóriáit!
4. Jellemezze az az akut és a krónikus toxicitást!
5. Jellemezze szervezetben történő metabolikus átalakulások eredményeképpen toxikus hatásokat eredményező vegyületek csoportjait!

II A testidegen anyagok bejutása a szervezetben

II.1 A testidegen anyagok sorsa a szervezetben

A szervezetbe kerülő testidegen anyagok sorsát alapvetően a következő szempontok határozzák meg:

1. a szervezetbe jutás módja,
2. a vegyület fizikai-kémiai tulajdonságai,
3. a vegyületek kémiai tulajdonságai (metabolikus átalakulásai, valamint
4. a szervezetből történő kiürülés módja.

A testidegen anyagok szervezetbe történő bejutásának legfontosabb útjai a következők:

1. Szájon keresztül (*per os*)

Ez esetben a szervezetbe bekerülő anyag a gyomor-bél rendszer különböző szakaszain (szájüreg, gyomor, vékonybél) szívódik fel és kerül be a centrális keringésbe. A vékonybélből felszívódó anyagok először a *vena portae*-n keresztül a májba kerülnek, és csak azt követően továbbítja őket a centrális keringés a különböző szervekbe. A felszívódott anyagok a centrális keringésbe kerülést megelőzően a májban (és a gyomor-bél rendszer epithel sejtjeiben) metabolikusan átalakulhatnak. A centrális keringésbe kerülést megelőző hepaticus metabolizmust a szakirodalom „*first pass*” hatásként írja le.

2. Tüdőn keresztül, inhalációval.

A tüdőn keresztül a szervezetbe kerülő testidegen anyag közvetlenül a centrális keringésbe kerül, kikerülve ezáltal a *per os* alkalmazott gyógyszerek esetén fellépő ún. „*first pass*” metabolikus átalakulást.

3. Intravénásan

Intravénás bekerülés esetén a testidegen anyag közvetlenül a centrális keringésbe kerül. A kialakuló hatás szempontból az anyag hasznosulása ez esetben maximális.

4. Intraperitoneálisan

A hasüregbe történő bekerülés gyakorlatilag csak az experimentális farmakológiában, illetve toxikológiában fordul elő.

5. A bőr különböző rétegein keresztül

E kategóriába sorolhatók a bőr felületéről (*dermálisan*) történő felszívódás, valamint a bőr különböző rétegeibe injektált hatóanyagok felszívódása. Az ún. *szubkután* beadásnál a bőr alatti zsírszövetbe szűrják a tüt, a befecskendezett anyag a kapillárisokon vagy a nyirokerek keresztüljut a véráramba.

6. Intramuszkulárisan

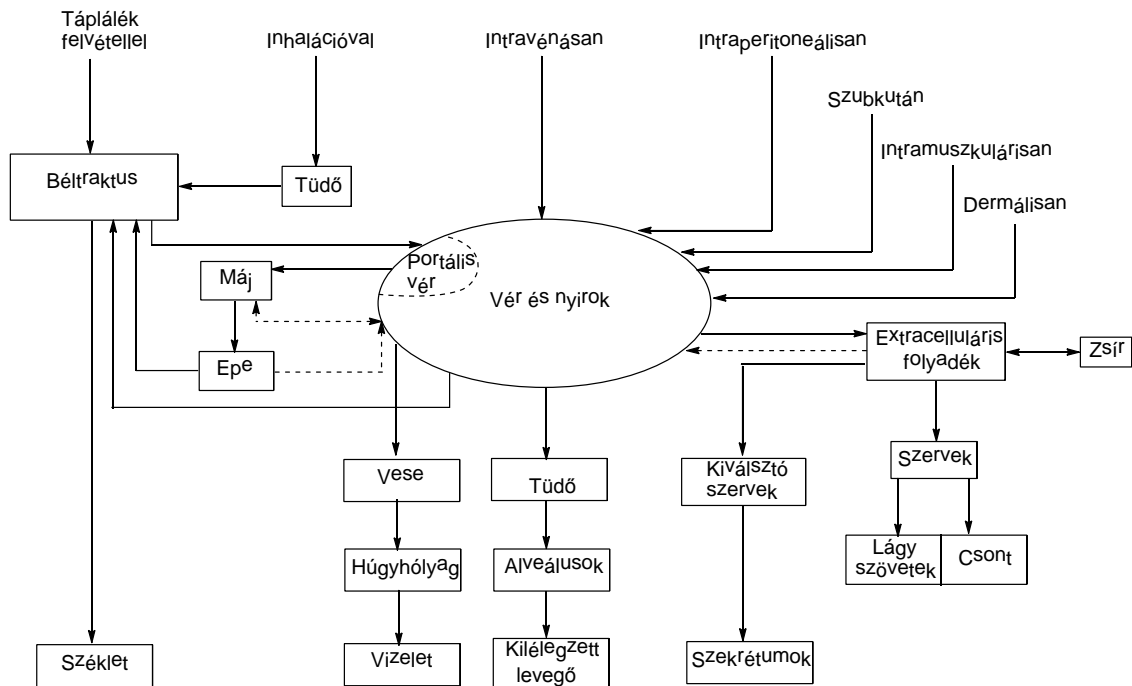
Az intramuszkuláris adagolást akkor alkalmazzák, amikor nagyobb térfogatú gyógyszert jutatnak a szervezetbe. Az, hogy a gyógyszer milyen gyorsan kerül a véráramba, részben az izom vérellátásától függ; minél gyérebb a vérellátás, annál lassabban.

7. Végbélén keresztül

A végbélén keresztül történő bejutás esetén a szervezetbe kerülő anyag közvetlenül a centrális keringésbe kerül. (Kikerüli a máj ún. „first pass” hatását.) A végbél belső borítása vékony és sűrűn átszőtt erekkel, ezért a hatóanyag könnyen felszívódik.

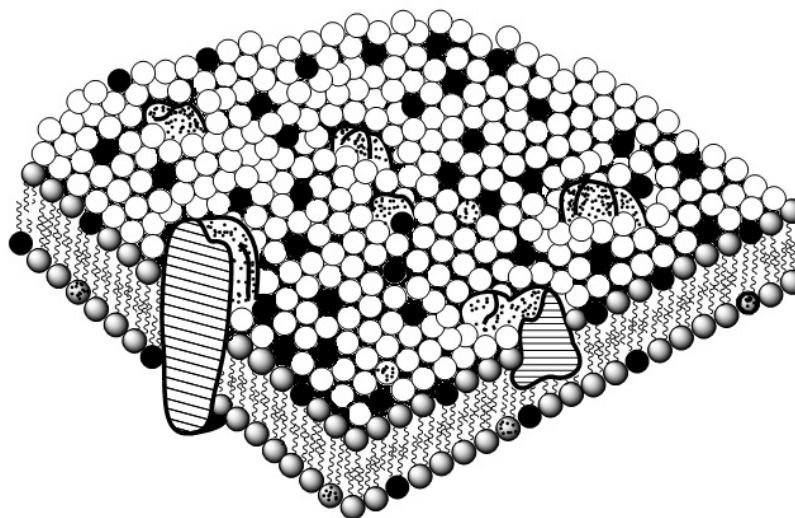
A különböző utakon a szervezetbe kerülő testidegen anyagok további sorsát összefoglalóan az II-1. ábra mutatja be.

II-1. ábra: Különböző utakon a szervezetbe jutott anyagok sorsa a szervezetben



II.2 A testidegen anyagok membránokon történő átjutásának útjai

A testidegen anyagok felszívódását és szervezetben történő eloszlását alapvetően a biológiai membránokon történő átjutásuk határozza meg. A biológiai membrán mozaik felépítésű, kettős lipidrétegből áll, ami nem tekinthető merev szerkezetnek. A lipidrétegben a membránt átéő fehérje, gliko- és lipoprotein elemek is megtalálhatók, melyek a membrán mindkét oldalán poláris csoportokat is tartalmaznak (II-2. ábra).

II-2. ábra: A sejtmembrán mozaikmodellje

A sejtmembrán gyors szerkezeti átrendeződésre képes komplex sejtorganelum. A fehérjeelemeket laza nem-kovalens kötőerők rögzítik a membránban és így geometriájukat flexibilisen megváltoztathatják. E konformációs mozgási szabadság lehetővé teszi, hogy a membránba ágyazódó fehérjék pórusokat vagy csatornákat alakítsanak ki, melyek átjárhatóságot biztosítanak a membránon a vízdékony anyagoknak. A membránokat felépítő anyagok legnagyobb hányada azonban lipid (legnagyobb részben foszfolipid), és így azok a lipofil vegyületek penetrációja szempontjából nem jelentenek akadályt.

Az érfal ennél jóval összetettebb, tulajdonságai függenek az anatómiai körülményektől, így a különböző szövetekben eltérőek lehetnek. Az endothel sejtek közötti részek fehérjék laza mátrix-szerkezetébe ágyazódnak, és így mintegy molekulaszűrőként viselkednek. Néhány szervben, különösen a központi idegrendszerben és a placentában az endothel sejtek szorosan kapcsolódnak egymáshoz és a periendotheliás sejtek testidegen anyagok számára átjárhatatlan réteget hoznak létre (vér-agy gát, placenta-gát). Ez a sajátosság gátolja meg a potenciálisan veszélyt jelentő molekuláknak a vérből ezekbe a szövetekbe történő jutását.

A testidegen anyagok különböző biológiai membránokon történő átjutásának legfontosabb útjai a következők:

1. *Egyszerű diffúzió*

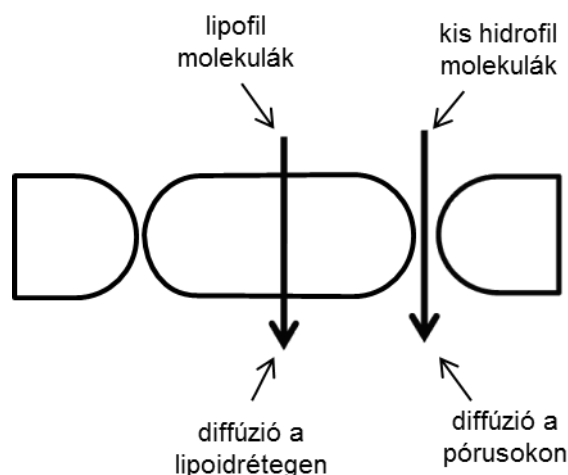
Az egyszerű diffúzió két fő mechanizmusa az

- (a) átjutás a vizes pórusokon, (*paracelluláris út*), valamint a
- (b) beoldódás a lipidrétegbe (*transzcelluláris út*) (II-3. ábra).

A *paracelluláris transzport* sebessége a molekula méret növelésével csökken, a membrán szűrőként viselkedik. Az átlagos pórusméret 0,40 – 0,45 nm. A 0,2 nm átmérőjű H₂O molekulák könnyen átjutnak, a nagyobb oldott molekulák kiszűrődnek.

A *transzcelluláris transzport* sebességét alapvetően a transzportált anyag lipidoldékonysága határozza meg.

Mindkét folyamat a koncentráció gradiens irányába játszódik le; az anyag a nagyobb koncentrációjú oldal felől a kisebb koncentrációjú oldal felé áramlik.

II-3. ábra: Testidegen anyagok egyszerű diffúziójának mechanizmusai**2. Membrán-mediált transzport**

A membrán-mediált transzportfolyamatok során a membrán valamely összetevője specifikus kölcsönhatásba lép a transzportálandó anyaggal. A membrán-mediált transzport legfontosabb jellemzői a következők:

A folyamat specifikus a transzportálandó anyagra; rokon vegyületek és sztereoisomerek között különbséget tud tenni.

A hasonló szerkezetű anyagok egymás transzportját befolyásolják; leggyakrabban a szállítóhelyekért (kötőhelyekért) történő vetélkedés miatt gátolják.

A transzport telítődést mutat; a szállító kapacitás meghatározott maximummal rendelkezik.

A transzport többé-kevésbé specifikusan gátolható.

A folyamat aktiválási energiája és pH-függése az enzimreakciókhoz hasonló sajátosságokat mutat.

A membrán-mediált transzportnak két fontos típusát ismerjük

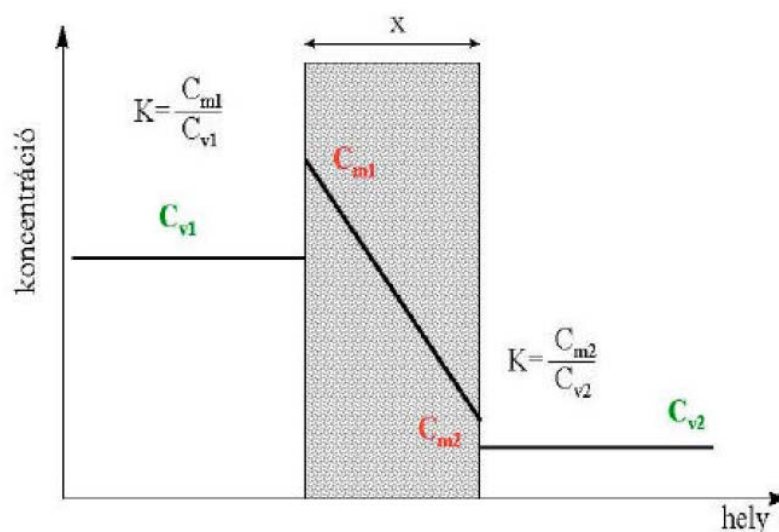
A *passzív transzport*, vagy más néven *könnyített diffúzió* során a transzport fehérje külső energiát nem használ, ezért nettó anyagtranszport csak addig történik, amíg a transzport hajtóereje (koncentrációkülönbség) meg nem szűnik.

Az *aktív transzport*, ami során a membránon átfolyó anyagáramlás a koncentráció (illetve elektrokémiai) gradienssel szemben folyik. A folyamatot mindig *karrier fehérjék* katalizálják. Az aktív transzportban a transzportfehérje meghatározott irányba pumpálja a molekulákat, mert szigorúan kapcsolt valamilyen energiaforrással (ATP hidrolízis, fény vagy ion gradiens).

A *membránáthelyeződéssel járó transzport*, melynek két fő formája az (a) *endocitózis* (fagocitózis és pinocitózis), valamint a (b) *exocitózis*.

II.2.1 Az egyszerű diffúzió

A testidegen anyagok membránokon történő átjutásának leggyakoribb és egyben legfontosabb útja az *egyszerű diffúzió* (II-4. ábra). Az apoláros, lipofil tulajdonságú vegyületek jól oldódnak a membránok lipoid kettősrétegében, ezért a koncentrációgradiens irányában szinte akadálytalanul jutnak át a biológiai membránokon. A folyamat hajtóereje a membrán két oldala közötti koncentrációkülönbség. A folyamat nem igényel energiabefektetést.

II-4. ábra: Testidegen anyagok membrán-permeációja.

Az egyszerű diffúzió sebességét a *Fick* első törvénye írja le.

$$\frac{dn}{dt} = \frac{D}{X} \cdot A \cdot (c_{m1} - c_{m2})$$

ahol

$\frac{dn}{dt}$ = az időegység alatt átáramlott anyagmennyiség

D = a molekula a lipidrétegben történő mozgásának sebességét jellemző diffúziós állandó

X = a membrán vastagsága

A = a membrán felülete

$c_{m1} - c_{m2}$ = a membrán két oldala közötti koncentráció-különbség

Mivel a membránon keresztül történő diffúzió sebesség meghatározó, ezért a membrán két oldalán kvázi-egyensúly alakul ki. Ennek alapján a membránban kialakuló koncentrációk kifejezhetők a vizes fázisban mérhető koncentrációkkal, ha ismerjük a molekula membránban (lipid fázisban) és vízben (hidrofil fázisban) mérhető egyensúlyi koncentrációja által meghatározott megoszlási (partíciós) hányadosát (K):

$$K = \frac{c_m}{c_{aq}}$$

ahol

c_m = az anyag egyensúlyi koncentrációja a membránban

c_{aq} = az anyag egyensúlyi koncentrációja a vizes fázisban

Ha a fenti összefüggés alapján kifejezzük a c_{m1} és c_{m2} koncentrációkat:

$$c_{m1} = K \cdot c_{v1}$$

$$c_{m2} = K \cdot c_{v2}$$

akkor az alábbi összefüggést kapjuk:

$$\frac{dn}{dt} = \frac{K \cdot D}{X} \cdot A \cdot (c_{v1} - c_{v2}) = P \cdot A \cdot (c_{v1} - c_{v2})$$

ahol

P = a molekula permeációs együtthatója

Mivel a *permeációs együtthatója* (P) arányos a megoszlási hányadossal (K), ezért a hidrofób molekulák sokkal gyorsabban jutnak át a membránon. A biológiai mátrixban kialakuló megoszlási hányadok (K) közelítő értékének jellemzésére szolgáló fizikai-kémiai paramétereket a fejezet későbbi része mutatja be.

II.2.2 Belégzéssel történő felszívódás

A toxikus testidegen anyagok leggyakrabban

- a. *belégzéssel*
- b. *szájon át* – a szájnyálkahártyán felszívódva, vagy lenyelve, valamint
- c. *bőrön át*
jutnak a szervezetbe.

Belégzéssel az illékony vegyületek, valamint a nem-illékony vegyületek mikrométer, illetve nanométer tartományba eső porlasztott és szilárd szemcséi jutnak a szervezetbe. A tüdőbe jutott vegyületek felszívódását elősegíti, hogy a bronchiolusokat és az alveolusokat egyrétegű hámsejtek fedik, amelyek igen nagy felületet képviselnek és az azokat behálózó kapilláris érhálózaton gyakorlatilag a szervezet teljes vérmennyisége átáramlik. A gázok és gőzök felszívódásában a hámsejtek kevésbé jelentenek akadályt, ezért a felszívódás sebessége gyakorlatilag attól függ, hogy a véráram milyen gyorsan tudja elszállítani a vérbe jutott gázt. A felszívódás hatékonysága a gázhalmazállapotú anyag parciális nyomásának, valamint a vérben való oldhatóságának függvénye.

Ha az anyagok finoman porított szilárd formában jutnak el a bronchiolusokig, illetve az alveolusokig, a por *fagocitózissal* jut át az alveolusok falán. Megemlítendő, hogy a tüdősejtek is rendelkeznek ún. metabolikus aktivitással, azaz az epithel sejtekbe felszívódó vegyületek egy része a sejtekben kémiaiilag átalakulhat. A keletkező származékok (metabolitok) *in vitro* elreagálhatnak a sejt makromolekuláival, vagy a véráramba kerülve – az anyavegyülethez hasonlóan – eljuthatnak más szervekbe, szövetekbe.

A tüdőn keresztül felszívódó testidegen vegyületek a tüdő epithel sejtjein felszívódva az artériás vérkeringésbe kerülnek és a véráram útján eljutnak a szervezet szerveibe, szöveteibe. A felső légúti toxikus hatásokért felelős vegyületek legnagyobb része belégzéssel kerül be a szervezetbe.

II.2.3 Felszívódás a gyomor-bél rendszerből. A pH szerepe.

A *szájon át* (*per os*) a szervezetbe jutó testidegen anyagok – amennyiben elegendő időt töltenek a szájüregben – felszívódása már a szájnyálkahártyán át megkezdődhet. A legtöbb testidegen anyag azonban a gyomor-bélrendszer igen nagy abszorpciós felületén keresztül szívódik fel és jut el a véráram útján a különböző szervekbe, szöveteibe.

Az emésztőrendszer egy kb. 8-9 m hosszú, különböző keresztmetszetű, nyálkahártyával fedett szervek egymást követő sora. A tápcsatorna a szájüreggel kezdődik, a garatban, a nyelöcsőben, a gyomorban és a vékonybélben folytatódik, átmegy a vastagbélbe és a végbélbe, majd a végbélnyílással végződik.

A testidegen anyagoknak a gyomor-bél rendszerből történő felszívódását számos, a rendszer anatómiai és biokémiai sajátosságából adódó tulajdonsága határozzák meg. Ezek közül megemlítendő a

- nagy felület
- változó pH-viszonyok
- enzimek jelenléte
- táplálék jelenléte
- az adott szakaszon eltöltött tartózkodási idő.

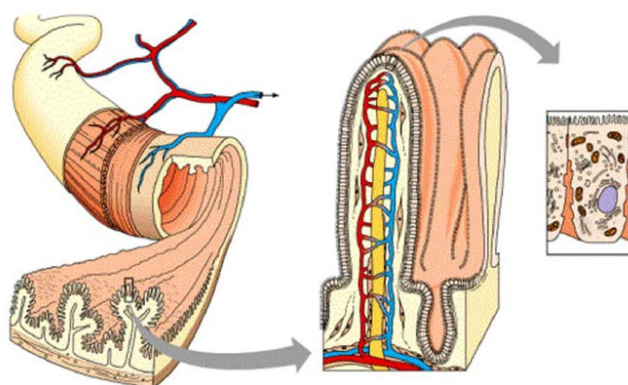
A gyomor-bél rendszer egyes szakaszainak legfontosabb jellemzőit a II-1. táblázat foglalja össze.

II-1 táblázat: A gyomor-bél rendszer fontosabb jellemzői

szerv	hosszúság (m)	pH	tartózkodási idő
szájüreg	-	6,2-7,2	>1 perc
gyomor	0,2	1,0-3,0	0,5-4 óra
nyombél	0,2	4,8-8,2	1-5 perc
éhbél	1	6,3-7,3	1-2 óra
csípőbél	1,5	7,6	2-3 óra
vastagbél	1,5	7,8-8,0	7-24 óra

A felszívódás legnagyobb részben a vékonybélben (nyombél, éhbél, csípőbél) történik, amire ott kellő idő áll rendelkezésre. A vékonybél első rövid szakaszának, a nyombélnek (*doudenum*) a felszíne sima, de a vékonybél további részei – az éhbél (*jejunum*) és a csípőbél (*ileum*) – már redőzöttek. A belső felszínt, a körkörös nyálkahártyaredőkön kívül, nagymértékben megnövelik mikroszkópos méretű ujszerű képletek a bélbolyhok vagy villusok, valamint az azok felszínét borító szubmikroszkópos nagyságú mikrovillusok (II-5. ábra).

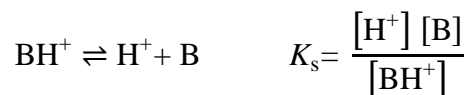
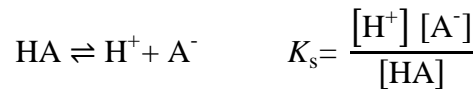
II-5. ábra: A vékonybél-nyálkahártya struktúrája



A felszívódó vegyületek az epithel sejteken keresztül a hám alatti térbe és onnan a központi keringésbe jutnak. A bélnyálkahártya – a tüdő epithel sejtjeihez és a gyomornyálkahártyához hasonlóan – felszívódás szempontjából lipofil gátnak tekinthető. A testidegen anyagok felszívódásában itt is döntő szerepet játszik az egyszerű diffúzió, melynek két meghatározó eleme a vegyületek lipofil-hidrofil megoszlási hányadosa és az azt determináló, az aktuális kémhatás által meghatározott

ionizációs állapota. Az ionizációra képes vegyületek (savak, bázisok) esetén az ionizált és a nem-ionizált formák membrán permeabilitása nagyon különböző lehet. Általánosságban megfogalmazható, hogy a membránokon passzív diffúzióval a nem-ionizált (semleges) formák jutnak át.

Az általános kémiai ismereteknek megfelelően a savak és bázisok ionizációja egyensúlyi folyamat, és az egyensúlyi elegy összetételét az egyensúlyt jellemző egyensúlyi állandó számszerű értéke jellemzi. Egy gyenge sav (HA) és egy protonált formájú gyenge bázis (BH⁺) savi disszociációs állandói a következő egyensúlyokkal jellemezhetők:



Megemlítendő, hogy a gyenge savak esetén a protonált [HA], míg gyenge bázisok esetén a deprotonált [B] forma a passzív diffúzió szempontjából kedvezményezett molekuláris entitás. Az egyensúlyi állandók megfelelő átrendezésével megkaphatjuk azokat az összefüggéseket, melyek megadják azokat a pH-tartományokat, melyekben az egyes ionizáló részecskék nem-ionizált formája dominánssá válik (*Henderson-Hasselbach egyenlet*).

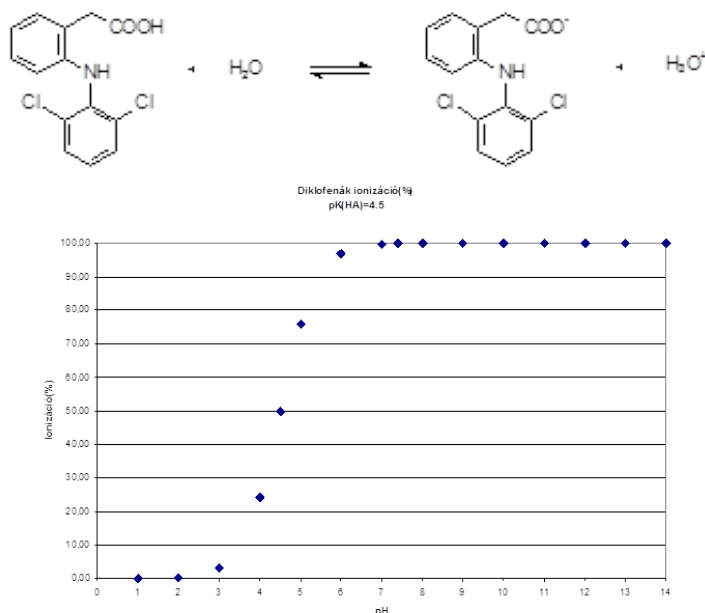
$$\text{pH} = \text{p}K_s - \log \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]}$$

$$\text{pH} = \text{p}K_s - \log \frac{[\text{BH}^+]}{[\text{B}]}$$

Az egyenletekből látható, hogy az ionizált-nemionizált formák koncentrációinak arányát mind a gyenge savak [HA], mind a gyenge bázisok [B] esetén az oldat (molekuláris környezet) kémhatása (pH-értéke) határozza meg. Így a szájon keresztül a szervezetbe jutó testidegen anyagok passzív diffúzióval történő felszívódásának szempontjából a gyomor-bélrendszer különböző szakaszainak kémhatása meghatározó jelentőséggel bír.

A gyomor kémhatása erősen savas. Telítettségi állapotától függően pH 1-3 között változhat. Ennek eredményeképpen a gyengén savas természetű vegyületek (pl. karbonsavak) a gyomorban semleges (protonált) formában találhatók, ami elősegíti a gyomorból történő felszívódásukat. A diklofenák protonált – ionizált formáinak pH függését a II-6. ábra mutatja be.

II-6. ábra: A diklofenák protonált (semleges) és ionizált formáinak megoszlása a pH függvényében

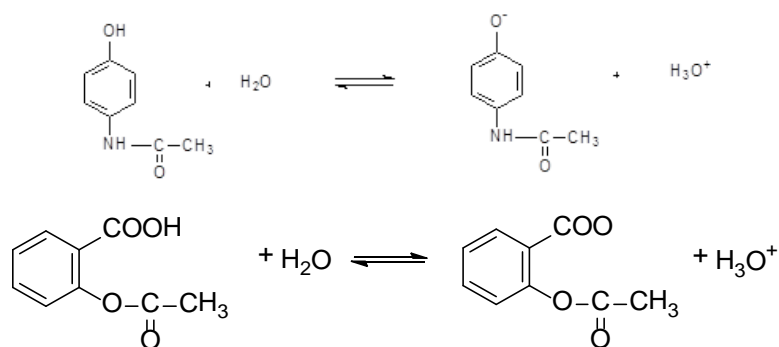


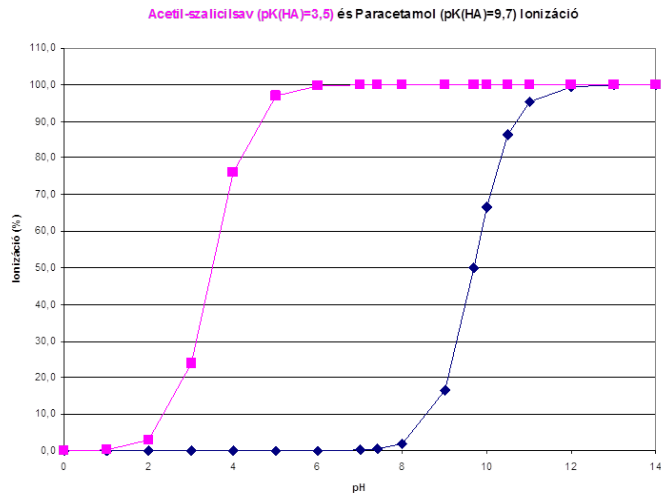
Amint az ábra mutatja az erősen savas körülmények között (pH 1-3) a diklofenák ionizációja gyakorlatilag elhanyagolható mértékű.

A gyenge savak ionizált és nem ionizált (protonált) formáinak egy adott pH-n történő megoszlását a gyenge sav ionizációját jellemző savi disszociációs állandó (K_s) határozza meg. Általánosan megfogalmazható, hogy a gyenge sav pK_s értékével számszerűen megegyező pH-értéken az ionizáció mértéke 50% (lásd. II-6. ábra). Ekkor az ionizált és a nem-ionizált formák koncentrációja egyenlő.

A K_s értékek hatását a vegyületek adott pH-értéken mutatott ionizációjára a II-7. ábra mutatja be.

II-7. ábra: A kémhatás (pH) hatása az acetilszalicilsav és a paracetamol ionizációjára

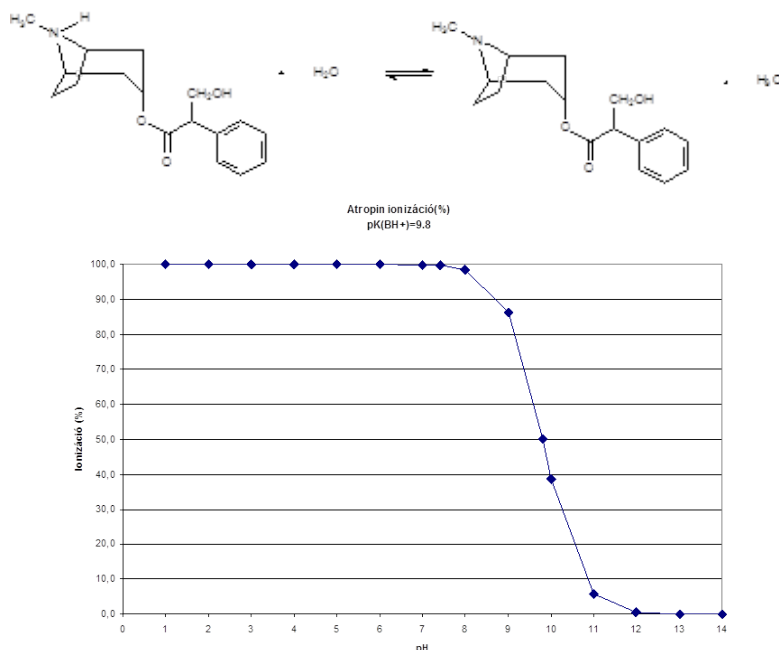




Az ábra az acetilszalicilsav ($pK_s = 3,5$) és a paracetamol ($pK_s = 9,7$) ionizációját mutatja be a pH függvényében. Amint az ábra mutatja, az erősebben savas tulajdonságú acetilszalicilsav ionizációja pH 1-2 tartományban elhanyagolható, pH 5 felett pedig abszolút dominánssá válik. Ugyanakkor az igen gyengén savas paracetamol ionizációja a gyomor-bél rendszer teljes fiziológiás pH-tartományban elhanyagolható. Következésképpen a gyengén savas karakterű (pK_s 1-4) testidegen anyagok felszívódásának elsődleges helye a gyomornyálkahártya, míg az igen gyengén savas tulajdonságú fenolos vegyületek a gyomor-bél rendszer több szakaszán is felszívódhatnak.

A gyengén bázikus tulajdonságú vegyületek gyomor-bél rendszerből történő felszívódásának pH-függése más összefüggéseket mutat. A protonált atropínium-kation (atropin-szulfát tartalmú készítmények hatóanyaga) ionizációjának pH-függését a II-8. ábra mutatja be.

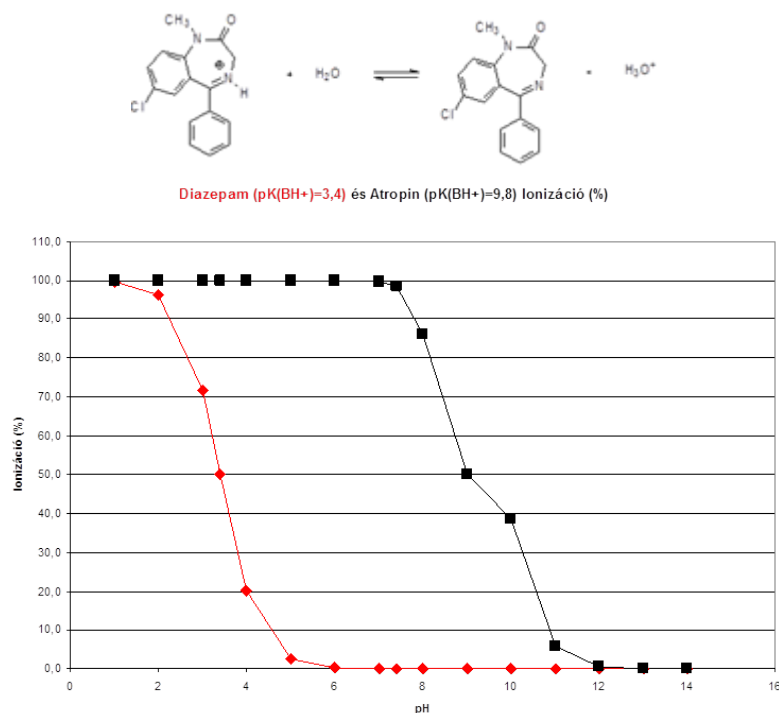
II-8. ábra: Az atropínium-kation ionizációjának pH-függése



Az atropínium-kation igen gyenge savas karakterének ($pK_s = 9,8$) megfelelően ionizált (protonált) és nemionizált (semleges) formájának koncentrációja pH 9,8 értéken megegyezik. A gyomor-bélrendszer fiziológiás pH viszonyai között mérhető nagyságrendű nem-ionizált forma csak pH 7-8 tartományban van jelen. Következésképpen a vegyület felszívódása a gyomor-bél rendszer alsóbb szakaszán (vékonybél) kedvezményezett.

A báziserősség – a savi erősséghez hasonlóan – meghatározza a vegyületek adott pH-n kialakuló ionizációjának mértékét. A II-9. ábra a protonált diazepamium ($pK_s = 3,4$) és a protonált atropínium ($pK_s = 9,8$) kationok ionizációjának pH-függését mutatja be.

II-9. ábra: A diazepamium és az atropínium kationok ionizációjának pH-függése



Amint a II-9. ábra mutatja, az erősen savas diazepamium kation ionizációja már a gyomor savas körülményei (pH 2-3) között is a felszívódás szempontjából meghatározó mennyiségű nem-ionizált (semleges) formában lévő részek képződését eredményezi. Így a diazepam tartalmú készítményekből a hatóanyag felszívódása a gyomor-bél rendszer bármelyik szakaszán megtörténhet.

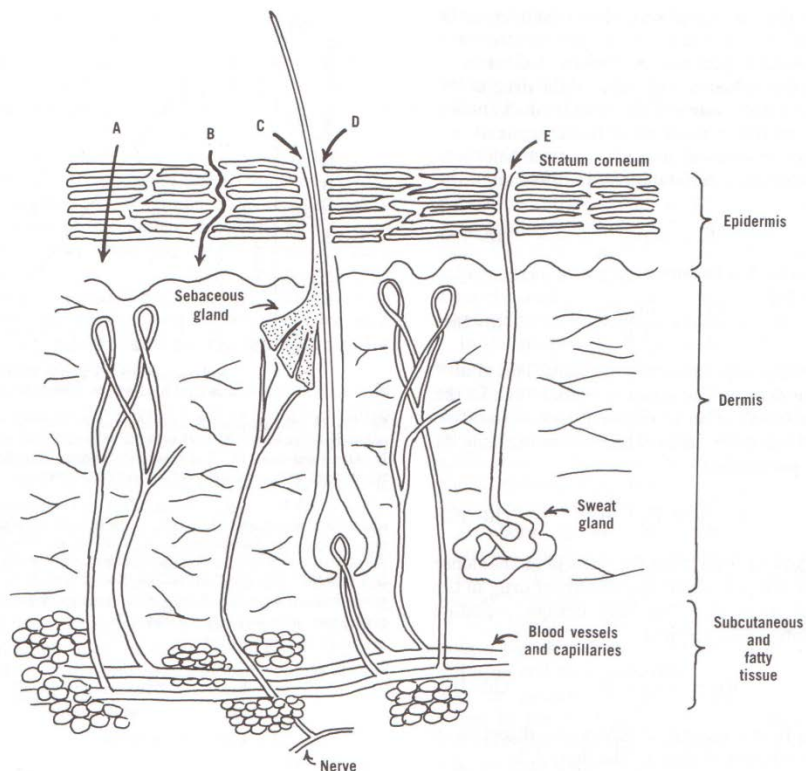
A gyomor-bél rendszer felső szakaszán (gyomor, vékonybél) felszívódó vegyületek a portális keringéssel a májba jutnak. Ez a folyamat a májon történő első áthaladás („first-pass effect”). Itt a felszívódott anyagokat tartalmazó vénás vér a májat ellátó artériás vérrel keveredve a központi májvénába, majd azon keresztül a centrális keringésbe kerül. A májba jutó testidegen vegyületek a májban kémiai átalakulhatnak (metabolizmus). A vegyületeknek azt a folyamatát, amely „first-pass” effektus eredményeképpen átalakul, *extrakciós frakciónak* nevezzük.

II.2.4 Felszívódás a bőrön keresztül. A lipofilitás szerepe.

A szervezetet a külvilágtól a mintegy 1,5-2 m² felületű bőr határolja, amely egyben védő, belső homeosztázist szabályzó, valamint érzékelő feladatokat is ellát. A bőr a szervezetet védő, elhatárolódó funkcióját pusztán a hámsejtek sajátos fizikokémiai tulajdonságain alapuló passzív funkcióként látja el. A testidegen vegyületek *bőrön keresztül* történő felszívódását a bőr speciális struktúrája alapján értelmezhető.

A bőr réteges felépítésű szerv. Legkülső rétege a felhám (*epidermis*), ami alatt közvetlenül az irha (*dermis*) és a bőr alatti kötőszövet (*hypodermis*) található (II-10. ábra).

II-10. ábra: A bőr vázlatos felépítése



A felhám (*epidermis*) a bőr külső rétegeként védelmet biztosít a környezeti hatásokkal szemben. Az epidermis legkülső rétege a szaruréteg (*stratum corneum*). Bár ez a réteg mindössze néhány mikrométer vastagságú (3-4 sejtréteg) mégis hatékony gátat képez a szervezet és a külvilág között.

A *stratum corneum* tulajdonképpen apoptikus keratinocitákból áll, lényegében egy keratinban gazdag lipoprotein burok. Az apoptikus sejtek között kettős lipidrétegekből és közéjük integrálódó hidrophil anyagból álló mátrix helyezkedik el.

A legtöbb gyógyszer (testidegen anyag), amely az epidermisen képes áthatolni, az apoptikus keratinocitákon keresztül szívódik fel. Ennek következtében a lipofil vegyületek (formák) penetrációja sokkal jelentősebb, mint a vízdoldékony (hidrophil) vegyületeké (formáké). A rendkívül lipofil vegyületek számára azonban a hidrophil mátrix már akadályt képez.

A bőrön keresztül történő felszívódást befolyásoló legfontosabb paraméterek a következők:

- a.) Az oldott hatóanyag koncentrációja (C_s),
- b.) A hatóanyag megoszlási hányadosa a bőr és a vivőanyag között (K), valamint
- c.) A hatóanyag diffúziós állandója a vivőanyagban (D_v) és a bőrben (D_s).

Lipofil hatóanyag bőrön keresztül történő felszívódását jellemző diffúziós egyenlet

$$-\frac{dC_v}{dt} = \frac{SK_{vs}D_sC_v}{Vh}$$

ahol,

C_s = az oldott hatóanyag koncentrációja (g/cm^3) a vivőanyagban

S = a felszívódási felület nagysága (cm^2)

K_{sv} = a hatóanyag bőr-vivőanyag közötti megoszlási hányadosa

D_s = a hatóanyag diffúziós állandója a bőrben (cm^2/sec)

V = az alkalmazott dózis térfogata (cm^3)

h = a bőrréteg vastagsága (cm).

A diffúziós koefficiens (D_s) és a bőrréteg vastagsága (h) összevonásával definiálható a bőrréteg ellenállása (R_s):

$$R_s = h/D_s$$

és bevezetésével a fenti egyenlet a következőképpen egyszerűsíthető:

$$-\frac{dC_v}{dt} = \frac{SK_{vs}C_v}{VR_s}$$

Amint az a fejezet előző szakaszában is bemutatásra került a testidegen anyagok megoszlása a lipofil membrán struktúra és az azzal érintkező hidrophil vizes fázis között meghatározó jelentőséggel bír a testidegen vegyületek egyszerű diffúziós folyamatában. E kísérletesen nehezen meghatározható megoszlási hányadost a vegyületek ún. *lipofilitásával* jellemezzük. Lipofilitáson tágabb értelemben egy anyag zsírkedvelő, zsírszerű anyagokban való oldódási hajlamát értjük.

A vegyületek lipofilitásának legáltalánosabban használt jellemzője az *oktanol-víz megoszlási hányados*, melynek értéke nem-ionizálódó vegyületek esetén a vizsgált vegyület két fázisban (vízzel telített oktanol/etanollal telített víz) mért egyensúlyi koncentrációjának logaritmikus értéke:

$$\log P_{o/v} = \frac{[c]_o}{[c]_v}$$

ahol

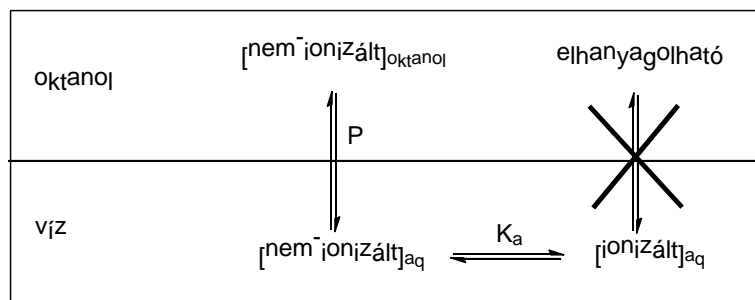
$[c]_o$ = a vizsgált anyag oktanolban mért egyensúlyi koncentrációja (mol/dm^3)

$[c]_v$ = a vizsgált anyag vízben mért egyensúlyi koncentrációja (mol/dm^3)

A fenti definíció szerint ún. valódi megoszlási hányados (P) az azonos molekuláris állapotban lévő részecskékre, azaz a nemionos semleges forma megoszlására vonatkozik.

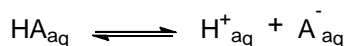
Ionizálódó vegyületek oktanol-víz megoszlási hányadosának meghatározásakor figyelembe kell venni, hogy az ionizált és a nem-ionizált formák egyensúlyi koncentrációja pH-függő, valamint hogy az ionizált forma oldékonysága a lipofil (oktanol) fázisban a nem-ionizált formához képest elhanyagolható. Ezzel az egyszerűsítéssel a vizes oldatban ionizáló vegyületek (savak, bázisok, sók) oktanol-víz megoszlásának sémáját a II-11. ábra mutatja be.

II-11. ábra: Az ionizált és a nem-ionizált formák megoszlása hidrofil (víz) és lipofil (oktanol) fázisok között



Figyelembe véve az ionizálódó vegyületek protonált és nem-protonált formáinak pH-függésére a II-6-II-9. ábrákon bemutatott összefüggéseket, az ionizálódó vegyületek ún. látszólagos megoszlási hányadosának ($\log D$) kiszámítására felhasználható összefüggéseket a következő képletek mutatják be:

Savas természetű vegyületekre:



$$D = \frac{[HA]_{oktanol}}{[HA]_{aq} + [A^-]_{aq}}$$

Bázikus természetű vegyületekre:



$$D = \frac{[B]_{oktanol}}{[BH^+]_{aq} + [B]_{aq}}$$

A kísérletesen meghatározott látszólagos megoszlási hányados értékéből a valódi megoszlási hányados, a pK_s érték ismereteiben az alábbi összefüggések segítségével számítható ki:

Savas természetű vegyületek esetén:

$$\log P = \log D + \log (1 + 10^{pH - pK_s})$$

bázikus természetű vegyületek esetén:

$$\log P = \log D + \log (1 + 10^{pK_b - pH})$$

A testidegen anyagok (gyógyszervegyületek) lipofilitását jellemző $\log P$ értékek könnyen átlátható számadatok, amelyek segítségével a molekulák lipofilitása könnyen összehasonlítható. A gyógyszerként használt vegyületek kb. 90 %-ának $\log P$ értéke 0 és 4,5 közötti érték.

A következő táblázat néhány példán keresztül demonstrálja a gyógyszermolekula abszorpcióját a szervezetbe, ami nagymértékben a $\log P$ értéktől függ (II-2. táblázat).

II-2 táblázat: Néhány gyógyszervegyület $\log P$ értéke

Gyógyszermolekula	$\log P$	Következmény
aszkorbinsav	- 1,85	passzív diffúzióval nem, aktív transzport révén abszorbeálódik
metilhomatropin-bromid	- 1,68	nem szívódik fel, így nem jut a központi idegrendszerbe
diazepám	2,82	jól felszívódik passzív diffúzió révén
amiodaron	7,57	felhalmozódik a szervezetben (felezési idő: 25 nap)

A bőrön keresztül a szervezetbe jutó gyógyszerek (testidegen anyagok) általában helyi (lokális) hatást fejtenek ki. Speciális technológiai megoldásokat jelentenek az ún. transzdermális tapaszok, melyekből a hatóanyag lassan és egyenletesen szívódik fel több órán, napon, esetleg hónapon keresztül.

A *stratum corneum*on átjutó vegyületek a bőr alsóbb rétegeit (irha, bőralja) behálózó ereken keresztül bekerülhetnek a központi vérkeringésbe. A vérellátás mértékének különbözősége következtében a bőr különböző területeiről a felszívódás hatékonysága nagy különbségeket mutat. A bőr metabolikus aktivitása alacsony.

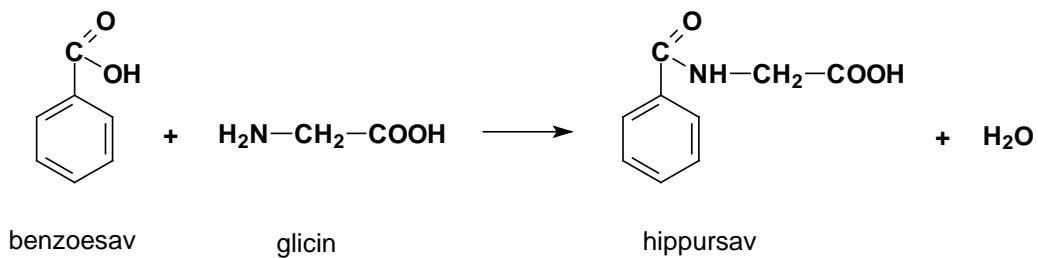
II.3 Kérdések, feladatok.

1. Röviden jellemezze a biológiai membránok szerkezetét!
2. Röviden jellemezze a vér-agy gátat képező érfal anatómiai struktúráját!
3. Röviden jellemezze a paracelluláris egyszerű diffúziót!
4. Sorolja fel a paracelluláris egyszerű diffúziót befolyásoló legfontosabb fizikai-kémiai tulajdonságokat!
5. Röviden jellemezze a transzcelluláris egyszerű diffúziót!
6. Sorolja fel a transzcelluláris egyszerű diffúziót befolyásoló legfontosabb fizikai-kémiai tulajdonságokat!
7. Fick első törvénye alapján jellemezze a transzcelluláris egyszerű diffúzió törvényszerűségeit!
8. Fick első törvényszerűsége alapján definiálja a testidegen anyagok megoszlási hányadosát (K) és permeabilitási együtthatóját!
9. Jellemezze a gyomor-bélrendszer egyes szakaszainak kémhatását (pH)!
10. Jellemezze a gyenge savak (HA) ionizált formája koncentrációja ($[A^-]$) és az oldat kémhatása (pH) közötti összefüggést!
11. Jellemezze a gyenge bázisok (B) ionizált formája ($[HB^+]$) koncentrációja és az oldat kémhatása (pH) közötti összefüggést!
12. Számítsa ki az acetilszalicilsav ($pK_s = 3,5$) nem-ionizált ($[HA]$) és ionizált ($[A^-]$) formái koncentrációinak hányadosát a gyomorban (pH 1,8)!
13. Számítsa ki a paracetamol ($pK_s = 9,7$) nem-ionizált ($[HA]$) és ionizált ($[A^-]$) koncentrációinak hányadosát a nyombélben (pH 7,1)!
14. Számítsa ki az atropínium-szulfát ($pK_s = 9,8$) nem-ionizált ($[B]$) és ionizált ($[HB^+]$) formái koncentrációinak hányadosát a nyombélben (pH 7,1)!
15. Definiálja a lipofilitást!
16. Definiálja a valódi megoszlási hányadost!
17. Definiálja a látszólagos megoszlási hányadost!
18. Számítsa ki a diklofénak ($pK_s = 4,0$; $\log P = 4,5$) látszólagos megoszlási hányadosát a gyomorban (pH 1,8)!
19. Számítsa ki a paracetamol ($pK_s = 9,7$; $\log P = 0,3$) látszólagos megoszlási hányadosát a nyombélben (pH 7,1)!
20. Számítsa ki az atropínium-szulfát ($pK_s = 9,8$; $\log P = 1,8$) látszólagos megoszlási hányadosát!

III Metabolikus átalakulások

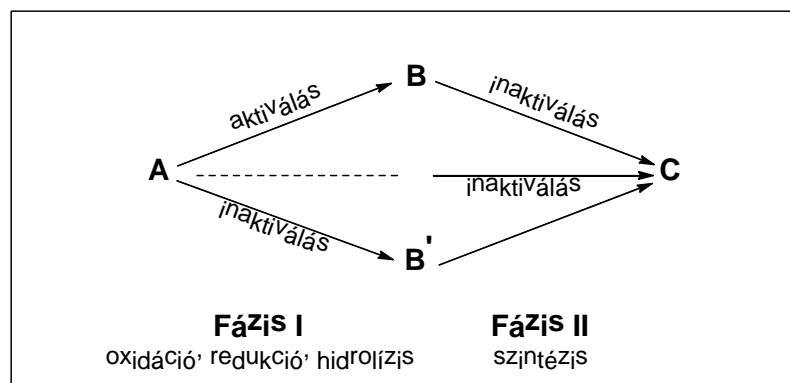
A szervezetbe kerülő gyógyszerek és egyéb testidegen anyagok (ún. xenobiotikumok) nagy része a szervezetben kémiaiilag átalakul. A gyógyszervegyületek metabolizmusának vizsgálata a 19. század első feléig nyúlik vissza. Történetileg a benzooesav glicinnel képzett konjugátuma, a *hippursav* volt az elsőként izolált metabolitok egyike, melynek szerkezetét *V. Dessaignes* 1845-ben írta le (III-1. ábra). Annak a feltételezésnek az igazolására, hogy a hippursav a szervezetbe kerülő benzooesav metabolikus transzformációjának eredményeként keletkezik, először 1841-ben *A. Ure* végzett önmagán és önkéntesek bevonásával bizonyító erejű kísérletet.

III-1. ábra: A benzooesav hippursavvá történő átalakulásának reakciója



Ezeket az első megfigyeléseket követően a 19. század második felében további metabolikus átalakulások (így pl. az oxidáció, a redukció, a szulfát-konjugáció, glükuronsav-konjugáció, merkaptursav szintézis, a metilezés és az acetilezés) váltak ismertté. A 20. század első felében a kutatások a metabolitok képződése mechanizmusainak, a mechanizmusokban résztvevő enzimek természetének megismerésére fókuszáltak. A területen folytatott munkák első összefoglalójának megírása *R. T. Williams* nevéhez fűződik, aki 1947-ben megjelent „Detoxification Mechanisms” című könyvében természetes vegyületek és szintetikus rokon származékainak detoxikációjában szerepet játszó folyamatokat foglalta össze. A szerző a könyv 1957-ben megjelent második kiadásában a testidegen anyagok egy általános sémáját írta le, melyben a testidegen anyagok metabolikus átalakulásait „Fázis 1” (oxidáció, redukció, hidrolízis) és „Fázis 2” (szintézis) csoportokra osztotta. Ezek a reakciók nem szükségszerűen detoxikációs reakciók, és akár toxikus metabolitok képződését is eredményezhetik (III-2. ábra).

III-2. ábra: A xenobiotikumok átalakulásának két lehetséges útja (*R. T. Williams*)



A funkcionalizáció és a konjugáció eredményeképpen a kiindulási vegyületeknél jóval hidrofílebb (vízoldhatóbb) származékok képződnek. Az eredeti vegyületek és metabolitjainak kiválasztása leggyakrabban a vizelettel, epével/székléttel, a tüdőn keresztül, a verejtékkel, a nyállal és a szoptatási időszak során az anyatejjel történik. Az R. T. Williams által felvázolt koncepció alapján ma a funkcionalizációval járó biotranszformációs átalakulásokat Fázis I, míg a konjugációval járó reakciókat Fázis II biotranszformációs átalakulások néven foglaljuk össze.

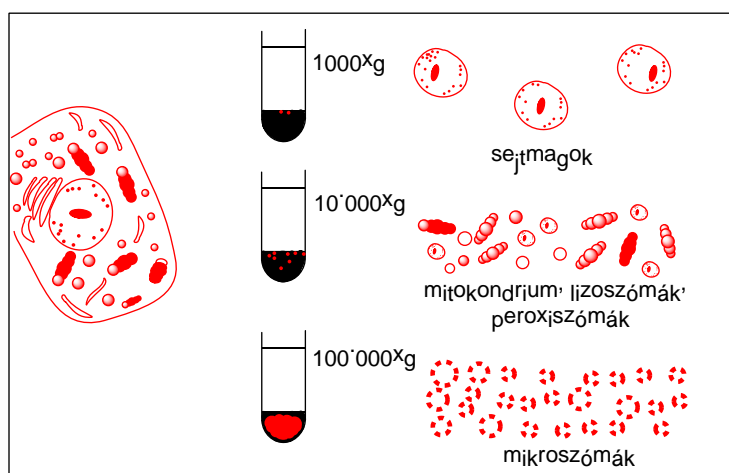
A gyógyszerek biotranszformációjának vizsgálata az 1950-es évektől a farmakológiai, a gyógyszerészi-kémiai, valamint a toxikológiai kutatások középpontjában áll. A gyógyszerek és más testidegen anyagok Fázis I és Fázis II átalakulásainak vizsgálata nagyban hozzájárult ahhoz, hogy napjainkban a korábbi vegyületekhez viszonyítva jóval kevesebb mellékhatással bíró származékokat sikerül a gyógyászatba bevezetni. Az egyes biotranszformációs utak molekuláris szintű vizsgálata alapján ugyanis megállapítható volt, hogy az eredendően detoxikáló (a testidegen anyagoknak a szervezetből történő kiürülését elősegítő) folyamatok során reaktív származékok keletkezhetnek, melyek toxikus hatások kialakulását eredményezhetik. A reaktív intermedierek képződésének egyik leggyakoribb forrása a testidegen vegyületeknek a citokróm P450 enzimek által katalizált átalakulásai.

A testidegen anyagok metabolikus átalakulásait kémiai/biokémiai szempontból a következőképpen csoportosíthatjuk:

1. Nem enzim-katalizált reakciók
2. Enzim-katalizált reakciók
 - 2.1. Mikroszómális enzimek által katalizált reakciók
 - 2.2. Nem-mikroszómális enzimek által katalizált reakciók

A metabolikus transzformációkat katalizáló enzimek mikroszómális és nem-mikroszómális csoportokba történő besorolása az elroncsolt sejtek (sejthomogenátumok) ultracentrifugálás során keletkező frakcióinak megnevezése alapján történik (III-3. ábra). A mikroszóma frakcióban megtalálható enzimek membránhoz kötve, még a mikroszóma frakció felülúszójában lévő enzimek a citoszolban és egyéb sejt folyadékokban található az intakt sejtekben.

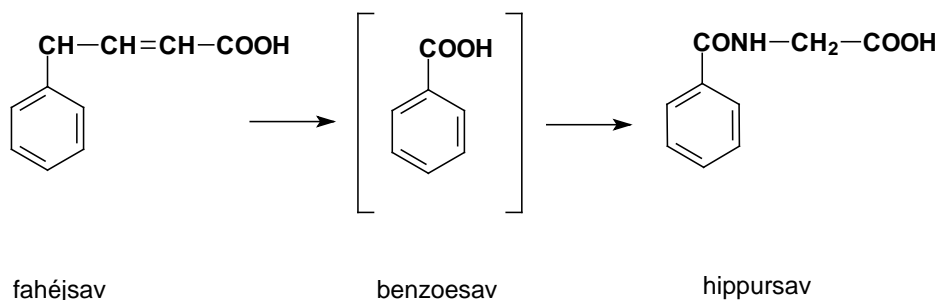
III-3. ábra: A májhomogenizátum szétválasztása sejtalkotókra centrifugálással



III.1 Fázis I – vagy funkcionálizációs reakciók

A fázis I transzformációk bizonyosan legnagyobb jelentőségű átalakulásainak, az *oxidációs folyamatoknak* a vizsgálatait *O. L. Erdmann* és *R. F. Marchand* 1842-ben publikált munkáival kezdték. A szerzők önkénteseken végzett kísérleteik eredményei alapján feltételezték, hogy a szervezetbe juttatott fahéjsav a benzooesavhoz hasonlóan hippursav kiválasztását eredményezi a vizeletben (lásd III-4. ábra).

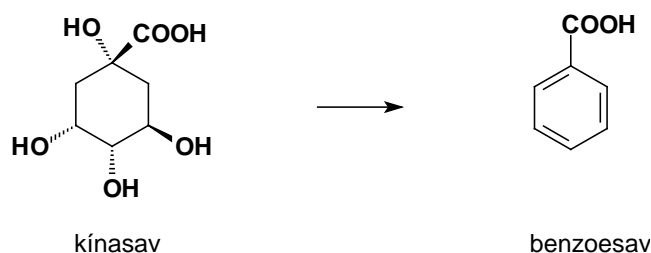
III-4. ábra: A fahéjsav hippursavvá történő átalakulásának reakciója.



A fahéjsav e feltételezett oxidációját később (1848) *F. Woehler* és *F. T. Frerichs* igazolta állatkísérletekben. Az azóta eltelt időben a gyógyszermetabolizmus oxidatív folyamatainak megismerése igen nagy haladást ért el. E folyamat egyik jelentős eredménye volt *O. Hayaishi* és *H. S. Manson* munkássága, akik az oxidatív transzformációk legjelentősebb osztályának első jellemzését írták le. E reakciók lejátszódásához szükség volt mind oxidálószerre (molekuláris oxigén), mind redukálószerre (NADPH), így a folyamatokat katalizáló enzimek a „*kevert funkciójú oxidázok*” nevet kapták.

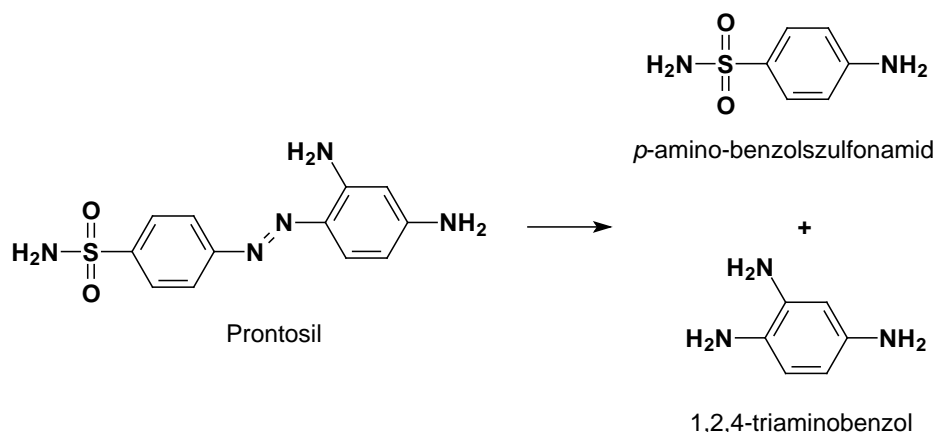
A fázis I reakciók ugyancsak fontos átalakulásait képezik a redukciós reakciók. A testidegen anyagok enzimkatalizált redukciójának első felismerése *E. Leutemann* nevéhez fűződik (1863). *Leutemann* és kollegái önmagukon elvégzett kísérletekben igazolták, hogy a kinasav a szervezetben benzooesavvá redukálódik (III-5. ábra), ami a vizelettel hippursav formájában ürül ki a szervezetből.

III-5. ábra: A kinasav benzooesavvá történő redukciójának reakciója.



A gyógyszermetabolizmus vizsgálatok egy további mérföldkövének tekinthető a *G. Domagk* és munkatársai által a *staphylococcus* fertőzések hatékony ellenszerének bizonyult *Prontosil* hatásmechanizmusának felismeréséhez vezető *reduktív metabolizmusának* megismerése, ami *A. T. Fuller* nevéhez fűződik. *Fuller* analitikai bizonyítékokat szolgáltatott, hogy a *Prontosillal* kezelt betegek vérében és vizeletében *p*-aminobenzolszulfonamid volt kimutatható (III-6. ábra).

III-6. ábra: A Prontosil *p*-aminobenzolszulfonamiddá történő redukciójának reakciója.



A fázis I metabolikus átalakulások három nagy csoportja - *oxidációs*, *redukciós* és *hidrolitikus* reakciók - közül kétségkívül az oxidációs folyamatok bírnak a legnagyobb jelentőséggel. A folyamatok természetéből adódóan azonban mind a redukciók, mind a hidrolitikus reakciók fontos szerepet játszhatnak a gyógyszer hatóanyagok aktiválásában és a szervezetből történő kiürülésüket elősegítő metabolitok képződésében. A fázis I reakciókat katalizáló enzimeket az intakt sejten belüli lokalizációjuk szempontjából membránhoz kötött és nem membránhoz kötött csoportokba sorolhatjuk, melyek a sejtthomogenizátumok centrifugálásával nyerhető ún. mikroszómális, illetve nem-mikroszómális frakciójában találhatóak (III-1. táblázat).

III-1 táblázat: A fázis I. metabolikus átalakulások legfontosabb reakcióútjai és az azokat katalizáló enzimek fő szubcelluláris lokalizációi.

Reakcióút	Enzim vagy reakció	Lokalizáció ^a
Oxidáció	Citokróm P450	mikroszóma, mitokondrium
	Flavin-monooxygenáz	mikroszóma
	Prosztaglandin-H szintetáz	mikroszóma
	Monoamin-oxidáz	mitokondrium
	Aldehyd-dehidrogenáz	mitokondrium, citoszol
	Alkohol-dehidrogenáz	citoszol
	Xantin-oxidáz	citoszol
Redukció	Azo-reduktáz	bélflóra, mikroszóma, citoszol
	Nitro-reduktáz	bélflóra, mikroszóma, citoszol
	Karbonil-reduktáz	citoszol
	Kinon-reduktáz	citoszol
Hidrolízis	Észteráz	mikroszóma, citoszol, lizoszóma
	Peptidáz	lizoszóma
	Epoxid-hidroláz	mikroszóma, citoszol

^aMagyarázat: a) A mikroszóma membránhoz kötött enzimaktivitást jelent, ahol a membrán jelentheti a sejtmembránt, vagy sejten belüli membránt; b) A citoszol a sejt citoszolban oldott enzimek aktivitását jelenti.

A következő két szakasz az oxidációs folyamatok szempontjából két legfontosabb enzimesalád legfontosabb tulajdonságait mutatja be.

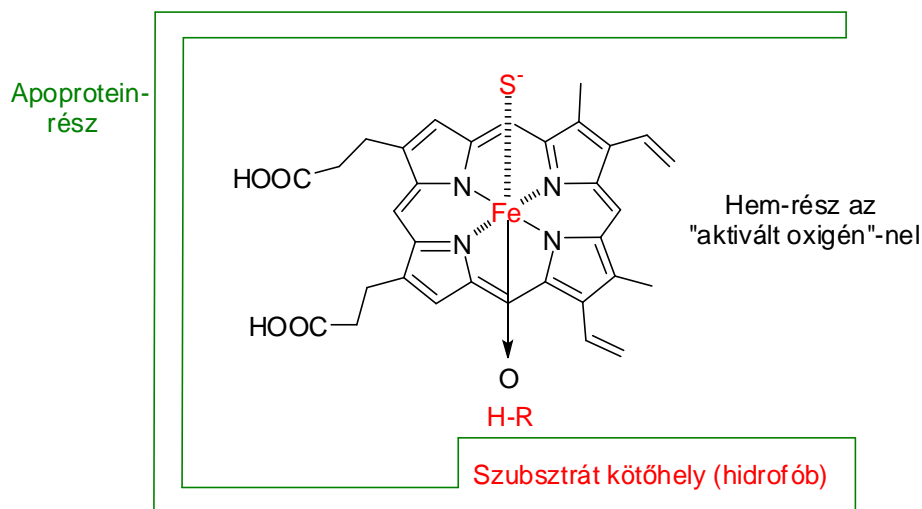
III.1.1 Oxidációs reakciók

III.1.1.1 A citokróm P450 enzimek

Mind a mikroszómális, mind a nem-mikroszómális frakcióban található oxidációs folyamatokat katalizáló enzimek közül a legnagyobb jelentőségűek az ún. „kevert funkciójú oxidázok” közé tartozó citokróm P450 (CYP450) enzimek. Egy részük csak meghatározott endogén anyagok (pl. szteroidok, zsírsavak, epesavak) transzformációjában vesz részt és fontos szerepet tölt be pl. a szteroidok bioszintézisében. Másik részük funkcióját tekintve jóval kevésbé szubsztrátspecifikus és a szervezetbe kerülő testidegen anyagok (xenobiotikumok) kémiai átalakulását katalizálja. A CYP450 enzimek vastartalmú fehérjék, melyekben a vasion a hemoglobinban is megtalálható vas-protoporfirin IX (hem) komplexként kapcsolódik az enzim fehérjéhez (III-7. ábra). Minden citokróm P450 enzim egyetlen polipeptid láncból áll, amely egy hidrofób, elektrosztatikus és kovalens kötéssel kapcsolódó vas-protoporfirin IX (hem) gyűrűt tartalmaz. Az enzim aktív helyén lévő protoporfirin-IX gyűrűben a vas hatos koordinációs számú. Négy koordinációs helyet a gyűrű négy nitrogénje foglal le, ötödik ligandumja a hem 436. cisztein tiolát anionja, míg a hatodik koordinációs hely a dioxigén molekula kötőhelye a katalitikus ciklusban. Az izoenzimek tömege 45000-60000 D között van.

A CYP450 enzimek nevüket arról a kísérleti tapasztalatról kapták, hogy az enzimek központi vasionjának redukált (vas(II)) formája a dioxigén (O_2) kötődéssel analóg módon szénmonoxidot képes megkötni, és az így keletkező komplexek 450 nm körül erős fényelnyelő képességgel rendelkeznek.

III-7. ábra: A CYP450 enzimek egyszerűsített szerkezete

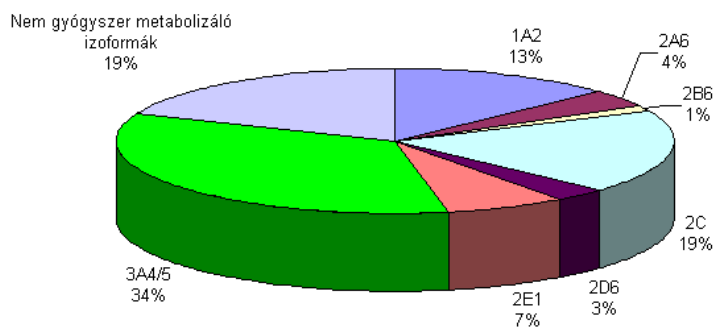


Az citokróm P450 enzimek valójában társult elektrontranszport rendszerek, melyek két enzimből – a citokróm P450-ből és egy flavoproteinből, NADPH-citokróm P450 reduktázból áll. Ezek az enzimek az endoplazmatikus retikulum foszfolipid mátrixában lokalizálódnak, ezért az un. *mikoszómális* fázis I enzimek közé tartoznak. Legfontosabb funkciójuk, hogy képesek a molekuláris oxigén (O₂) „aktiválására” és a katalizált reakció eredményeképpen a molekuláris oxigén egyik oxigénatomja – általában szénatomhoz kötődve- beépül a szubsztrát molekulába, míg a másik oxigénatom egyidejű redukciója egy vízmolekula keletkezését eredményezi. A reakciók eredményeképpen a szubsztrát molekulában egy új poláros, további konjugációs átalakulásokra is képes hidroxilcsoport alakul ki, ami elősegíti a metabolitok kiürülését a szervezetből. Ugyanakkor megemlítendő, hogy a CYP450 enzimek által katalizált reakciók néha reaktív metabolitok képződését eredményezi, ami pl. a gyógyszer hatóanyagok nem kívánt hatásainak kémiai alapjait jelenthetik.

A CYP450 enzimek több gén által kódolt enzimes család, melynek egyes képviselőit a fehérjerész hasonlósága alapján csoportosíthatjuk, illetve azonosíthatjuk. A nemzetközileg elfogadott megállapodás alapján a 40%-nál nagyobb homológiát mutató CYP enzimeket egy családba tartozónak tekintjük, és ezt a CYP rövidítés után egy arab számmal (pl. CYP1, CYP2, stb.) jelöljük. Az 55%-nál nagyobb homológiát mutató enzimek egy családon belül alcsaládokat képeznek, melyeket az egyes enzimek azonosítására használt jelölésben az arab számot követő latin betű (pl. CYP1A, CYP2C, CYP3A, stb.) jelez. Az egyes enzimek (individuális citokróm P450 gének) a latin betűt követő újabb arab szám feltüntetésével különböztethetők meg egymástól (pl. CYP1A2, CYP2A6, CYP2E1, stb.). A CYP450 enzimek e nemzetközileg elfogadott nevezéktana kizárólagosan a citokróm P450 enzimek közötti szekvencia homológián alapszik, de nincs kapcsolatban az izoenzimek tulajdonságaival vagy funkcióival.

A citokróm P450 enzimek expressziója a legnagyobb a májban, de megtalálhatók többek között a tüdőben, a vékonybélben, a vesében, a bőrben, a placentában és az agyban is. Az emberi máj mikroszóma frakcióban legalább 15 különböző CYP450 izoenzim (CYP1A2, 1B1, 2A6, 2B6, 2C8, 2C9, 2C18, 2C19, 2D6, 2E1, 3A4, 3A5, 3A7, 4A9 és 4A11) található. A CYP 3A4 és 3A5 izoenzimek mennyisége az emberi máj össz CYP450 tartalmának egyharmadát, míg a vékonybélben expresszálódó CYP450 enzimek mintegy kétharmadát teszik ki. A klinikailag jelentős gyógyszerek több mint egyharmadának biotranszformációjáért ez a két CYP450 izoforma felelős. A májban expresszálódó CYP450 izoformák megoszlását a III-8. ábra mutatja be.

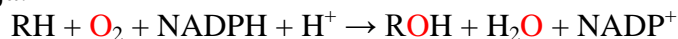
III-8. ábra: Humán CYP450 izoformák százalékos megoszlása a májban.



Az egyes CYP450 izoformák szubsztrát specificitása az egyes enzimek aktív helyei topográfiai különbözőségeinek eredményeképpen különböző. Így minden gyógyszer hatóanyag esetén azonosíthatók azok az izoformák, melyek részt vesznek azok CYP450 enzimek által katalizált metabolikus átalakulásaiban. Mivel a CYP450 enzimek indukálhatók, ezeknek az izoformáknak az ismerete alapvető fontosságú az egyes gyógyszerek, gyógyszerek és növényi drogok, gyógyszerek és élelmiszerek, stb. között kialakuló ún. metabolikus kölcsönhatások (interakciók) felismeréséhez és azok esetleges nem kívánt hatásainak elkerüléséhez.

A P450 izoenzimek nagy száma mellett még azok felépítése sem egységes a szervezetben. Az utóbbi évek kutatásai igazolták, hogy az egyes enzimeket kódoló gének több variánsa is előfordulhat, melyek által kódolt polimorf enzimek katalitikus aktivitása egymástól eltérő. A *polimorf módosulatok* magyarázatot adhatnak az egyedek közötti (interindividuális) gyógyszermetabolizáló képességekre és így vizsgálatuk a személyre szóló optimális gyógyszeres terápia egyik fontos jövőbeli eszköze.

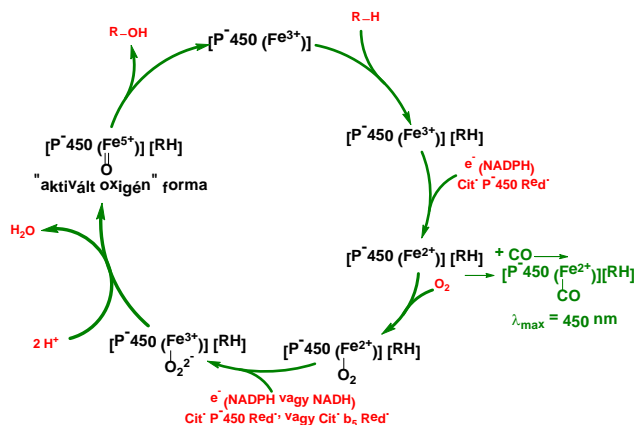
Az endoplazmás retikulum membránjában lévő P450 enzimek működéséhez szükséges elektront a NADPH, vagy a NADH szolgáltatja. A citokróm P450 enzim az elektrontranszportot létrehozó redukáló enzimekkel (NADPH-citokróm P450 reduktáz, NADH-citokróm-b₅-reduktáz) együtt *multienzim komplexet* alkot és a következő reakciót katalizálja:



Amint a III-9. ábra mutatja, a CYP450 enzimek katalitikus ciklusa nyolc egymás követő elemi lépésre bontható, melyek alifás hidroxiláció során a következők:

- A Fe(III) CYP450 reverzibilisen megköti a szubsztrát molekulát (R-H). A kötődés lehetővé teszi az első egyelektronos redukció lejátsszódását.
- A Fe(III) CYP450-szubsztrát komplex Fe(II) CYP450-szubsztrát komplexszé redukálódik. A redukáló ekvivalenst NADPH szolgáltatja. Az elektrontranszfert a NADPH-CYP450 reduktáz végzi.
- A redukált CYP450 komplex – a központi vasion hatodik ligandumaként – dioxigén (O₂) molekulát köt meg.
- Az oxi-CYP450 komplex autooxidációja során Fe(III)-szuperoxid-anion komplex keletkezik, ami – NADPH-CYP450 reduktáz, vagy citokróm-b₅ által katalizált-újabb egyelektronos redukció eredményeképpen Fe(III)-peroxi CYP komplexszé alakul.
- A Fe(III)-peroxi CYP komplex – peroxid-molekularészének heterolitikus hasadásával – vízkilépéssel egybekötve, az igen elektrofil tulajdonságú *perferril-oxenoid* [Fe(V)=O] komplexszé („aktivált oxigénforma”) alakul.
- A perferril-oxenoid komplex oxigénatomja és a szubsztrát között lejátsszódo hidrogénabsztrakció a hidroxilált termék kialakulását, valamint a CYP450 eredeti struktúrájának visszaalakulását eredményezi

III-9. ábra: A CYP450 katalitikus ciklusa. Fe = az enzim aktív helyének hem-vasatomja. R-H = szubsztrát. ROH = oxigenált szubsztrát. XOOH = peroxi-vegyület.

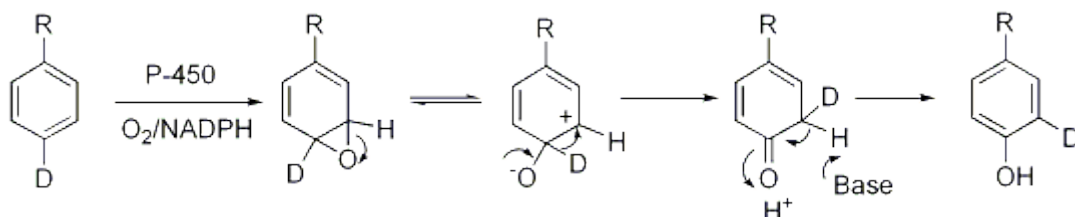


Bár az aromás vegyületek hidroxilációja, a szén-szén kettős kötéssel bíró vegyületek oxidációja és a heteroatomot tartalmazó vegyületek CYP450 katalizált oxidációinak mechanizmusa némiképpen módosul az III-9. ábrán bemutatott alifás hidroxilációhoz képest, a CYP450 katalitikus ciklus alapvető kémiája minden esetben változatlan marad.

Megjegyezendő, hogy ha a katalitikus ciklus az első elektron felvételét követően megszakad, az oxigén szuperoxid-anionként (O_2^-) kikerül a ciklusból. Ha a ciklus megszakadása a második elektron felvételét követően történik, akkor hidrogén-peroxid (H_2O_2) felszabadulás történik. NADPH és O_2 hiányában az a) lépésben keletkező komplex O_2 helyett peroxidokkal (ROOH) képes reagálni. Ekkor egy lépésben keletkezik a perferril-oxenoid $[Fe(V)=O]$ komplex. A NADPH különböző oxigéndonorokkal, így alkilhidrogénperoxiddal, hidrogénperoxiddal, peroxosavakkal való helyettesítésével levezethető alternatív mechanizmust peroxid mellékútnak (*peroxid-sönt*-nek) nevezték el.

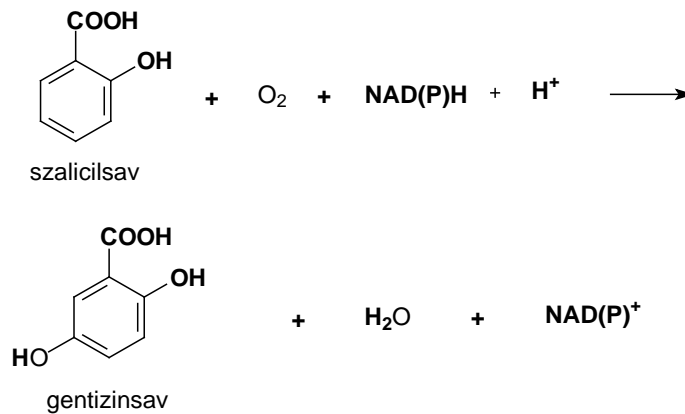
A CYP450 enzimek által katalizált reakciók legfontosabb típusai a következők:

III-10. ábra: Aromás szénatomon történő hidroxiláció.

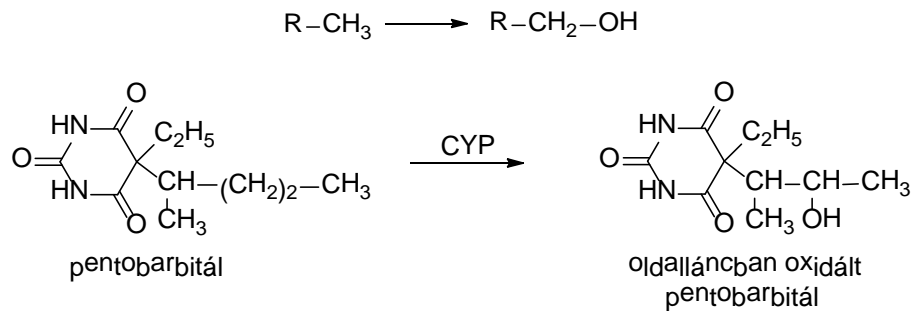


Az aromás származékok oxidatív átalakulása általában az ún. NIH shift mechanizmussal megy végbe. Hasonlóan más π -elektron rendszert tartalmazó vegyületek oxidációjához, ebben az esetben is először epoxidáció megy végbe az aromás gyűrűn. A szomszédos oxirán gyűrűben található szénatomhoz történő hidridion-vándorlás után, az oxirán gyűrűfelnnyílásával kapjuk meg a karbonil formát. Az ezt követő oxo-enol tautomer átalakulás végül a megfelelő fenol kialakulásához vezet.

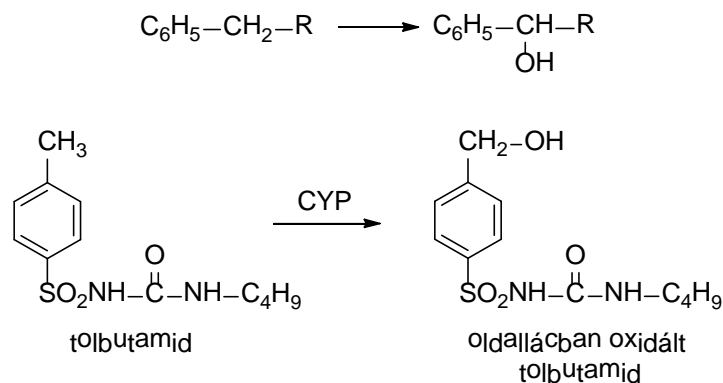
A szalicilsav CYP2C9 enzim által katalizált oxidációjának egyszerűsített reakcióegyenletét az alábbi ábra mutatja be:



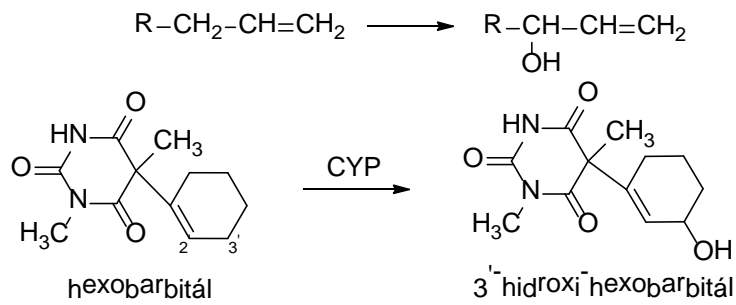
III-11. ábra: Alifás szénatomon történő hidroxiláció.



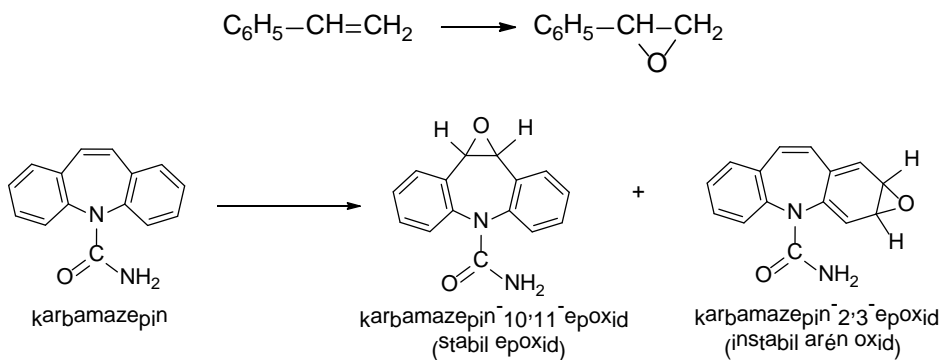
III-12. ábra: Benzil-szénatom oxidációja



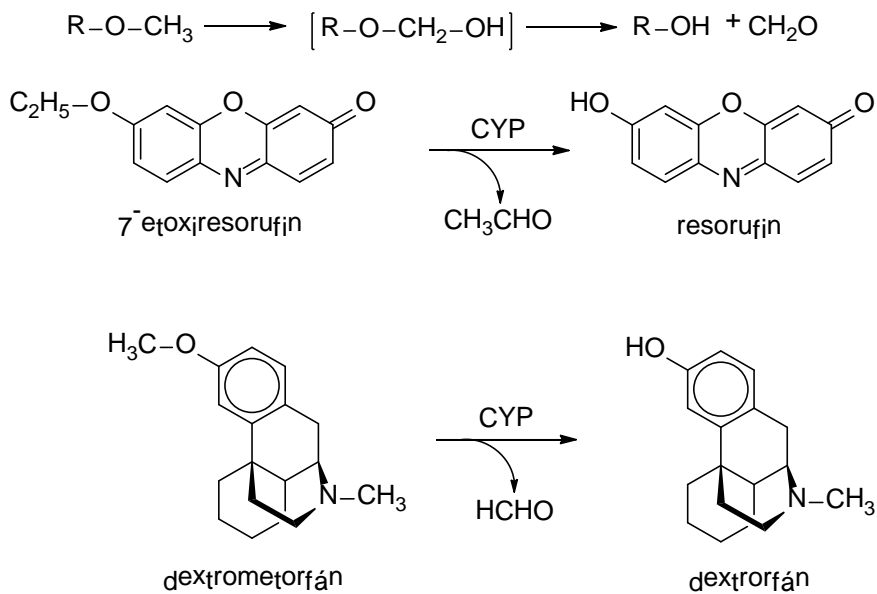
III-13. ábra: Allil szénatom oxidációja

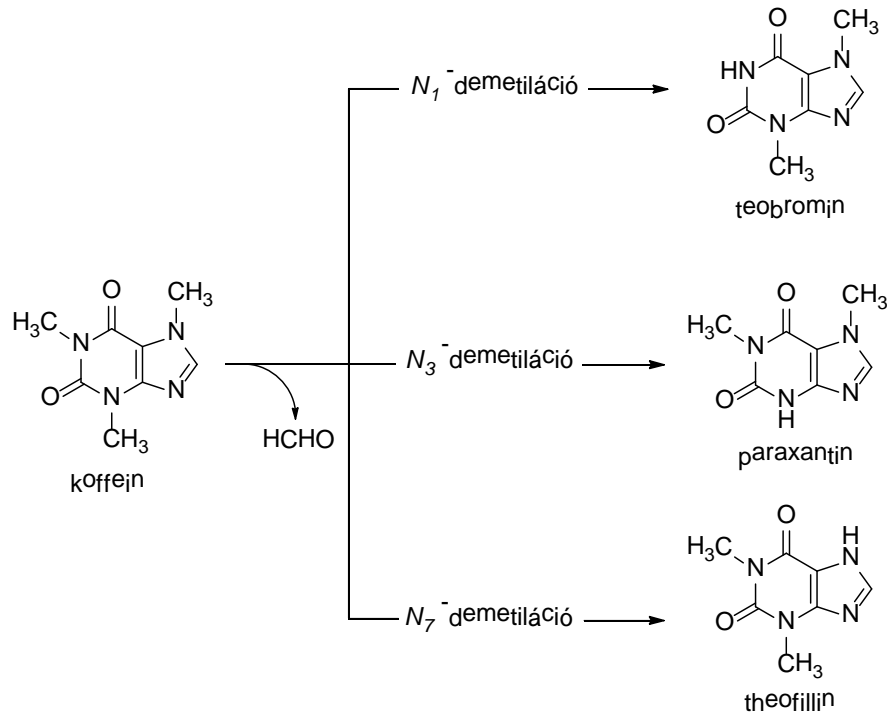
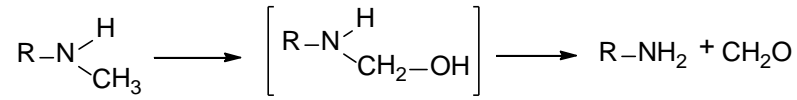
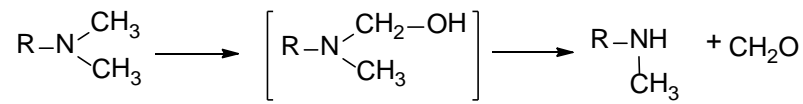
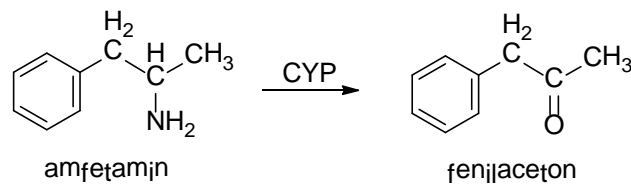
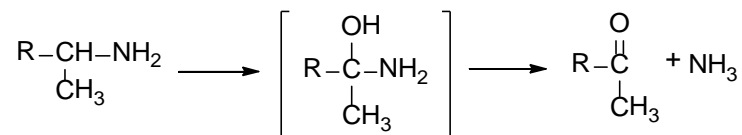


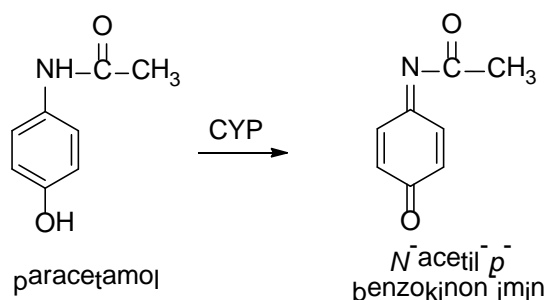
III-14. ábra: Szén-szén kettős kötésen történő epoxidáció.



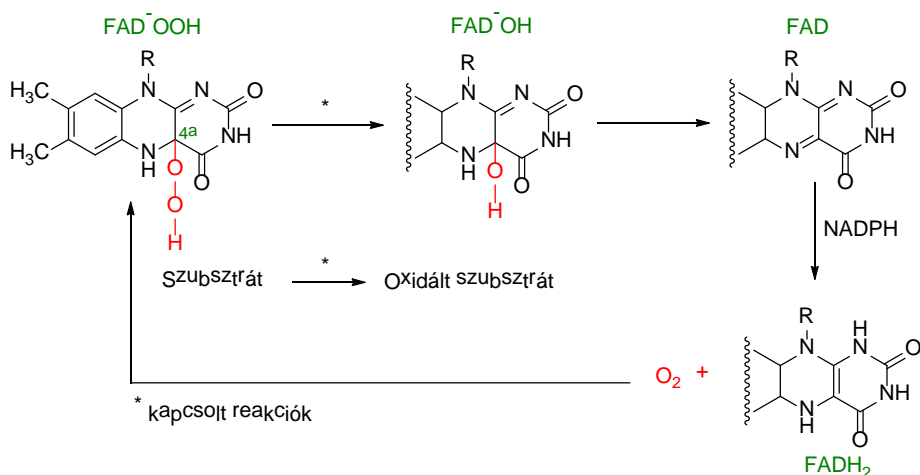
III-15. ábra: O-Dealkiláció



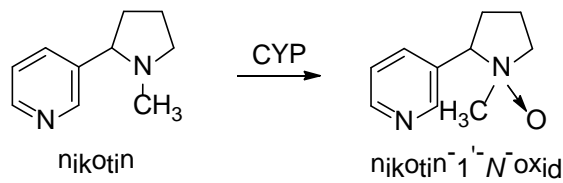
III-16. ábra: N-Dealkiláció**III-17. ábra:** Oxidatív deamináció

III-18. ábra: Dehidrogénezés**III.1.1.2 Flavin Monooxygenáz (FMO) enzimek**

A fázis I oxidatív reakciók katalízisében fontosabb szerepet játszó további enzimek a *nem hem-tartalmú*, ugyancsak *mikroszómális* lokalizációjú flavin-adenin-dinukleotid (FAD) tartalmú monooxygenáz (FMO) enzimek. A flavin-tartalmú monooxygenázok flavin-adenin-dinukleotid (FAD), dioxidigén (O_2) és NADPH kosubsztrátok jelenlétében képesek katalizálni a testidegen vegyületek oxidatív metabolizmusát. Az FMO enzimek szerkezete, a katalizált reakciók mechanizmusa alapvetően különbözik a CYP450 enzimek által katalizált reakciókétól. Ennek eredményeképpen az FMO enzimek szubsztrátspecifitása jóval szélesebb, mint a CYP450 enzimeké. Ellentétben a CYP450 enzimekkel, melyek elsősorban szénatomon lejátszódó oxidációs folyamatokat katalizálnak, az FMO enzimek preferáltan a nitrogén-, kén-, a foszfor- és a szelénatomok oxidációs reakcióit katalizálják. Az FMO enzimek által katalizált reakciók mechanizmusával kapcsolatosan megemlítendő, hogy – ellentétben a CYP enzimeknél tapasztaltakkal – a dioxidigén molekula aktiválása a flavin molekularész (FAD) részvételével hidroperoxid formában történik, a szubsztrát molekulának az aktív helyhez történő kötődését megelőzően. A flavin monooxygenáz enzimek katalitikus ciklusát a III-19. ábra mutatja be.

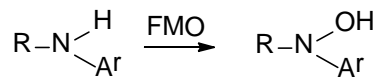
III-19. ábra: A flavin monooxygenáz enzimek katalitikus ciklusa

III-22. ábra: Tercier aminok oxidációja N-oxid-származékokká



További vegyületek: atropin, klórpromazin, difénhidramin, imipramin

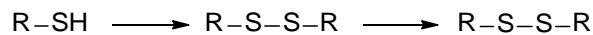
III-23. ábra: N-alkil-arilaminok oxidációja hidroxilaminokká



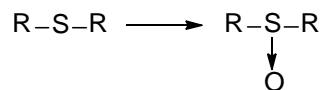
III-24. ábra: 1,1-Diszubsztituált hidrazinok oxidációja N-oxid származékokká



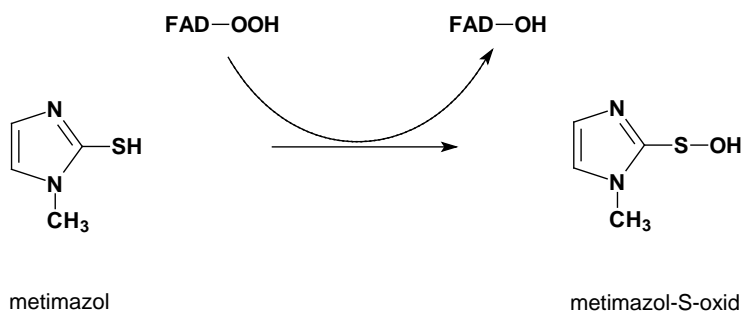
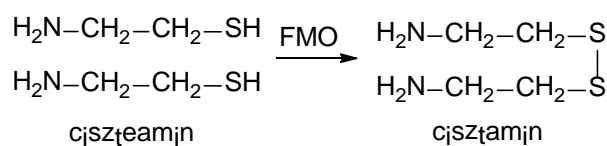
III-25. ábra: Kénvegyületek oxidációja



Tiolok és diszulfidok oxidációja



Tioéterek oxidációja



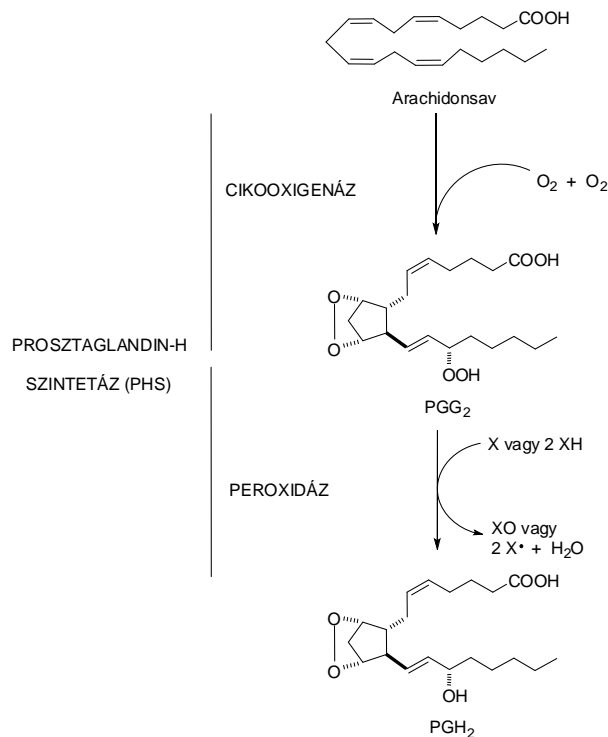
További metabolitok: cimetidin, ranitidin, szulindák, tioridazin.

III.1.1.3 Peroxidáz enzimek

A testidegen anyagok oxidatív biotranszformációja általában redukált piridin kofaktor (NADPH vagy NADH) részvételével játszódik le. A kivételek egyik típusát a peroxidáz enzimek által katalizált reakciók képviselik, melyek a hidrogén-peroxid (vagy alkilhidroperoxidok) redukcióját a szubsztrát oxidációját kapcsolják össze. A testidegen anyagok metabolizmusában számos peroxidáz enzim vesz részt, melyek közül kiemelkedő jelentőségű a prosztaglandin-H szintetáz (PHS), a laktoperoxidáz, valamint a mieloperoxidáz.

PHS a legrészletesebben vizsgált peroxidáz a testidegen anyagok metabolizmusában résztvevő peroxidáz enzimek között. Ez az enzim kétféle katalitikus aktivitással rendelkezik: 1. ciklooxigenáz, ami az enzim endogén szubsztrátját (arachidonsav) két dioxigén molekula (O_2) felhasználásával az endoperoxid-hidroperoxid PGG_2 származékká alakítja; valamint 2. peroxidáz, ami a testidegen anyag oxidációjának kíséretében a PGG_2 molekulát a prosztaglandin-H (PGH_2) molekulává konvertálja. A keletkező PGH_2 kiindulási anyaga számos prosztaglandin, tromboxán és prosztaciklin származéknak (III-26. ábra).

III-26. ábra: Testidegen anyagok kooxidációja PHS részvételével (CD 163. o)



A PHS és más peroxidázok fontos szerepet játszanak a testidegen anyagok oxidatív transzformációjában elsősorban az extrahepatikus szervekben, szövetekben, ahol a citokróm P451 enzimek expressziója alacsony.

A PHS enzim – a peroxidáz enzimek között egyedülként – azzal a tulajdonsággal rendelkezik, hogy képes mind hidroperoxid-származékokat generálni, mind peroxidáz-dependens reakciót katalizálni.

Amint a III-26. ábrán is látható, a PHS által katalizált reakciók szabad arachidonsavat igényelnek. Más peroxidáz enzimek által katalizált reakciók

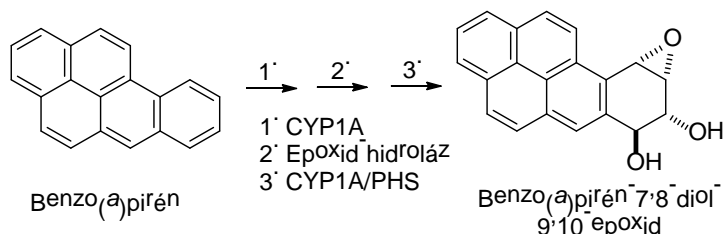
alkilhidroperoxidok jelenlétét igénylik, melyek szintjét a glutationperoxidáz és a kataláz enzimek aktivitása határozza meg.

A peroxidázok hemoproteinek, melyek közeli rokonságot mutatnak a citokróm P450 enzimekével. A peroxidázok katalitikus ciklusában képződő erős elektrofil tulajdonságú $\text{Fe(V) = O}]^{3+}$ perfenil-oxenoid átmeneti termék szerkezete analóg a citokróm P450 enzimek perfenil-komplexéhez (lásd III-9. ábra). Az enzimek heteroatomok oxidációját és aromatizációs reakciókat katalizálnak.

Néhány esetben a testidegen anyagok peroxidázok által katalizált oxidációjában a peroxid-oxigénatomok egyike közvetlenül a szubsztrát molekulába épül be (lásd III-26. ábra).

E reakciók egyik példáját jelenti a benzo[a]pirén aktiváló metabolizmusának második lépése, melyben a bizonyítottan karcinogén hatású 9,10-epoxidszármazék képződik (III-27. ábra).

III-27. ábra: A benzo[a]pirén metabolikus aktivitásának mechanizmusa



Bár a hidroperoxid kosubsztrát peroxid-oxigénjének a szubsztrát molekulára történő transzferje a leggyakoribb mechanizmusa a peroxidázok által katalizált reakcióknak, más mechanizmusok útján is lejátszódhat a reakció. Amint azt a III-26. ábra mutatja a testidegen anyagok, mint pl. aromás aminok, fenolok, elektron-donorként is részt vehetnek a reakciókban, és így azok szabad gyökökké oxidálódnak a hidroperoxid redukciójával egyidejűleg.

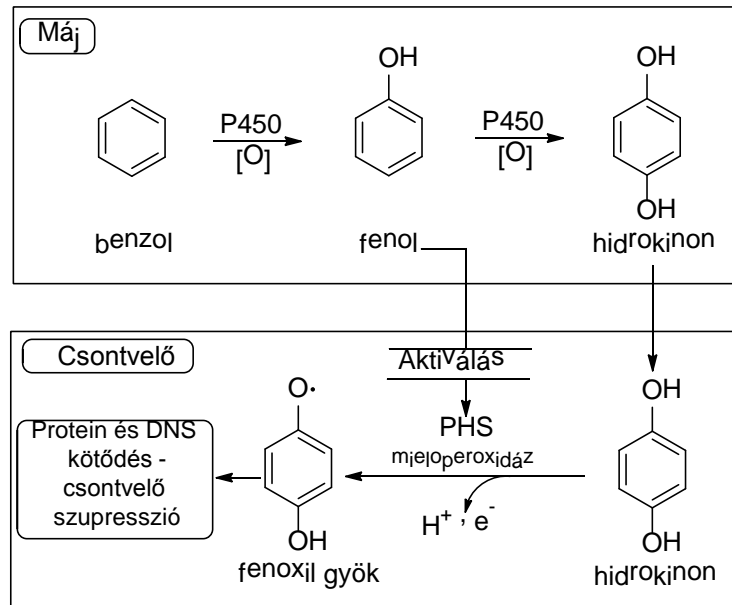
Az alkilhidroperoxid ebben az esetben is alkohollá redukálódik a reakcióban, de a peroxid-oxigén nem épül be a szubsztrát molekulába, hanem – a testidegen anyagtól kapott elektront átvéve – vízzé redukálódik. (Egy hidroperoxid molekula mindkét oxigén atomja egy-egy elektront vesz fel, így két testidegen molekula – egy-egy elektron leadásával – vesz részt a reakcióban.)

A legfontosabb vegyületcsaládok, melyek egyelektronos oxidációban részt vesznek a peroxidázok által katalizált reakciókban az

- a. aromás aminok,
- b. fenolok,
- c. kinonok, valamint
- d. policiklusos aromás szénhidrogének.

Utóbbi átalakulásra szolgált példát a benzol csontvelő károsító hatása, ami a PHS-gátló indometacinnal megakadályozható, kísérletes bizonyítékot adva a peroxidáz-reakció részvételére a folyamatban. Ugyanakkor, az is igazolható volt, hogy a peroxidáz-reakcióban résztvevő hidrokinok a benzol citokróm P450-katalizált reakcióiban képződik (III-28. ábra).

III-28. ábra: A CYP és a PHS enzimek részvétele a benzol mielotoxikus metabolitjának kialakulásában



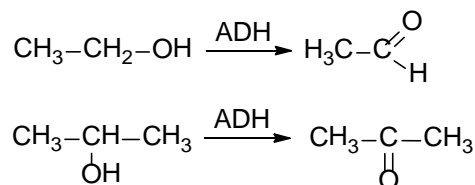
A PHS enzim részvételét a paracetamol hepatotoxikus hatásának kialakulásában a IV. fejezet mutatja be.

III.1.1.4 Nem-mikroszómális oxidációk (válogatás)

III.1.1.4.1. Alkohol-dehidrogenáz (ADH) enzimek

Az alkohol dehidrogenáz cink-tartalmú NAD⁺-dependens nem-mikroszómális enzim. Legnagyobb mennyiségben a májban, a vesében, a tüdőben és a gyomor-bél rendszer mukózában expresszálódik. Az emberi ADH 40 kDa tömegű alegységből álló fehérje. Az ADH enzimek – a felépítő egységek különbözősége alapján – négy fő osztályba csoportosíthatók.

Az alkohol dehidrogenázok az alkohokok széles spektrumát képesek oxidálni. Bár az egyes osztályba tartozó izoenzimek szelektivitása különböző, általánosságban megállapítható, hogy az enzimek elsősorban az elsőrendű alkohokok aldehidekké történő oxidációját katalizálják. Néhány másodrendű alkoholt képesek a megfelelő ketonná oxidálni, számos másodrendű alkohol azonban – hasonlóan a harmadrendű alkohokokhoz – változatlan vagy konjugált metabolitjának formájában ürül ki a szervezetből.



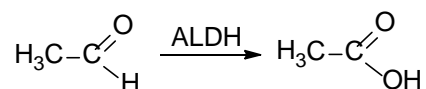
Az alkohol dehidrogenáz-katalizált oxidáció a szervezetbe kerülő etanol fő metabolikus útvonala, de a mikroszómális CYP2E1 szintén jelentős szerepet játszik az etanol oxidatív metabolizmusában. A szervezetbe kerülő etanol mintegy kétharmad részét az alkohol dehidrogenáz, míg a fennmaradó részét a CYP2E1 enzimek végzik.

Megjegyzendő, hogy az etanol a CYP2E1 enzim induktora, így a rendszeres alkohol fogyasztók emelkedett CYP2E1 aktivitásának következtében az átlagnál intenzívebbé válik az enzim szubsztrátjainak metabolizmusa.

A metanol jól ismert toxikus hatásainak (metabolikus acidózis, látáskárosodás) kialakulása a vegyület alkohol dehidrogenáz által katalizált reakciójában keletkező formaldehid, illetve a formaldehid aldehyd dehidrogenáz által katalizált reakciójában keletkező hangyasav hatásainak eredménye. A gyomor-bél rendszerből jól felszívódó metanol vérből történő eliminációja jóval lassabb, mint az etanolé, ami a két alkohol dehidrogenáz által katalizált oxidációja sebességeinek különbözőségeiből adódik. A két alkohol különböző kinetika alapján történő oxidációja az alapja, hogy az akut metanol mérgezés megelőzése etanol bevitellel végezhető. A másik lehetőség az alkohol dehidrogenáz enzimet gátló 4-metilpirazol alkalmazása.

III.1.1.4.2. Aldehyd-dehidrogenáz (ALDH) enzimek

A NAD-dependens aldehyd dehidrogenáz enzimek az endogén és exogén aldehydeid karbonsavakká történő oxidálják.



Emberben 12 aldehyd dehidrogenáz izoforma ismert, melyek legnagyobb mennyiségben a májban, a gyomorban, a tüdőben, a vesében, valamint az izmokban expresszálódnak. Az intakt sejtekben a citoszolban vagy a mitokondriumban találhatóak.

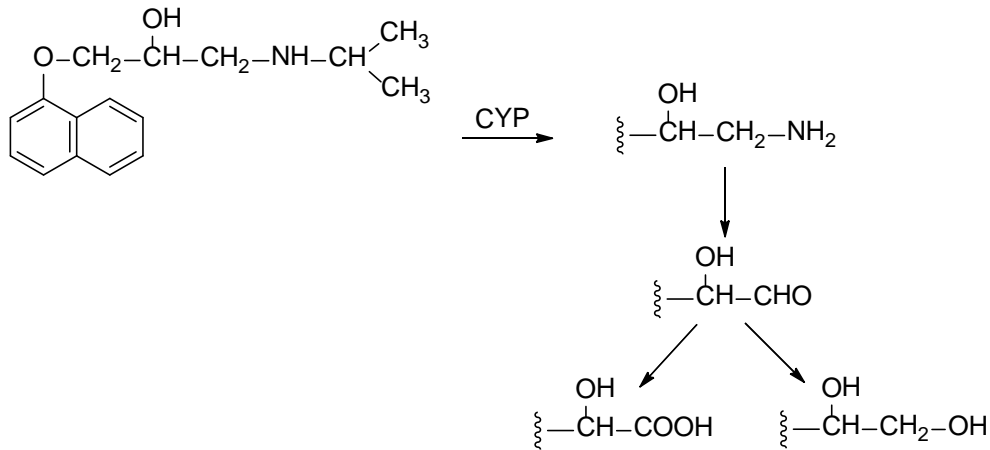
Az etanol oxidációjában keletkező acetaldehyd oxidációját a legnagyobb aktivitással az ALDH2 izoforma végzi. Az ALDH2 enzim polimorfizmusa emberben jól dokumentált. Az ázsiai (japán, kínai, koreai, tajvani, és vietnámi) populáció nagy hányada (45-50 %) körében csökkent az ALDH2 izoforma aktivitása. Így e populáció körében kevés alkohol fogyasztást követően is megjelennek az acetaldehyd okozta mellékhatások (arc kipirulása, szédülés, stb.).

Más ALDH formák genetikai polimorfizmus által determinált csökkent aktivitása molekuláris alapját képezi néhány káros folyamatnak. Így például, az ALDH4 izoforma csökkent aktivitása – a prolin metabolizmusának megváltozása eredményeképpen – II. típusú hiperprolinémiát okoz, ami csökkent értelmi képességet és görcskészséget eredményez.

III.1.1.4.3. Monoamin-oxidáz (MAO) enzimek

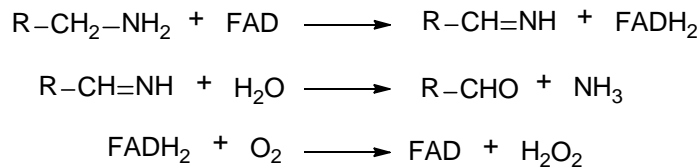
A monoamin-oxidáz (MAO) enzimek – együtt a diamin-oxidáz (DAO) és poliamin-oxidáz (PAO) enzimekkel – a primer, szekunder és terciér aminok oxidatív deaminációját katalizálják. A testidegen aminovegyületek elsősorban a MAO enzimek szubsztrátjai.

A MAO enzimek megtalálhatóak a májban, a vesében, a vékonybélben, az agyban és a vérlemezkékben, a sejtekben a mitokondriumok külső membránjába beágyazódva. Emberben a MAO enzimek két formája (MAO-A és MAO-B) ismert. A MAO-A izoforma preferált szubsztrátja a *serotonin*, a *norepinefrin*, valamint a *propranolol* dealkilált formája. Utóbbi metabolikus utat a III-29. ábra mutatja be.

III-29. ábra: A propranolol metabolizmusa

A MAO-B izoforma preferált szubsztrátjait képviseli a nem fenolos béta-fenilalkilaminok és a benzilamin.

A MAO enzimek flavin (FAD) tartalmú enzimek, melyek katalitikus ciklusát a III-30. ábra mutatja be.

III-30. ábra: A monoamin-oxidáz enzimek működésének mechanizmusa

A katalitikus ciklus első lépésében a szubsztrát iminszármazékká oxidálódik, miközben a FAD FADH₂ származékká redukálódik. A következő lépésben – az imin hidrolízisének eredményeképpen – egy vízmolekula oxigénatomja épül be a szubsztrátba, miközben a szubsztrát aldehiddé oxidálódik és ammónia válik szabaddá.

A katalitikus ciklus befejező lépése a FAD dioxigén (O₂) által történő regenerálása, miközben az hidrogén-peroxiddá redukálódik. A keletkező hidrogén-peroxid reaktív oxigénszármazékok (ROS) képződését eredményezheti.

III.2 Fázis II – vagy konjugációs reakciók

A Fázis II reakciók jellegzetessége, hogy az eredeti, vagy már korábbi metabolikus transzformáció(k) során módosult szerkezetű vegyületek (metabolitok) a szerkezet néhány kismolekulájával reagálva, a reagáló molekuláknál általában kevésbé lipofil (jobb vízdékonyságú) és kevésbé toxikus konjugációs, addíciós vagy szubsztitúciós terméké alakulnak. A Fázis II átalakulások legfontosabb típusait, az átalakulásokat katalizáló enzimeket és az enzimek celluláris lokalizációját a III-3. táblázat foglalja össze.

III-2 táblázat: A fázis II. metabolikus átalakulások legfontosabb reakcióútjai és az azokat katalizáló enzimek fő szubcelluláris lokalizációi.

Reakcióút	Enzim	Lokalizáció ^a
Glükuronid konjugáció	UDP-glükuronil-transzferáz	mikroszóma
Szulfát-konjugáció	Szulfotranszferáz	citoszol
Glutation-konjugáció	GSH S-transzferáz	citoszol, mikroszóma
Aminosav konjugáció	Acil-CoA: aminosav N-aciltranszferáz	citoszol, mitokondrium
Acetilezés	N-acetil-transzferáz	citoszol
Metiláció	Metiltranszferáz	citoszol, mikroszóma

^aMagyarázat: a) A mikroszóma membránhoz kötött enzimaktivitást jelent, ahol a membrán jelentheti a sejtmembránt, vagy sejten belüli membránt; b) A citoszol a sejt citoszolban oldott enzimek aktivitását jelenti.

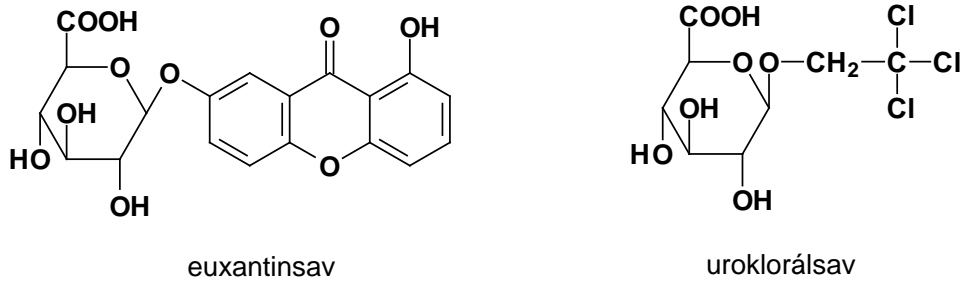
A konjugációs reakciók a gyógyszerhatóanyagok metabolikus transzformációinak egyik legfontosabb csoportját képezik. A legtöbb gyógyszervegyület lipofil tulajdonságú, ezért jól felszívódik, de lassan ürül ki a szervezetből. A konjugációs reakciók lejátszódásának eredményeképpen általában ionos, hidrofil tulajdonságú molekulák kapcsolódnak a hatóanyag molekuláihoz (vagy Fázis I reakcióban módosított szerkezetű metabolitjaihoz), növelve azok vízoldékonyságát. A gyógyszervegyületek legnagyobb hányada konjugátumként, az epével és/vagy a vizelettel ürül ki a szervezetből.

Hosszú időn át a két fő konjugációs reakció (a glükuronid-konjugáció és a szulfátkonjugáció) eredményeképpen képződő származékokat farmakológiailag inaktív/csökkent aktivitású metabolitoknak tartották. Ez az általánosított kép azonban idővel megváltozott. Így többek között felismerték, hogy emberben a morfin-6-glükuronid a morfinnál erősebb fájdalomcsillapító hatással rendelkezik, illetve, hogy a vérnyomáscsökkentő minoxidil aktív formája a gyógyszervegyület szulfátkonjugátuma. A legtöbb konjugátum a nem-konjugált formánál kevésbé toxikus származék. Ismeretesek azonban reaktív konjugált metabolitok is (pl. a diklofenák glükuronid-származéka), melyek toxikus hatások kialakulásában játszhatnak szerepet.

III.2.1 Konjugáció glükuronsavval

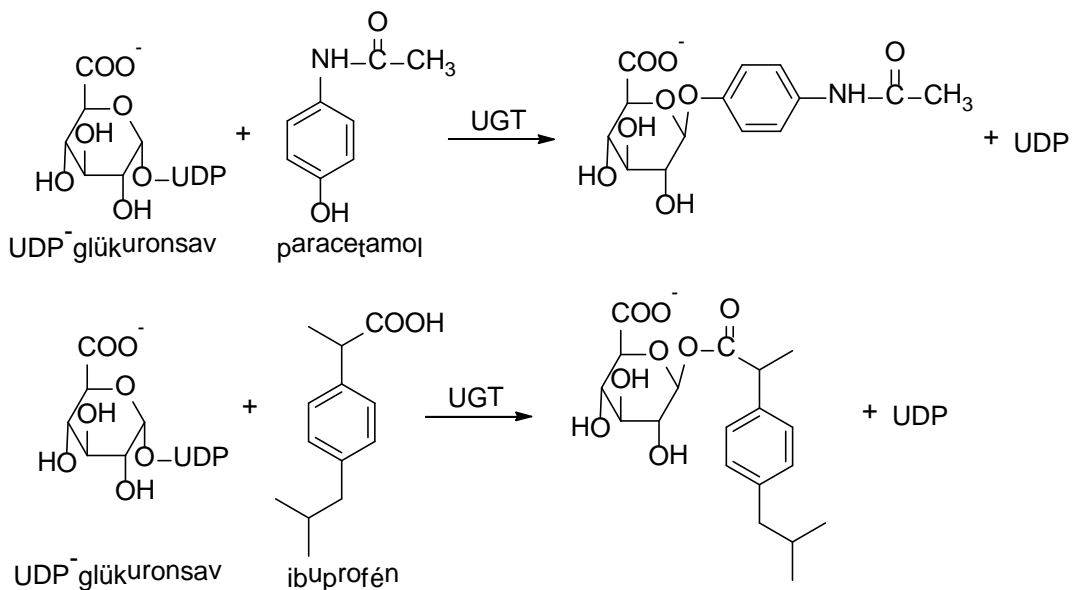
A glükuronid-konjugáció a legfontosabb Fázis II reakciónak tekinthető. Jelentősége elsősorban a máj magas glükuronsav kínálatának, valamint a konjugáció szempontjából számításba vehető funkciós csoportokkal (pl. karboxil-, hidroxil-, merkaptó- és aminocsoport) rendelkező gyógyszervegyületek/metabolitok nagy számának tulajdonítható. Az elsőként szerkezetileg jellemzett glükuronsav-konjugátum a mangólevelet fogyasztó tehének vizeletéből izolált *euxantinsav* volt (III-31. ábra). Az emberi vizeletből elsőként izolált glükuronid-konjugátum az *uroklorálsav* volt (III-31. ábra), melynek leírása *J. Von Mering* és *F. Musculus* nevéhez fűződik. A szerzők *klorálhidráttal* kezelt egyének vizeletéből mutatták ki a vegyületet.

III-31. ábra: Az euxantinsav és uroklorálsav szerkezeti képletei.



A glükuronid-konjugáció molekuláris mechanizmusának megismerésében alapvető jelentőséggel bír *G. J. Dutton* és *I. D. E. Storey* munkássága, akik leírták az uridin-difoszfoglükuronsav (UDP-glükuronsav) kofaktor szerepét a glükuronidálási folyamatokban. A glükuronid-konjugáció általános mechanizmusát, a paracetamol és az ibuprofén glükuronid-konjugátuma képződésének példáján, a III-32. ábra mutatja be.

III-32. ábra: A paracetamol és az ibuprofén glükuronsav-konjugátummá történő átalakulásának UDP-glükuronil-transzferáz (UGT) enzimek által katalizált reakciója.



Az aktivált glükuronsav (*UDP-glükuronsav*) és az akceptor vegyület (példánkban a paracetamol) közötti reakciót az *UDP-glükuroniltranszferáz* (UGT) enzimek katalizálják (III-32 ábra). Az UGT enzimek, a CYP450 enzimekhez hasonlóan, egy több gén által kódolt enzimes család tagjai, melyek a máj, a bélfal epithel sejtek, és néhány további extrahepatikus szövet (pl. vese, agy, tüdő) endoplazmatikus retikulum membránjában lokalizálódnak. A CYP450 és az UGT enzimek e speciális lokalizációja igen jelentős szerepet tölt be a CYP450 enzimek által katalizált reakciókban képződő reaktív (elektrofil) metabolitok semlegesítésében azokban a szervekben, szövetekben, ahol mind a CYP450, mind az UGT enzimek expresszálódnak.

A glükuronid-konjugátumok poláris, vízben jól oldódó metabolitok, melyek az epével, vagy a vizelettel ürülnek ki a szervezetből. Azt hogy a konjugátumok az epével, vagy a vizelettel ürülnek, alapvetően a glükuronsav molekularészhez kapcsolódó

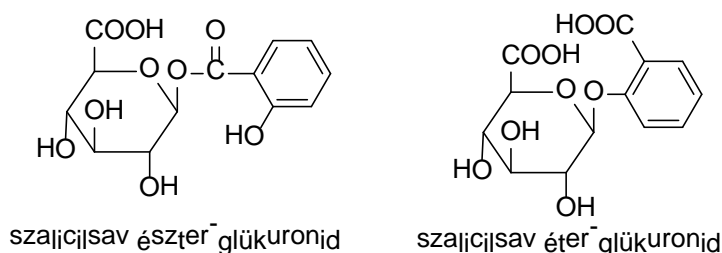
vegyület molekulatömege határozza meg. A legtöbb metabolit kevésbé toxikus mint a konjugációban résztvevő gyógyszervegyület (xenobiotikum). A karboxilcsoporttal bíró vegyületek glükuronsav-konjugátumai (észterkötéses O-glükuronidok) között azonban ismertek toxikus tulajdonságokkal rendelkező metabolitok (pl. a diklofenák glükuronid-származéka).

Az ismert glükuronsav-konjugátumok szerkezetileg öt csoportba sorolhatók, melyek néhány példával, a következők:

1. Ésterkötéses O-glükuronidok: pl. paracetamol, szalicilsav, morfin, ösztradiol
2. Észterkötéses O-glükuronidok: diklofenák, szalicilsav naproxén, ibuprofén
3. N-glükuronidok: amitriptilin, imipramin, meprobamát
4. S-glükuronidok: tiofenol, dietil-ditiokarbamát
5. C-glükuronidok: fenilbutazon, szulfinpirazon

A szalicilsav éster- és észter-típusú glükuronid-konjugátumainak szerkezetét a III-33. ábra mutatja be.

III-33. ábra: A szalicilsav észter- és éster-típusú glükuronid-konjugátumainak szerkezete.



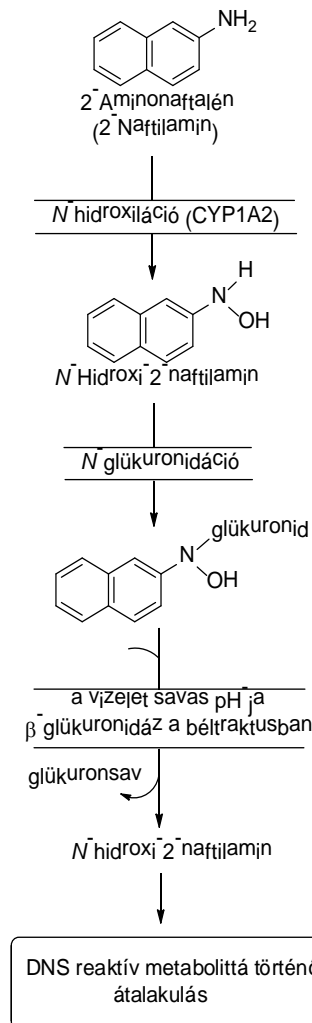
A CYP450 enzimekhez hasonlóan, az aminosav sorrend hasonlósága alapján az UGT enzimek is családokba, illetve alcsoportokba oszthatók. A humán UGT enzimek két családba, UGT1 (UGT1A1, UGT1A3, UGT1A4, UGT1A5, UGT1A6, UGT1A7, UGT1A8, UGT1A9, UGT1A10) és UGT2 (UGT2A1, UGT2B4, UGT2B7, UGT2B10, UGT2B11, UGT2B15, UGT2B17) sorolhatók. A két család szubsztrátspecifitása nagymértékű hasonlóságot mutat. A bélfalak epithel sejtekben expresszáldó UGT enzimek képesek a *per os* a szervezetbe kerülő, fenti funkciós csoportokkal rendelkező gyógyszervegyületeket glükuronid-konjugátummá alakítani, ezáltal azok *per os* biohasznosulását csökkenteni (ún. *first pass metabolizmus*).

Ugyanakkor a bélfal epithel sejtek rendelkeznek a glükuronid-konjugátumokat bontó béta-glükuronidáz aktivitással is. A hidrolízis következtében a májban szintetizáldó, az epével a vékonybélbe kiválasztóldó gyógyszer-konjugátumból szabaddá válik az eredeti gyógyszermolekula, így ismét lipoidoldékonyvá válik, és ismételen felszívóldhat a bélhuzamból. A gyógyszereknek a máj és a bélhuzam között így kialakuló körforgalmát *enterohepatikus körforgásnak* nevezzük.

A glükuronsav-konjugáció általában nem-toxikus, a konjugátatlan vegyületeknél jóval vízdékonyabb, a szervezetből kiürüldó metabolitok képzóldését eredményezi. Néhány esetben azonban, a glükuronsav-konjugáció toxikus hatások molekuláris alapját képezheti.

Így például a húgyhólyag daganatot okozó aromás aminok – pl. 2-aminonaftalin – reaktív metabolittá történő átalakulás során a vegyület előbb citokróm P450 enzim – katalizált reakcióban hidroxilamin–származékká alakul, ami *N*-glükuronidot képez (III-34. ábra). A vizeletben és a húgyhólyagban akumulálódó *N*-glükuronid a vizelet savas kémhatásán nem stabil és a reaktív 2-(hidroxilamino)-naftalin gyökké alakul. Az *N*-centrumú szabad gyök nagy reaktivitása eredményeképpen képes a DNS-szerkezetét kovalensen módosítani, és így a karcinogenezis folyamatában inicializáló szerepet betölteni.

III-34. ábra: A 2-aminonaftalin karcinogén metabolittá történő átalakulása



Hasonló mechanizmusok alapján értelmezhető az aromás aminok vastagbél-daganat inicializáló hatása. Ez esetben azonban a képződő *N*-glükuronidok hidrolízisét a bélflóra béta-glükuronidáz enzimek katalizálják.

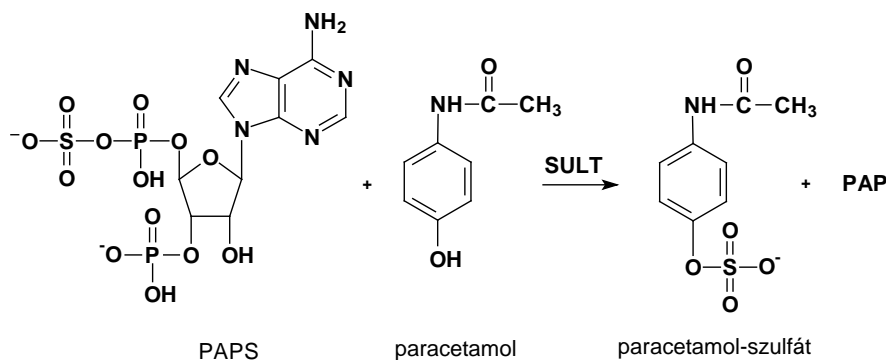
A reaktív glükuronsav metabolitok egy másik szerkezeti csoportját az ún. *acil-glükuronidok* képezik, melyek lehetséges reaktivitását a diklofenák toxikus hatását tárgyaló VI. fejezet mutatja be.

III.2.2 Konjugáció szulfáttal

A szulfátkonjugáció (szulfálás) a második leggyakoribb átalakulás a Fázis II reakciók között. A szulfálás igen fontos metabolikus átalakulási reakciója többek között a szteroid hormonoknak, az epesavaknak, a pajzsmirigyhormonoknak, a catecholamin neurotranszmittereknek, valamint a fenol funkciós csoporttal rendelkező gyógyszervegyületeknek és egyéb testidegen anyagoknak. A szulfátkonjugátumok fiziológiai szempontból legfontosabb tulajdonsága azok megnövekedett vízdékonysága és kiválasztódása, mivel a keletkező szulfátészterek pK_s értéke 1-2 közötti érték. (Így a szulfátkonjugátumok fiziológiás körülmények között teljesen ionizált formában találhatók.) Néha azonban a szulfátkonjugáció reaktív (toxikus) elektrofil részek képződését eredményezi, de található példa terápiásan aktív szulfátkonjugátum (pl. minoxidil-szulfát) képződésére is.

A szulfátkonjugáció felfedezése a benzol és oxidált származéka, a fenol szervezetben lejátszódó metabolizmusának vizsgálatához kapcsolódik. Antiszeptikumként alkalmazott fenollal kezelt betegek vizeletéből elsőként *E. Baumann* izolálta és azonosította a fenol szulfátkonjugátumát. A szulfátkonjugáció általános mechanizmusát - a paracetamol szulfátkonjugátuma képződésének példáján - a III-35. ábra mutatja be.

III-35. ábra: A paracetamol szulfát-konjugátummá történő átalakulásának szulfotranszferáz (SULT) enzimek által katalizált reakciója.



Az aktivált szulfát (3'-foszfoadenozin-5'-foszfoszulfát - *PAPS*) és az akceptor vegyület (paracetamol) közötti reakciót a szulfotranszferáz (*SULT*) enzimek katalizálják (III-35. ábra). (Amint az az ábrán látható, a szulfátkonjugáció kifejezés egy szulfonát (SO_3^-) és nem egy szulfát (SO_4^{2-}) átvitelét jelenti a PAPS-ről a szubsztrát molekulára.) A PAPS enzimatis reakcióban szintetizálódik ATP-ből és szerves szulfáttól. Az *SULT* enzimek több gén által kódolt enzimszereplő tagjai, melyek a máj, a bél epithel sejtek, a vese, az agy, és a vérlemezkék citoszoljában lokalizálódnak a szervezetben.

A szulfátkonjugáció elsődlegesen a fenolos vegyületek metabolikus transzformációs reakciója. A PAPS illetve a szerves szulfát kínálat a reakciók sebességét meghatározó tényezők. A szulfát kínálat általában alacsony, ezért az könnyen kimeríthető. A gyógyszervegyület növekvő dóziséval a szulfátkonjugáció dominanciája csökken. A szerves szulfát mellett szerves szulfát prekursorok (L-metionin, L-cisztein) is növelik a celluláris PAPS szintet. Alacsony PAPS, szerves szulfát, és kéntartalmú aminosav szintek, illetve magas fenolos gyógyszervegyület

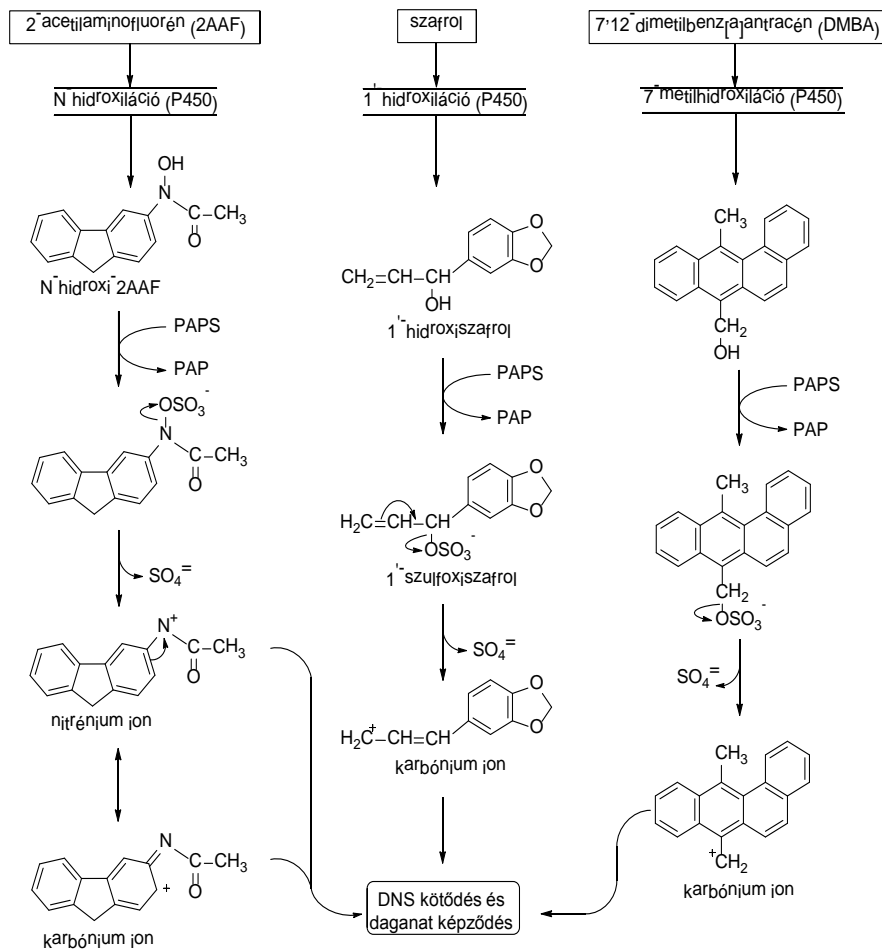
koncentrációk esetén a fenolos funkció szulfálása helyett annak kompetitív metabolikus átalakulásai, így a glükuronsav-konjugáció, illetve az O-metilezés kerülnek előtérbe.

A szulfotranszferázok öt géncsaládba, SULT1 – SULT5 csoportosíthatók. (Az egy géncsaládba tartozó enzimek legalább 40% aminosav homológiát mutatnak.) Az SULT1 és SULT2 családba tartozó szulfotranszferázok aminosav homológiájuk alapján (40-65% aminosav homológia) alcshaládokba csoportosíthatók. A SULT1 családba tartozó enzimek 5 alcshaládba (SULT1A - SULT1E), a SULT2 családba tartozó enzimek két alcshaládba (SULT2A és SULT2B) sorolhatók. A 65%-nál nagyobb homológiát mutató szulfotranszferázok az egyes alcshaládok individuális tagjai. A SULT1A2, SULT1A3 és SULT1A5 izoenzimek katalizálják számos fenolos gyógyszervegyület (pl. paracetamol), a szteroid hormonok, és a ketecholamin hormonok szulfálását. A SULT1B2 preferáltan a pajzsmirigyhormonok, a SULT1E4 a kis koncentrációban jelen lévő ösztadiol szulfátkonjugációját katalizálja.

A bélfal epithel sejtek szulfotranszferáz aktivitása a *per os* alkalmazott fenolos gyógyszervegyületek ún. „first pass” metabolizmusát, míg az epithel sejtek szulfatáz enzimaktivitása az epével a vékonybélbe kiválasztódó szulfátkonjugátumok enterohepatikus körforgását okozza.

Általánosságban megállapítható, hogy a szulfátkonjugáció eredményeképpen csökken a testidegen vegyületek farmakológiai hatása. Vannak esetek azonban, amikor a szulfát konjugáció növeli a vegyületek toxicitását. Ez általában annak a következménye, hogy a keletkező szulfát-konjugátum kémiaiilag kis stabilitású és átalakulása reaktív elektrofil részek képződését eredményezi. Amint a III-36. ábra bemutatja, a szulfátkonjugáció fontos szerepet játszhat az aromás aminok (pl. 2-acetilaminofurén), a szafrol, valamint a metilszubsztituált policiklusos szénhidrogének (pl. 7,12-dimetilbenz[a]antracén) reaktív nitrogén- és széncentrumú kationokká történő metabolikus aktivitásában, melyek a vegyületek karcinogén hatásáért tehetők felelőssé.

III-36. ábra: A szulfát konjugáció szerepe a 2-acetilaminofluorén, a szafrol és a 7,12-dimetilbenz[*a*]antracén metabolikus aktiválásában

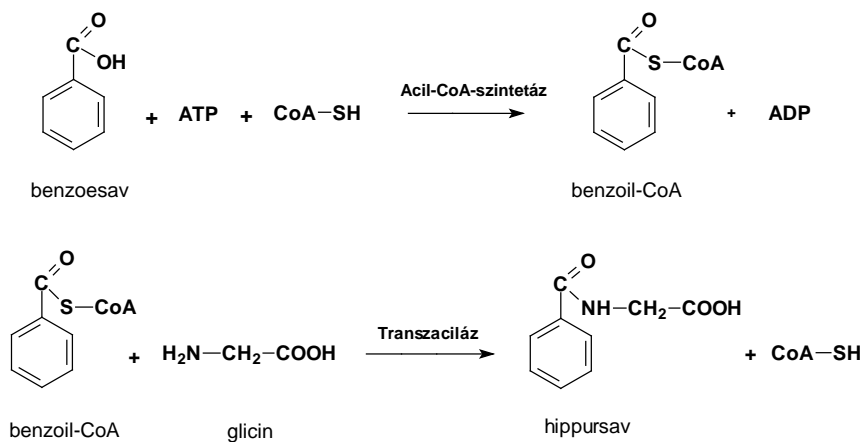


III.2.3 Konjugáció aminosavakkal

A szervezetbe kerülő testidegen anyagok metabolizmusának első humán kísérleti bizonyítéka – amint az e közlemény első részében is említésre került – a benzooesav glicinnel történő konjugációja volt (*A. Ure*). Az első kísérleti tapasztalat óta eltelt időben számos további aromás, elágazó láncú alifás, aromás-alifás és heterociklusos karbonsav aminosav-konjugátuma került azonosításra, igazolva ezzel a testidegen anyagok aminosavakkal lejátszódó konjugációjának jelentőségét azok metabolizmusában. A leggyakoribb a glicinnel, a glutaminnal és taurinnal lejátszódó konjugáció, de képződnek többek között arginin-, hisztidin- és szerinkonjugátumok is.

Az aminosav-konjugáció gyakoribb mechanizmusát, a benzooesav glicin-konjugátumának képződése példáján, a III-37. ábra mutatja be.

III-37. ábra: A benzooesav glicin-konjugátuma (hippursav) képződésének reakciója.



Az aminosav-konjugáció e mechanizmus szerinti lejátszódásának előfeltétele a testidegen anyag karboxilcsoportjának aktiválódása, ami a megfelelő koenzim-A (CoA-SH) tioészter-származék (acil-S-CoA) formájában történik. Az acil-S-CoA származék képződése energiaigényes folyamat. Az aktivált karboxilcsoport és az aminosav (példánkban a glicin) aminocsoportja között lejátszódó reakciót a citoszolban vagy a mitokondriumban lokalizálódó *transzamiláz* (acil-CoA: aminosav N-aciltranszferáz) enzimek katalizálják.

A karboxilcsoporttal bíró gyógyszervegyületek (testidegen anyagok) a szervezetben konjugálódhatnak glükuronsavval és/vagy aminosavakkal (leggyakrabban glicinnel). A vegyületek metabolikus átalakulásainak természetét nagymértékben befolyásolja a karboxilcsoportot hordozó szénatom természete, illetve szubsztitúciója. Az aromás és heteroaromás vegyületek elsősorban glicinnel konjugálódnak. A legtöbb nem-elágazó láncú alifás karbonsav szinte kizárólagos transzformációja a béta-oxidáció. Ugyanakkor az elágazó láncú alifás és aromás-alifás karbonsavak tipikus átalakulása a glükuronsav- és a glicinkonjugáció.

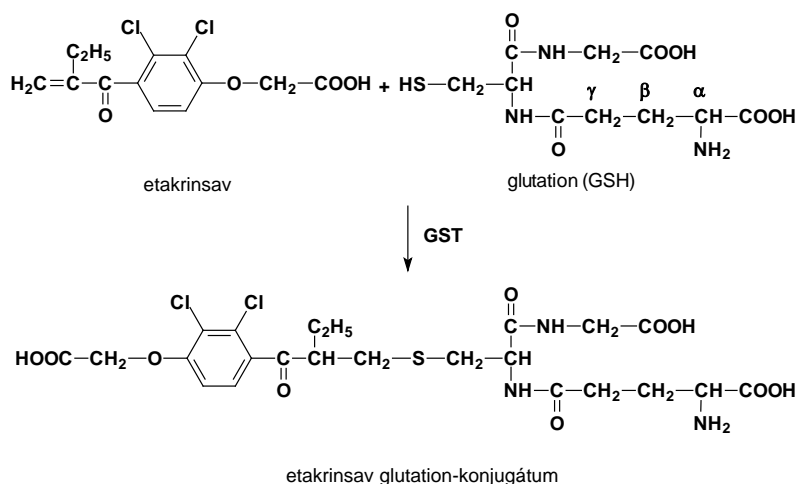
Megemlítendő, hogy ellentétben néhány reaktív és toxikus glükuronid-, szulfát-, acetil- vagy glutation-konjugátummal, az aminosav-konjugátumok nem bizonyultak toxikus hatásúnak. Feltételezhető, hogy az aminosav-konjugáció a reaktív acil-S-CoA tioészterek detoxikáló mechanizmusa.

III.2.4 Konjugáció glutationnal

A glutation (GSH) a citoszolban relatíve magas koncentrációban (1-10 mM) megtalálható tripeptid: gamma-glutamil-ciszteinil-glicin (III-37. ábra). Tiofunkciójának következtében fiziológias körülmények között *erős nukleofil*, egyidejűleg, két GSH molekula tiolcsoportjának diszulfid-származékká (GSSG) történő könnyű oxidációja eredményképpen, redukáló (*antioxidáns*) tulajdonságú vegyület. Az oxidáció reverzibilis, az oxidált glutation (GSSG) NAD(P)H-dependens enzimek segítségével redukált glutationná (GSH) alakulhat. A GSH nukleofil tulajdonsága következtében fontos szerepet játszik a reaktív elektrofil metabolitok biopolimerek (pl. fehérjék, DNS) nukleofil centrumaival (O-, S-, N-atomok) lejátszódó reakciójának megakadályozásában (citoprotektív hatás), míg redox tulajdonsága kapcsán fontos szerepet tölt be a sejtek redox-egyensúlyának fenntartásában (antioxidáns hatás).

A redukált glutation (GSH) kémiai természetéből adódóan reakcióba lép olyan testidegen anyagokkal, melyekben elektronhiányos (*elektrofil*) centrum található, vagy az eredeti gyógyszervegyület metabolizmusának eredményeképpen elektrofil centrum alakul ki. A glutation-konjugáció egyik példáját, az etakrinsav glutation-konjugátumának képződését a III-38. ábra mutatja. A reakció spontán is lejátszódik, a glutation-S-transzferáz (GST) enzimek azonban meggyorsítják a spontán lezajló reakció sebességét. A GST enzimek a legtöbb szövetben expresszálódnak, legnagyobb koncentrációban a májban, a bélben, a vesében, és a tüdőben, ahol a citoplazmában (>95%) és az endoplazmatikus retikulumban (<5%) lokalizálódnak.

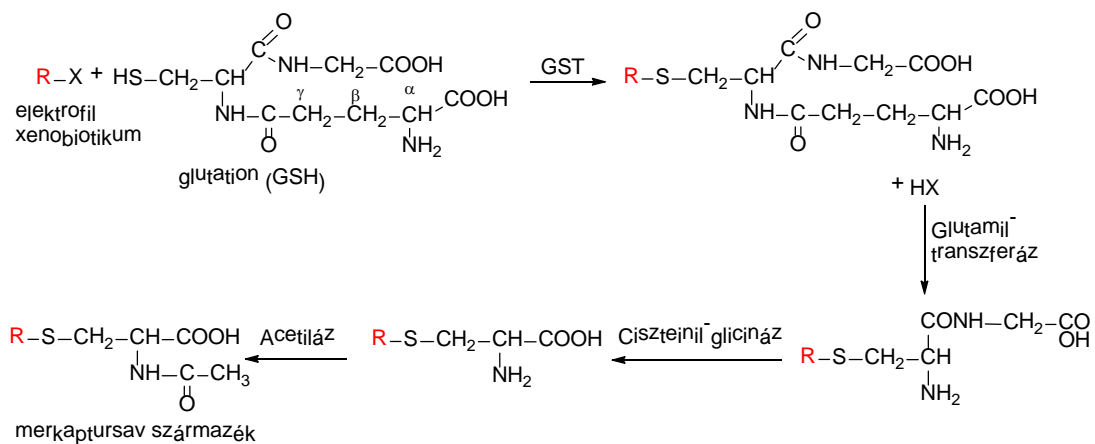
III-38. ábra: Az etakrinsav és a redukált glutation (GSH) glutation-S-transzferáz (GST) enzimek által katalizált reakciója



A GST enzimek szubsztrátjai három közös tulajdonsággal rendelkeznek: a.) hidrofób tulajdonságúak, b.) elektrofil (elektronhiányos) atommal (centrummal) bírnak, és c.) a GSH-val szemben spontán reaktivitással rendelkeznek. A konjugációs reakciók kémiai szempontból két csoportba sorolhatók: (1) *addíciós* reakciók, melyekben a GSH telítetlen kötésre (pl. a GSH és az etakrinsav reakciója), vagy feszült gyűrűre (pl. epoxidok) addicionálódik, és (2) *szubsztitúciós* reakciók, melyekben a GSH helyettesít egy leváló csoportot (pl. halogénatomot, vagy nitrátésztert).

A májban képződő GSH-konjugátumok kiürülnek az epével, vagy a vesében merkaptursav-származékokká alakulva a vizelettel ürülnek ki a szervezetből. A merkaptursav-származékok képződése során a konjugátumok - a glutation molekularész glutaminsav és glicin építőelemeinek hidrolízise eredményeképpen – cisztein-konjugátumokká alakulnak, melyek a NAT enzimek által katalizált reakcióban a megfelelő N-acetilszármazékokká (ún. merkaptursav-származékokká) konvertálódnak (III-39. ábra). A GSH-konjugátumok e további metabolikus transzformációja következtében a glutation-konjugáció és a vizeletben talált merkaptursav-metabolitok közötti kapcsolat természetének tudományos igényű megismerése csak az 1960-as évek elején történt meg.

III-39. ábra: A glutation-konjugátumok merkaptursav-származékká történő metabolizmusának reakcióútja



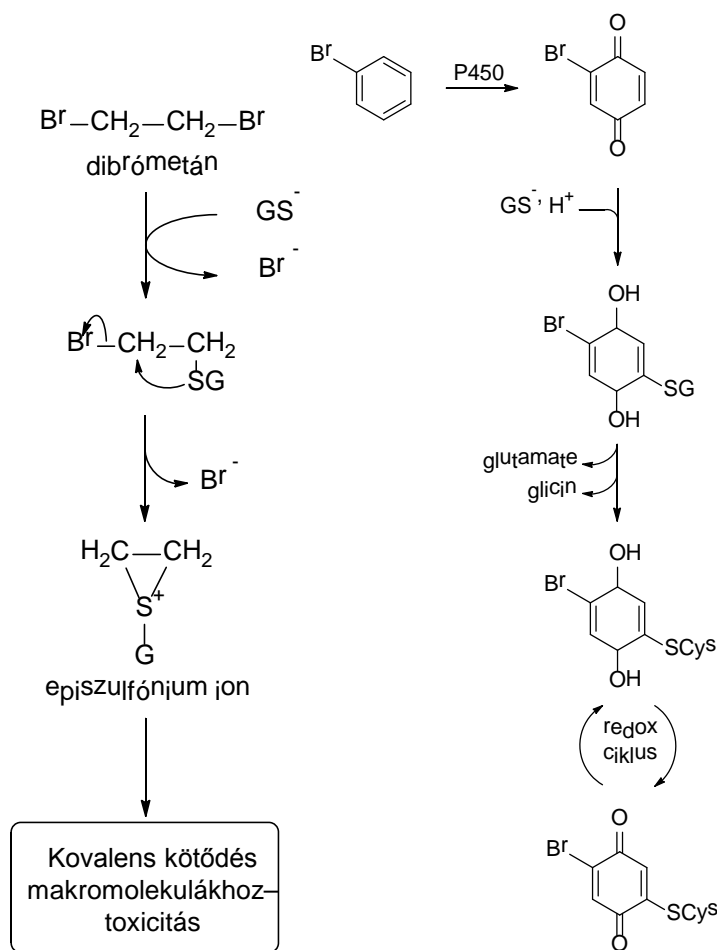
A GST enzimek két azonos alegységből álló dimerek, vannak azonban melyek heterodimer szerkezetűek. Számos alegység klónozása és szekvenciájának meghatározása megtörtént, ami alapját képezi a GST enzimek szisztematikus nevezéktanának. Például, a két 1 illetve 2 alegységből felépülő enzimet az 1-1, illetve 2-2, míg a heterodimer enzimet 1-2 nevezéktannal különböztethetjük meg egymástól. A citoszolban oldódó GST enzimeket korábban négy osztályba sorolták, melyeket A, M, P és T betűjelekkel különböztetünk meg egymástól (a betűk megfelelnek a még korábban alkalmazott *alfa*, *mű*, *pí*, és *teta* névvel jelölt osztályoknak). Újabban három további oldható enzimes család azonosítása történt meg, melyek a K (*kappa*), S (*szigma*), és a Z (*zeta*) nevet kapták. E hét osztály egyike sem azonos a mikroszómális GST enzimekkel, melyek két képviselőjének azonosítása történt meg. Az egyik egy trimer szerkezetű enzim, ami az oldható enzimekhez hasonlóan a GSH és testidegen anyagok konjugációs reakcióit katalizálja. A másik egy ettől különböző enzim, ami a leukotrién A4 és GSH konjugációs reakciójában keletkező leukotrién C4 képződését katalizálja.

Egyes gyógyszervegyületek GSH-konjugációját minden osztályba tartozó GST enzim katalizálja. Más reakciók azonban meglehetősen specifikusak egy-egy osztályba tartozó enzimekre. A *mű* GST enzimek például preferenciát mutatnak néhány arénoxid és alkén-epoxid GSH-val lejátszódó reakcióinak katalizálására. A *pí* GST enzimek preferáltnak katalizálják az etakrinsav GSH-konjugációját. Ugyanakkor megjegyzendő, hogy az egyes osztályokba tartozó individuális enzimek szubsztrátspecifitása nagymértékben különbözhet.

Bár a fentiek alapján glutation-konjugáció egyike a legfontosabb detoxikáló reakcióknak, megemlítendő azonban, hogy a GSH-konjugátumok között - azok további spontán, vagy enzim-katalizált reakcióik eredményeképpen – találhatunk toxikus metabolitokat is. Ilyenek például a vicinális dihaloalkánok (pl. diklórmétán, 1,2-dibrómmétán), a halogénszubsztituált alkének, vagy a kinonok és kinoniminek GSH-konjugátumai.

Az első mechanizmusra példa a diklóretán, vagy a *dibrómetán* GSH-dependens metabolikus aktiválódása. E vicinális dihaloalkének készségesen képeznek glutation-konjugátumot, ami az elsődleges szubsztitúciós termék további átalakulásával nefrotoxikus hatású episzulfónium-ionná alakulnak. A reaktív episzulfónium-ionok kovalens kötés kialakításával képesek DNS-hez kapcsolódni, és így a karcinogenezis komplex folyamatát inicializálni (III-40. ábra). A harmadik mechanizmus tehető felelőssé a brómbenzol nefrotoxikus hatásáért: a brómbenzol a máj citokróm P450 enzimek által katalizált folyamatokban 2-bróm-1,4-benzokinonná alakul, ami GSH-val történő konjugációt követően a vesébe transzportálódik. Itt a glutation-molekularész konszekutív hidrolitikus bomlása (lásd III-39. ábra) eredményeképpen cisztein-származékká alakul, ami 1,4-benzokinon származékká redukálódhat. A cisztein-szubsztituált 1,4-benzokinon redox-ciklus folyamatban (lásd III-52. ábra) citotoxikus reaktív oxigén származékok (ROS) képződését eredményezi.

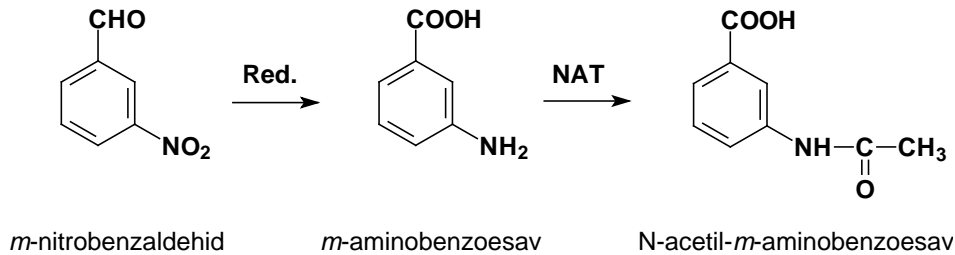
III-40. ábra: A dibrómetán és a brómbenzol GSH-dependens metabolikus aktiválásának mechanizmusa



III.2.5 Acetilezés

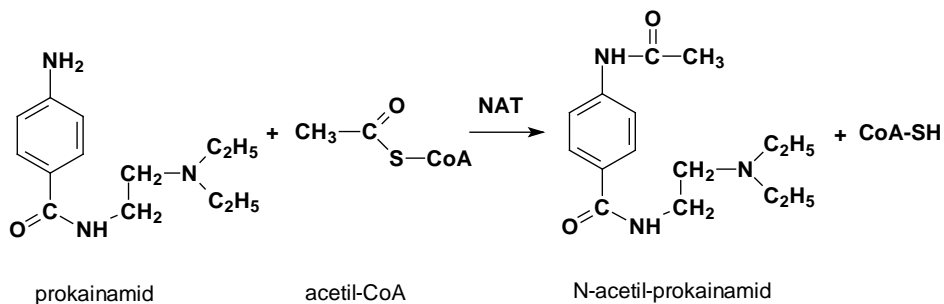
Az acetilezés elsődlegesen az aromás primer aminok (Ar-NH₂), hidrazinok (Ar-NH-NH₂), valamint az aminosavak aminocsoportjának és az acetyl-CoA acetyl csoportja között lejátszódó acilezési reakció. Az első N-acetilezett metabolit felfedezése *R. Cohn* nevéhez fűződik, aki nyulakkal végzett kísérletei során a *m*-nitrobenzaldehid N-acetyl-*m*-aminobenzoésavvá történő átalakulását, illetve utóbbi vegyületnek a vizelettel történő kiürülését igazolta (III-41. ábra).

III-41. ábra: A *m*-nitrobenzaldehid N-acetyl-*m*-aminobenzoésavvá történő metabolizmusának reakcióútja.



Mintegy 50 évvel később kezdődtek a Nobel díjas *F. A. Lipmann* kísérletei, melyek során a CoA-tioészterek savgyök átviteli folyamatait tanulmányozta, többek között a szulfonamidok acetilezésének vizsgálata során. Elsősorban *F. A. Lipmann* munkája alapján sikerült tisztázni az acetilezés, illetve a testidegen karbonsavakkal lejátszódó acilezési (aminosav-konjugációs) folyamatok molekuláris szintű részleteit. A prokainamid és az acetyl-CoA között lejátszódó, N-acetyltranszferáz (NAT) enzimek által katalizált reakciót a III-42. ábra mutatja be.

III-42. ábra: A prokainamid acetilszármazékká történő átalakulásának N-acetyltranszferáz (NAT) enzimek által katalizált reakciója

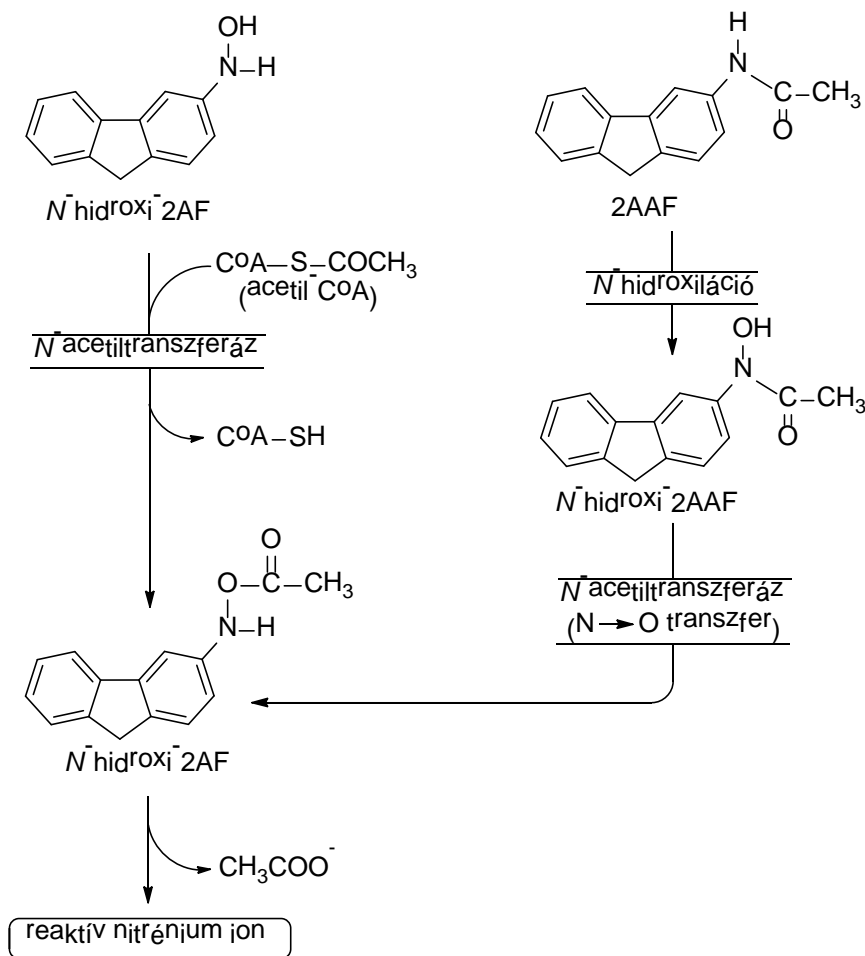


Az N-acetyltranszferázok a citoszolban található enzimek. Emberben két formája, a NAT1 és NAT2 expresszálódik. A NAT1 megtalálható a legtöbb szervben/szövetben, míg a NAT2 elsősorban a májban és a vékonybélben expresszálódik. A két izoenzim eltérő, de átfedő szubsztrátspecificitással rendelkezik. A NAT1-preferenciával rendelkező gyógyszerek közül megemlítendő a *p*-aminobenzoésav, a *p*-aminosalicilsav és a szulfametoxazol, míg a NAT2-preferenciával bíró gyógyszerek között találhatjuk az izoniazidot, a hidralazint, valamint a prokainamidot. Néhány xenobiotikum, így pl. a karcinogén 2-aminofluorén, egyaránt jó szubsztrátja a NAT1 és a NAT2 enzimnek. Az N-acetilezés, a metilezési reakciókhoz hasonlóan, egy poláros, ionizálható funkció csoportot egy apolárosabb, nem-ionizálható csoporttá alakít, csökkentve a nem-acetilezett

anyavegyület vízdékonyságát. Néhány vegyület, pl. izoniazid, *N*-acetilezési reakciója elősegíti annak vizelettel történő kiürülését.

Az *N*-acetiltranszferáz enzimek jól ismert genetikai polimorfizmusa jelentős befolyással bír a fenti gyógyszervegyületek *N*-acetilezésének sebességére, és annak következtében a vegyületekkel folytatott gyógyszeres terápiára, valamint a vegyületek potenciális toxikus hatásának kialakulására. A humán *N*-acetiltranszferáz izoenzimek szubsztrátjai között a gyógyszervegyületeken kívül számos karcinogén arilamin származék (pl. 2-aminofluorén, 1-naftilamin, stb.) is megtalálható, melyek acetilezéssel aktiválódnak (III-43. ábra).

III-43. ábra: A 2-aminofluorén NAT-katalizált metabolikus aktiválásának mechanizmusa



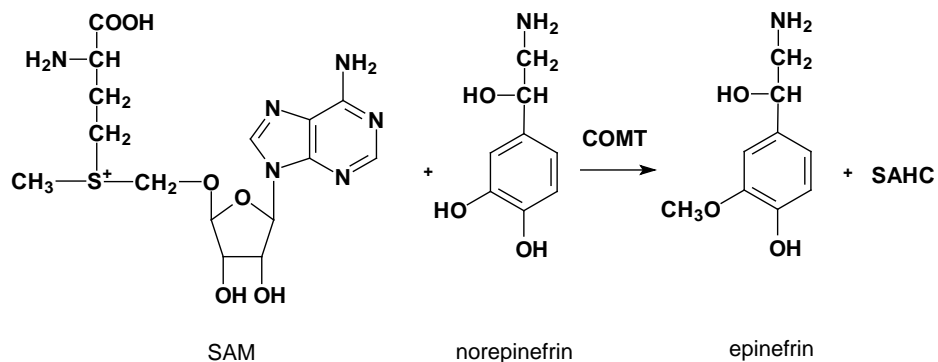
A vegyületek acetilezésének sebessége szempontjából a lassú és gyors acetilező fenotípusra osztott populáció humán egyedei között az *N*-acetilszármazékok képződési sebességében jelentős különbségek figyelhetők meg. (A polimorf módosulatok száma mindkét izoenzim esetén hasonló, a NAT2 polimorfizmusának azonban jóval nagyobb a prevalenciája.) E különbségek egyrészt befolyásolják a NAT enzimek által metabolizálódó gyógyszervegyületek farmakokinetikáját, másrészt a genotoxikus arilaminok *N*-acetilszármazékai további metabolikus transzformációja eredményeképpen keletkező DNS-reaktív elektrofil metabolitok mennyiségét.

III.2.6 Metilezés

A metilezés jól ismert biokémiai transzformáció, de sokkal jelentősebb metabolikus útnak tekinthető az endogén vegyületek, mint a testidegen vegyületek (xenobiotikumok) átalakulásai szempontjából. A szerves vegyületek metilezésének első kísérleti bizonyítéka *W. His* nevéhez fűződik, aki piridin-acetáttal kezelt kutyák vizeletéből N-metil-piridínium-hidroxidot tudott kimutatni. A metilezési reakciók molekuláris mechanizmusának megismerése szempontjából alapvető fontossággal bír *G. L. Cantoni* munkássága, aki tisztázta az S-adenozil-metionin (SAM), mint kofaktor szerepét ezekben a reakciókban.

A SAM szerkezetéből (lásd III-44. ábra) látható, hogy az egy karbóniumion karakterű vegyület, és így a metiltranszfer az akceptor molekulák nukleofil (elektronban gazdag) centrumaival (pl. O-, S-, N-atomok) kialakuló kölcsönhatás eredményeképpen játszódik le. Következésképpen, a metilezésben résztvevő legfontosabb szerves vegyületek a fenolok, katecholszármazékok, alifás és aromás aminok, nitrogéntartalmú heterociklusok, valamint a tioalkoholok. A norepinefrin katechol-O-metiltranszferáz (COMT) enzim által katalizált O-metilezési reakciójának egyszerűsített folyamatát a III-44. ábra mutatja be.

III-44. ábra: A norepinefrin katechol-O-metiltranszferáz (COMT) enzimek által katalizált O-metilezési reakciója



SAM= S-adenozil-metionin

SAHC= S-adenozil-homocisztein

A metilezés – az acetilezéshez hasonlóan – általában csökkenti az anyavegyület vízdékonyságát és megszünteti olyan nukleofil csoportok reaktivitását, melyek más Fázis II enzimek által katalizált reakciókban az anyavegyületnél polárosabb származékokat képezhetnek. Kivételt képez a piridingyűrűt tartalmazó testidegen anyagok N-metilezési reakciója, aminek eredményeképpen pozitív töltésű piridínium-kationt hordozó metabolitok képződnek.

A metilezési reakciók típusai és az azokat katalizáló legfontosabb enzimek a következők:

1.) O-metilezés

- | | |
|----------|-----------------------------------------------------------------------|
| Reakció: | Fenolos hidroxilcsoportok metilezése |
| Enzimek: | Fenol-O-metiltranszferáz (POMT)
Katechol-O-metiltranszferáz (COMT) |

2.) N-metilezés

Reakció:	Különböző aminok metilezése
Enzimek:	Fenil-etanolamin-N-metiltransferáz (PNMT) Hisztamin-N-metiltransferáz (HNMT) Nikotinamid-N-metiltransferáz (NNMT)

3.) S-metilezés

Reakció:	Tiolok metilezése
Enzimek:	Tiopurin-metiltransferáz (TPMT) Tiol-metiltransferáz (TMT)

Az S-metilezési reakciók az SH-funkciót hordozó testidegen anyagok egyik jelentős metabolikus átalakítása. E csoportba tartozó gyógyszervegyületek közé tartozó gyógyszerek közé tartozik többek között a kaptopril, a D-penicillamin, a 6-merkaptopurin, a 6-tioguanin és az azatioprin.

A tiopurin-metiltransferáz (TPMT) a citoplazmában lokalizálódó enzim, preferált szubsztrátjai az aromás és heterociklusos SH-vegyületek, mint a 6-merkaptopurin, a 6-tioguanin és az azatioprin. A tiol-metiltransferáz (TMT) mikroszómális enzim és preferált szubsztrátjai az alifás tiolvegyületek, mint pl. a kaptopril, a D-penicillamin és a diszulfiram származékok.

Az átlagosnál alacsonyabb TPMT aktivitással járó polimorfizmus a tiopurin kezelésben részesülő betegek körében megnöveli a tiopurin-indukált mieotoxicitás veszélyét; ellentétben az átlagosnál magasabb TPMT aktivitással bíró betegekkel, akik körében az átlagosnál nagyobb dózisok szükségesek a terápiás cél eléréséhez. A TPMT enzim által metabolizálódó tiopurin származékok alacsony terápiás index-szel bíró gyógyszerek melyeket, az életet közvetlenül veszélyeztető folyamatok kezelésére alkalmaznak akut limfoblasztos leukémiában szenvedő és szervátültetésen átesett betegek körében. A TPMT polimorfizmus fenotipizálása a klinikai gyakorlatban elsőként bevezetett genetikai vizsgálatok egyikének példája.

III.3 A metabolizáló enzimek aktivitását befolyásoló tényezők

A gyógyszerek és az egyéb testidegen anyagok biotranszformációjában résztvevő enzimek katalitikus aktivitását az egyes enzimeket kódoló gének esetleges variációin (*genetikai polimorfizmus*) túl a kor és a nem, az étkezési és *életvitelbeli szokások* (pl. dohányzás, alkoholfogyasztás), egyes *betegségek* (pl. daganatos megbetegedések, diabetes, Parkinson-kór) és több környezeti tényező (pl. levegőszennyeződés, peszticid maradványok) is befolyásolhatja. Mindezek, valamint a hosszabb ideig rendszeresen szedett gyógyszer(ek) a kérdéses enzimek egyéneként eltérő, időben változó aktivitását alakíthatják ki, melyek ismerete elengedhetetlen a személyre szabott optimális gyógyszeres terápia megválasztásához.

A CYP enzimek közül több esetében igazolódott *genetikai polimorfizmus*, mint a CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4. Genetikai polimorfizmus esetén a populáció egyedeinek egy részénél az enzim aktivitása eltér az átlagostól, vagy lassúbb, vagy gyorsabb lesz.

A *lassú metabolizáló* egyedekben magasabb plazma koncentráció alakulhat ki egy adott gyógyszer ugyanakkora adagjának hatására, ami mellékhatások kialakulásához, illetve a vártnál magasabb gyógyszer szinthez, intoxikációhoz vezethet. A mellékhatások és intoxikációk kialakulásának valószínűsége nagyobb a csökkent metabolizáló kapacitás miatt a szűk terápiás koncentrációtartományú (terápiás ablak) gyógyszerek

esetében. A lassú metabolizáló személyek kiszűrése a terápia előtt, illetve váratlan mellékhatás esetén elősegítheti, hogy a gyógyszeradagokat ilyen személyekben célzottan válasszuk meg.

Az *ultragyors metabolizáló* egyedekben a CYP enzimek által metabolizált gyógyszerek általánosan ajánlott dózisa a hatásosnál alacsonyabb plazma koncentrációhoz és így "*ál-non-responderség*"-hez vezetnek. Az ilyen betegekben az optimális terápiás koncentrációt csak magas, sokszor maximális dózissal is nagyobb adaggal lehet elérni. Az ultragyors metabolizálók felismerése segít eldönteni, hogy a terápiás hatástalanságot, illetve az alacsony plazma gyógyszer szintet a rossz compliance, farmakodinamikai, vagy farmakogenetikai tényezők magyarázzák és segít a terápia megfelelő megválasztásában.

A fenti nem genetikai hatások akár többszörösére növelhetik egy-egy enzim mennyiségét és katalitikus aktivitását. Ezt a jelenséget *indukciónak* nevezzük. Az indukció megváltoztatja az alkalmazott gyógyszer hatékonyságát és egyensúly eltolódást okozhat a detoxikáló, illetve a toxikáló folyamat között. Ugyanakkor, a fenti nem genetikai hatások egy-egy enzim aktivitását *gátolhatják* is, ami ugyancsak megváltoztatja az alkalmazott hatóanyag farmakokinetikai tulajdonságait.

Egyidejűleg alkalmazott gyógyszervegyületek, gyógyszervegyületek és növényi hatóanyagok, gyógyszerek és élelmiszerek, stb. hatóanyagai között a metabolikus enzimekre gyakorolt hatásokon (indukción vagy gátláson) keresztül kialakuló kölcsönhatásokat *metabolikus (gyógyszer) kölcsönhatások* néven írja le a szakirodalom.

Citokróm P450 enzim mediálta *farmakokinetikai* (metabolikus) *interakció* léphet fel, amikor együttesen alkalmazott szerek lebomlásában legalább egy közös lépés van (ugyanaz a citokróm enzim végzi), amely az egyik, vagy mindegyik szer eliminációjának limitáló faktorává válik. A gyógyszerek az enzim kötőhelyéért versengenek és így lebomlásuk lassul. Ennek következtében csökkenhet az elimináció, a plazma koncentráció megemelkedhet, megnövekedhet a felezési idő, gyógyszer akkumuláció és fokozott toxicitás léphet fel. Interakció léphet fel akkor is, amikor valamely citokróm enzim induktorát adjuk egy másik gyógyszerrel, amelynek lebomlása fokozott lesz és így a kívánt terápiás hatás elmarad.

A vékonybélben legnagyobb mennyiségben expresszálandó CYP3A4 enzim néhány szubsztrátját, induktorát és gátlóját a III-3. táblázat mutatja be.

III-3 táblázat: A CYP3A4 enzim néhány szubsztrátja, inhibitora és induktora.

Szubsztrát	Inhibitor	Induktor
Paracetamol	Cimetidin	Dexametazon
Ciklosporin	Diltiazem	Fenitoin
Karbamazepin	Eritromicin	Fenobarbitál
Klotrimazol	Fluvoxamin	<i>Hypericum perforátum</i>
Diazepám	Fluoxetin	Karbamazepin
Diltiazem	Grape fruit lé	Primidon
Eritromicin	Itrakonazol	Rifabutin
Imipramin	Ketokonazol	Rifampin
Ketoconazol	Klotrimazol	
Szteroidok	Verapamil	
Teofillin	Vinblasztin	
Terfenadin	Vinkrisztin	
Verapamil		
(R)-Warfarin		

Az *induktorok* hatására az enzimek mennyisége és katalitikus aktivitása megnövelhető. Az indukálószer három szinten befolyásolhatja az enzimek mennyiségét és az enzimaktivitást:

1. Az *mRNS* szintézisének sebességét növeli.
2. Az *mRNS* életidejét növeli.
3. A fehérje stabilitását növeli meg.

A citokróm P450 enzimek jellegzetes induktor vegyület típusait, az indukált gén- és izoenzim családokat, valamint az indukált specifikus monooxigenáz enzimeket a III-4 táblázat tartalmazza.

III-4 táblázat: A Legfontosabb CYP géncsaládok, induktoraik és specifikus enzimek.

Géncsalád	Induktor	Indukált specifikus enzimaktivitás
CYP1A	policiklusos aromás szénhidrogének (PAH)	ECOD, EROD
CYP2B	fenobarbitál (PB)	PROD, EMND, APND, ECOD
CYP2E	etanol	AH, p-NPH, p-NPOD
CYP3A	glükokortikoid	EMND, APND

Magyarázat: EROD: etoxirezorufin-O-dealkiláz, ECOD: etoxikumarin-O-dealkiláz, PROD: pentoxirezorufin-O-dealkiláz. EMND: etilmorfin-N-demetiláz, APND: aminopirén-N-demetiláz, p-NOD: para-nitrofenetol-O-deetiláz, AH: anilin-hidroxiláz, p-NPH: *para*-nitrofenol-hidroxiláz.

A citokróm P450 enzimek esetében az indukáló szerektől függően megkülönböztetünk "*MC-típusú*", "*PB típusú*", *PCN/glükokortikoid típusú* és *etanol típusú* indukciót.

Az "*MC-típusú*" induktorok közé tartoznak a 3-metilkolantrén (MC), a benzpirén és a halogénezett poliaromás szénhidrogének. A MC az Ah-receptoron keresztül

indukálja a transzkripciót A MC a sejtbe bejutva kötődik a sejt Ah receptorához. A kialakult induktor-receptor komplex bejut a sejtmagba, ahol a P4501A1 gén átíródását stimulálja. Az indukáló szer hatására létrejövő RNS szintemelkedés a sejtben a transzkripciós és a poszttranszkripciós folyamatok (az RNS sejtmagból történő transzportja, illetve az RNS stabilitását növelő mechanizmusok) eredményeképpen valósul meg. Az indukáló szer hatására végül megnövekszik többek között a CYP1A1 enzim mennyisége is.

A "*PB (fenobarbitál) típusú*" indukció esetében az indukálószer hatására a máj tömege, az endoplazmatikus retikulum mennyisége és így az össz-citokróm P450koncentráció is szignifikánsan megnövekszik. Az indukció, hasonlóan az „MC-típusú” indukcióhoz, a megfelelő gének transzkripcióját és *de novo* fehérjeszintézist jelent. A PB – egy másik feltevés szerint - az *mRNS* sejtmagból való kijutását segíti elő, ami szintén emeli a P4502B *mRNS* szintjét.

A *PCN/glikokortikoid típusú* indukciónál az indukálószer hatására nemcsak a transzkripciós folyamatok sebessége nő meg, de jelentős szerepet kapnak a poszt-transzkripciós folyamatok is, amelyekben a P450 enzim, illetve maga az *mRNS* stabilizálódik.

Az *etanol típusú* indukciónál a poszt-transzkripciós folyamatoknak jut a főszerep, az induktorok nem hatnak az *mRNS* szintézisére, hanem az enzimet védik a degradációval szemben. Azok a vegyületek, melyek az *mRNS* vagy az enzim stabilitásának növekedését okozzák és így növelik meg az enzimaktivitást nem tekinthetők valódi induktoroknak. A fenti hatásmechanizmusok mindegyikét megfigyelték már a citokróm P450 és a konjugációs enzimek esetében is.

Napjainkban kiemelt jelentősége van a gyógyszerterápiában alkalmazott farmakonok okozta indukciós hatás vizsgálatának. Ennek ismeretében információt nyerhetünk az esetleg fellépő gyógyszer interakciókról, amelyeknek káros következményei (pl. toxikus hatások) is lehetnek.

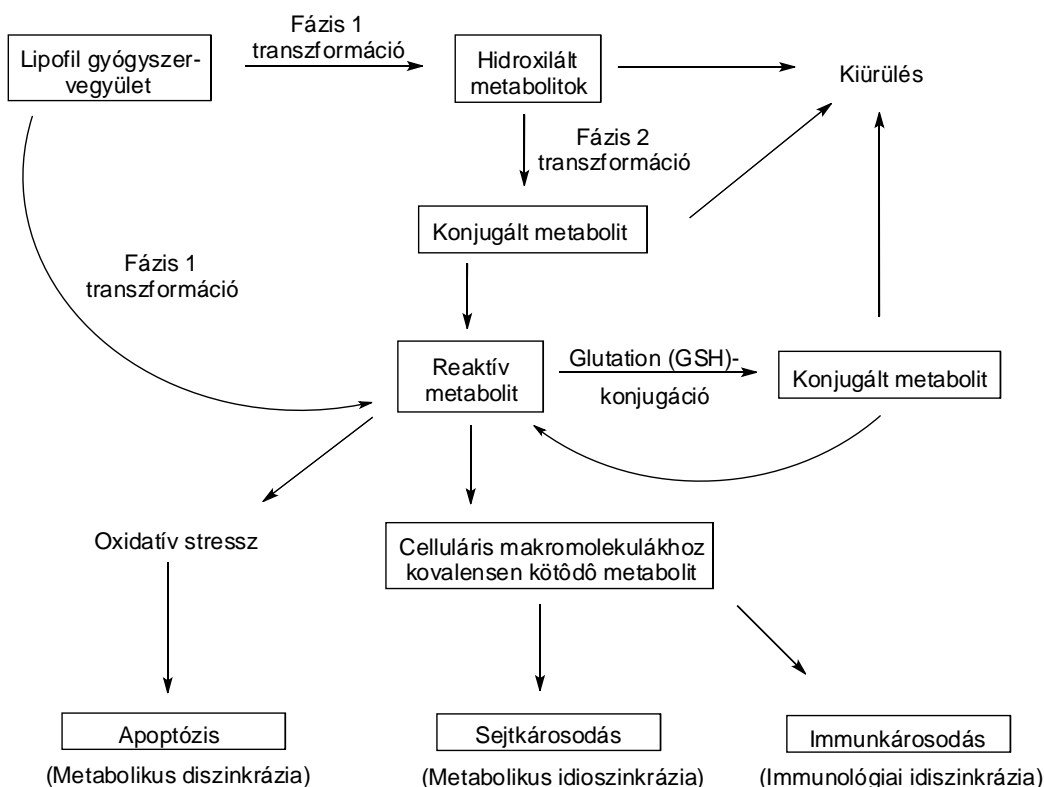
Nemcsak a P450 induktorok gyógyszerként való alkalmazásakor fellépő enzimindukció okozhat problémát, hanem az *enzimgátló* tulajdonságú molekulák is. A specifikus P450 enzimgátlók kovalens kötés révén módosíthatják az enzim fehérje részét vagy a hem részt, esetleg mindkettőt („mechanism based inactivator”), ily módon visszafordíthatatlanul csökkentik a katalitikus aktivitást.

III.4 A toxicitás molekuláris mechanizmusai

A szervezetbe kerülő testidegen anyagok többsége eredeti szerkezetének a szervezeten belüli módosítása nélkül nem okoz toxikus hatásokat. A kivételek (pl. hidrogén-cianid, szén-monoxid) jól ismert mérgek, vagy a daganatterápiában alkalmazott hatóanyagok. Azonban az eredetileg nem-toxikus vegyületek fent leírt biotranszformációs átalakulásai során is képződhetnek méregként ismert vegyületek (pl. amigdalinnal hidrogén-cianid), vagy olyan reaktív metabolitok, melyek a sejt makromolekuláival (pl. lipidek, fehérjék, nukleinsavak) kémiai reakcióba lépnek és ezáltal megváltoztatják azok szerkezetét és funkcióját. Amennyiben a képződő reaktív metabolitok kimerítik a szervezet védekező mechanizmusainak kapacitását, úgy toxikus hatások alakulnak ki.

A képződő reaktív metabolitok legtöbbje elektrofil tulajdonságú és kovalens kötés kialakítására képes a sejt molekuláinak nukleofil centrumaival (pl. hidroxil-, amino- és merkaptocsoportok). A makromolekulák szerkezetének módosítása, vagy az azokkal képzett stabilis komplexek képződése a kémiai alapja a testidegen vegyületek megfigyelhető toxikus, esetenként daganatkeltő hatásainak. A szervezetbe került gyógyszervegyületek metabolikus transzformációján alapuló toxikus hatások leggyakoribb mechanizmusait a III-45. ábra mutatja be.

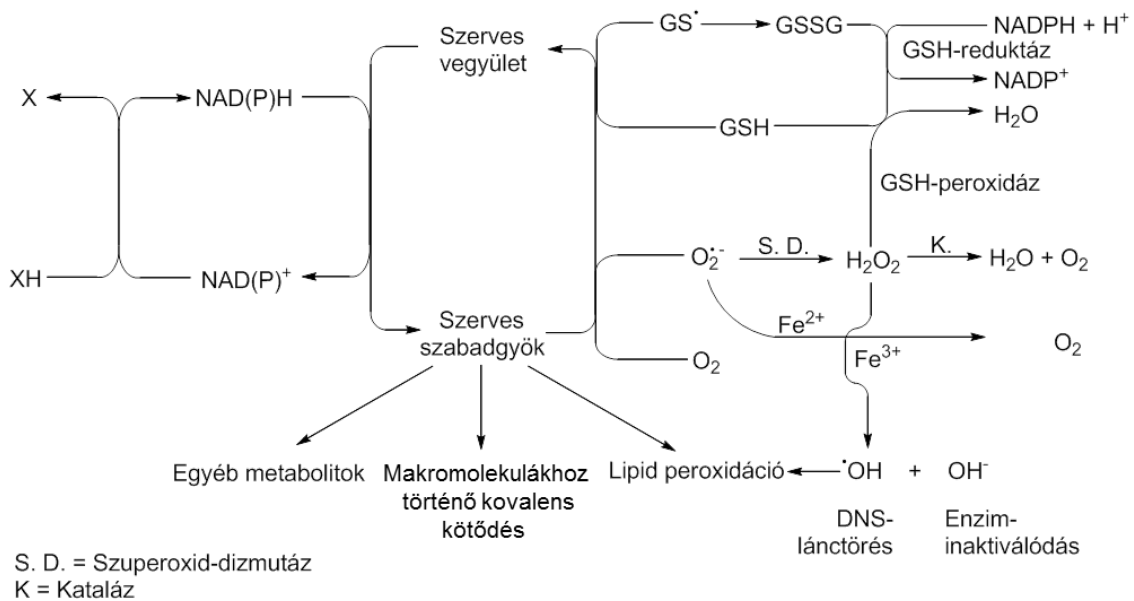
III-45. ábra: A testidegen anyagok metabolizmusán alapuló toxikus hatások molekuláris mechanizmusai.



A toxikus hatás kialakításért végeredményében felelőssé tehető *reaktív metabolitok* lehetnek a

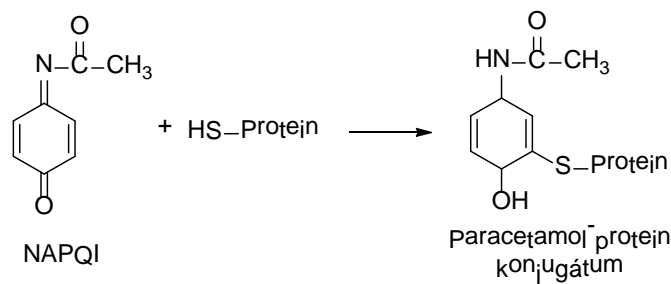
- a) xenobiotikumból közvetlenül képződő *reaktív gyökök*, ionok, vagy elektrofil centrumot hordozó molekulák;
 - vagy a xenobiotikum biotranszformációja eredményeként kialakuló
 - b) *reaktív oxigén- vagy nitrogénszármazékok* (pl. szuperoxid-anion, hidroxilgyök és peroxinitril-gyök), vagy
 - c) *endogén vegyületek metabolitjai* (pl. malonaldehid, 4-hidroxinonenal).
- A toxikus hatás kialakításért végeredményében felelőssé tehető reaktív metabolitok képződésének mechanizmusait a III-46. ábra mutatja be.

III-46. ábra: A toxikus hatás kialakításért végeredményében felelőssé tehető reaktív metabolitok képződésének mechanizmusai.



A reaktív metabolitok egy nagy csoportjának toxikus hatása a metabolitok (gyökök, ionok, vagy elektrofil centrumot hordozó molekulák) és a cellulális makromolekulák nukleofil atomjai (pl. N, O, S) között lejátszódó kovalens kölcsönhatás eredménye. Jól ismert példája az ilyen típusú toxikus hatásoknak a paracetamol metabolizmusa során keletkező *N*-acetil-*p*-benzokinonimin (NAPQI) protein SH-csoportokkal lejátszódó reakciója által inicializált hepatotoxikus hatás (III-47. ábra).

III-47. ábra: Az *N*-acetil-*p*-benzoquinonimin (NAPQI) fehérje-SH csoportokkal lejátszódó reakciója.

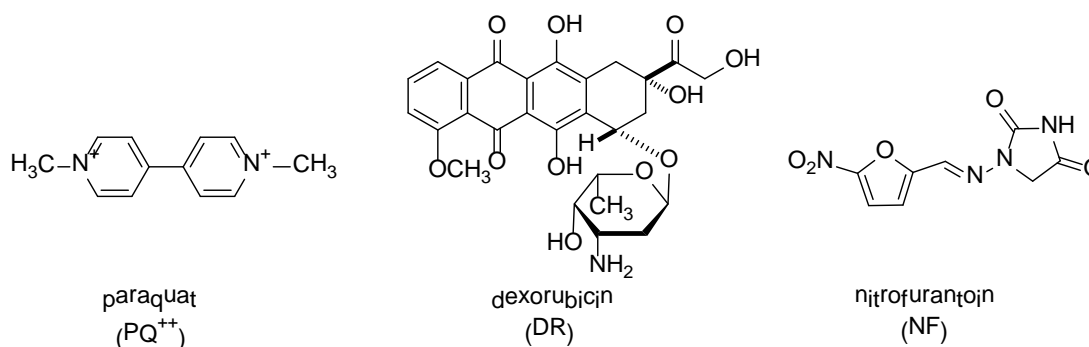


A fehérjékhez kapcsolódó kismolekulák – kovalensen módosítva a fehérje elsődleges szerkezetét – módosítják a fehérjék funkcióit, melynek eredményeképpen módosulhat a sejt metabolikus homeostátusza, és annak következtében toxikus hatás alakulhat ki.

Egy másik lehetséges toxikus mechanizmus alapját a kismolekula-fehérje konjugátum antigén tulajdonsága eredményezheti, ami az immunrendszer károsodásán alapuló nemkívánt (toxikus) hatások kialakulásához vezethet (III-45. ábra).

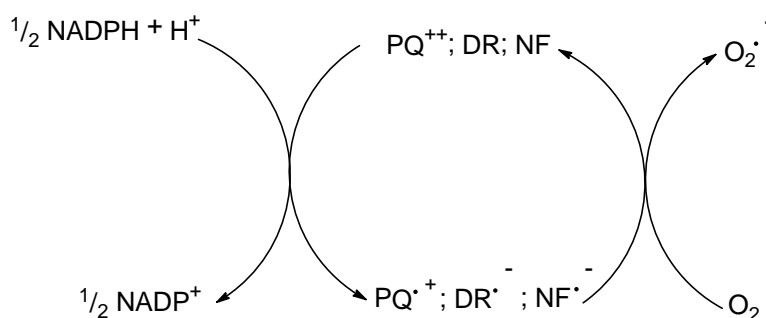
A keletkező reaktív metabolitok gyakran további, gyakran a testidegen anyagokból közvetlenül keletkező metabolitnál jóval reaktívabb elektrofil tulajdonságú molekulák/ionok/gyökök keletkezését iniciálják. E vegyületek egyik nagy csoportját képezik azok a testidegen anyagok (pl. *paraquat*, *doxorubicin*, *nitrofurantoin*), melyek metabolitjai reaktív szabad gyökök (reaktív oxigén- és nitrogénszármazékok) keletkezését generálják (III-48. ábra).

III-48. ábra: A paraquat (PQ⁺⁺), a doxorubicin (DR) és a nitrofurantoin (NF) szerkezeti képlete



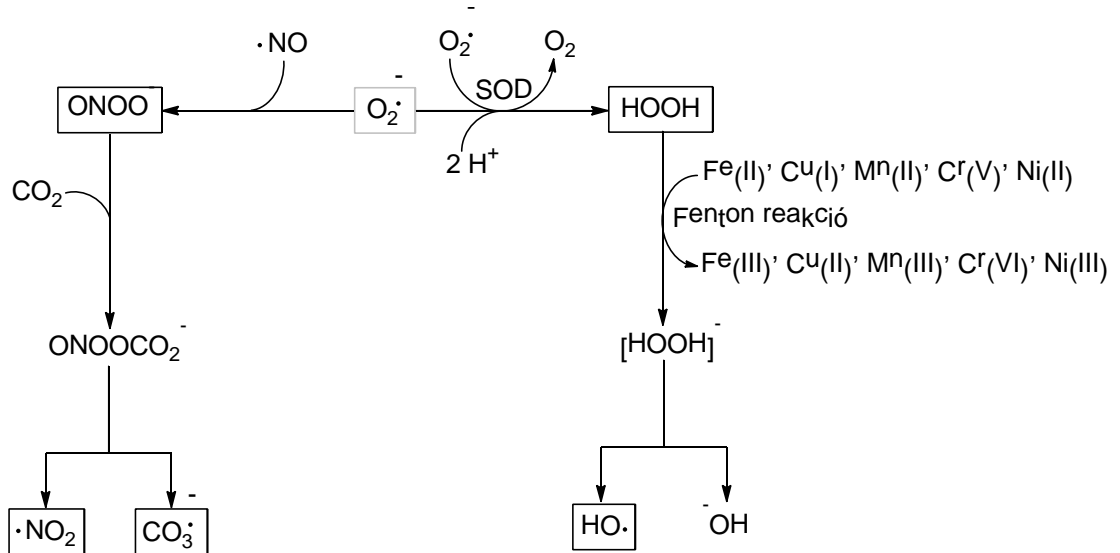
A paraquat (PQ⁺⁺), a doxorubicin (DR) és a nitrofurantoin (NF) (III-46. ábra) például, reduktáz enzimek (pl. NADPH: citokróm P-450 reduktáz) által katalizált egyelektronos redukciója gyök típusú metabolit képződését eredményezi. Ezek a metabolitok – lévén erős redukálószeresek – képesek a redukciójuk során nyert elektront egy dioxigén (O₂) molekulának átadni, ami egyidejűleg szuperoxid gyökianionná (O₂^{•-}) alakul. Ugyanakkor a redukált molekulák (PQ^{•+}; DR^{•-}; NF^{•-}) visszaalakulnak az eredeti struktúráikká (PQ⁺⁺; DR; NF), melyek képesek újabb egyelektronos redukciós folyamatban részt venni (III-49. ábra).

III-49. ábra: Szuperoxid gyökianion képződése paraquat (PQ⁺⁺), doxorubicin (DR) és nitrofurantoin (NF) redox-ciklus reakcióiban



A folyamatot a szakirodalom *redox-ciklusként* írja le. A redox-ciklusban keletkező szuperoxid gyökanion továbbalakulása számos nitrogén- és oxigénatom-centrumú reaktív szabadgyök képződését eredményezheti (III-50. ábra).

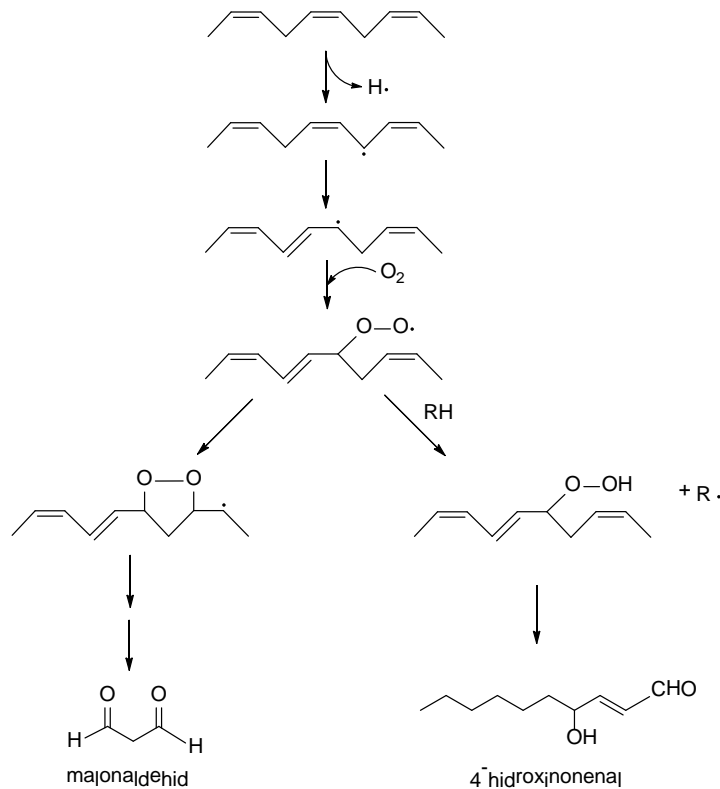
III-50. ábra: A szuperoxid gyökanion továbbalakulásával képződő reaktív gyökök.



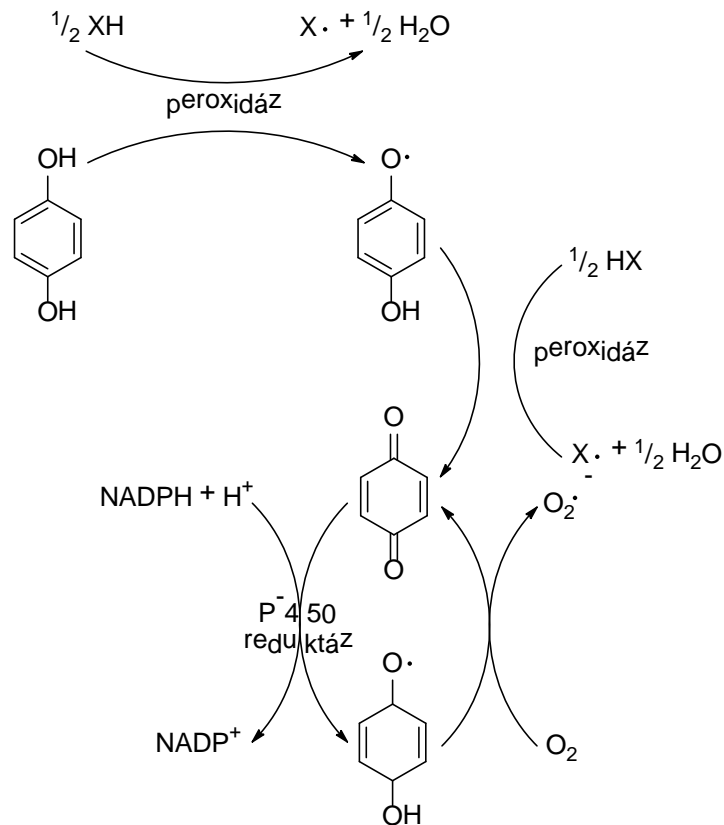
A szuperoxid gyökanion továbbalakulásának egyik útjának első lépését a szuperoxid-dimutáz (SOD) enzimek katalizálják, melyben hidrogén-peroxid (H_2O_2) keletkezik. A keletkező hidrogén-peroxid vegyértékváltó fémionokkal (pl. Fe(II), Cu(II), Cr(V)) lejátszódó reakcióban (Fenton-reakció) hidroxilgyök (OH^\cdot) keletkezését eredményezi. A hidroxilgyök az *in vivo* körülmények között keletkező legreaktívabb szabadgyök, ami képes mind a fehérjék, a nukleinsavak és a lipidek szerkezetét kémiai módon módosítani.

A szuperoxid gyökanion egy másik átalakulási lehetőségét jelenti – elsősorban a nitrogénoxid-szintáz enzimet konstitutív módon expresszáló ideg- és endotelsejtekben – a nitrogénoxiddal lejátszódó reakciója (III-50. ábra). A szuperoxid gyökanion és nitrogénoxid reakciójában keletkező peroxinitrit-ion (ONOO^\cdot) széndioxiddal lejátszódó reakciójában nitrozoperoxikarbonát-ion (ONOOCO_2^-) képződik, ami spontán reakcióban a karbonátionra és a reaktív nitrogén-dioxid molekulára bomlik. A gyök típusú nitrogén-dioxid molekula fiziológiás körülmények között aromás gyűrűk (pl. tirozin) nitrálási reakciójában, valamint oxidálószerként reagál.

A keletkező reaktív szabadgyökök (OH^\cdot ; NO_2) a szervezet makromolekulával reagálva azok közvetlen károsodását idézhetik elő, megváltoztatva a makromolekulák által betöltött biológiai funkciók megváltozását. A megváltozott biológiai funkciók toxikus hatások molekuláris alapjai képezhetik. A megváltozott biológiai funkció túlmenően, a makromolekulák oxidatív károsodása a makromolekulákból képződő, elektrofil tulajdonságú kismolekulák (pl. malonaldehid, 4-hidroxinonenal) képződését eredményezhetik. A keletkező, az oxidatív károsodást előidéző gyököknél (OH^\cdot , NO_2) jóval hosszabb életidejű elektrofil molekulák a képződésük helyétől távoli szervekben, szövetekben is képesek toxikus hatásokat kiváltani. A telítetlen zsírsavak hidroxilgyökökkel lejátszódó reakcióiban (lipidperoxidáció) képződő malonaldehid és 4-hidroxinonenal képződésének reakcióútjait a III-51 ábra mutatja be.

III-51. ábra: A lipidperoxidáció molekuláris mechanizmusa.

Nukleofil funkciós csoportot hordozó testidegen vegyületek (pl. fenolok, hidrokinonok, aminok, hidrazinok, fenotiazinok, és tiolok) peroxidáz enzimek által katalizált reakciókban elektronvesztéssel képesek reaktív gyök típusú metabolittá alakulni. A vegyületek egy csoportja –pl. katechol- és hidrokinon-származékok – képesek két egymást követő egy elektronvesztéssel járó oxidációs reakcióban részt venni, előbb szemikinon-, majd kinonszármazékká alakulva (III-52. ábra). A keletkező kifonok – bár nem reaktív elektrofil tulajdonságú vegyületek – potenciális elektronakceptor vegyületek, melyek az előzőekben leírtak alapján redox-ciklus kialakulásában vehetnek részt (III-52. ábra).

III-52. ábra 1,4-benzokínok képződése és redox-ciklusa

Szabad gyökök keletkezhetnek alkilhalogenidek szén-halogén kötéseinek redukív, homolitikus felszakadásával is. Ez a reakció szerepet játszik a széntetraklorid hepatotoxikus hatásának kialakulásában is. A széntetraklorid (CCl₄) molekulára a citokróm P-450 enzimkomplexről, vagy a mitokondriális elektron transzport láncról átkerülő elektron (redukív dehalogenáció) eredményeképpen keletkező triklórmetilgyök (Cl₃C·) dioxi- gen molekulával reagálva triklórmetil-peroxigyök (Cl₃COO·) keletkezését eredményezi, aminek továbbalakulása – a hidrogén-peroxidhoz hasonlóan – hidroxilgyök képződéséhez vezethet.

Megemlítendő, hogy a szervezetben számos endogén folyamat, így pl. a monoamin-oxidáz, a xantin-oxidáz és az acil-koenzim-A oxidáz enzimek által katalizált reakciók is hidrogén-peroxid képződését eredményezi.

Amint az előző fejezetek bemutatták, a gyógyszerek alkalmazása során tapasztalható nemkívánt (toxikus) gyógyszerhatások farmakológiai, kémiai, biokémiai alapjai igen szerteágazóak. Egy részük szorosan a gyógyszer ismert farmakológiai (fő-, mellék- és toxikus) hatásaival kapcsolatos, más típusai azonban a gyógyszerkivizsgálások jelenleg alkalmazott módszereivel nem szükségszerűen felismerhetők. Az egyik általánosan elfogadott csoportosítás alapján az előbbieket a nemkívánt gyógyszerhatások (ADR) *A-típusú*, míg az utóbbiakat a *B-típusú* csoportjába sorolhatók. Kiseb- b jelentőségűek, de mindenképpen megemlítendőek a C, D, E és F csoportba sorolható nemkívánt gyógyszerhatások is (III-5. táblázat).

III-5 táblázat: A nemkívánt gyógszerhatások (ADR) csoportjai

Típus	Leírás	Jellemzők
A: Felerősített (Augmented)	Dózisfüggő	A farmakológiai (fő-, mellék- és toxikus) hatásokkal kapcsolatos. Pl. digoxin toxicitás, paracetamol hepatotoxicitás
B: Idioszinkráziás („Bizarre”)	Nem dózisfüggő	A farmakológiai hatásokkal nem kapcsolatos. Metabolikus vagy immunológiai háttérű. Pl. izoniazid hepatotoxicitás, diklofenák hepatotoxicitás, penicillin allergia.
C: Folyamatos vagy krónikus hosszabb idejű („Chronic”)	Dózis- és időfüggő	A gyógszer alkalmazásával kapcsolatos. Pl.: NSAID-indukált veseelégtelenség, benzodiazepinekkal szemben kialakuló tolerancia vagy dependencia.
D: Késleltetett („Delayed”)	Időfüggő, általában	Csak a gyógszer alkalmazását követően, hosszabb idő dózisfüggő eltelte után jelentkező hatás. Pl. talidomid alkalmazása a terhesség első trimeszterében, a karok fokoméliája az újszülöttben; gyógszer-indukált karcinogenezis.
E: Abbaahagyást követő („End of use”)	Abbaahagyást követő	A gyógszer rendszeres szedésének abbaahagyását követően jelentkező hatás. Pl. ópíátok megvonási tünetei; béta-blokkolók szedésének abbaahagyását követő miokardiális ischémia.
F: Elmaradó terápiás hatás („Failure”)	Dózisfüggő, gyakran gyógszer interakciók eredménye	Per os fogamzásgátlók hatásának elmaradása.

A B-típusú (*idoszinkráziás*) nemkívánt gyógszerhatások közös tulajdonsága, hogy „váratlanok” (a nemkívánt hatás a korábbi farmakológiai-toxicológiai vizsgálatok eredményeiből előre nem jelezhető), alacsony gyakoriságúak (előfordulásuk gyakorisága a humán populációban kisebb, mint 1/5000) és nem dózisfüggőek. Feltételezhető, hogy kialakulásuk multifaktoriális, előfordulásuk gyakorisága az individuális hatásvektorok gyakoriságának szorzatával jellemezhető. A hatás gyakran súlyos, életet veszélyeztető. A hatások egy része (de nem mindegyike) immunológiai eredetű.

Az ismert klinikai jelentőséggel bíró *idioszinkráziás* hepatotoxicitást okozó gyógyszereket a III-6. táblázat mutatja be. A III-6. táblázatban szereplő idioszinkráziás hepatotoxicitást okozó gyógyszerek legfontosabb közös tulajdonságai a következők:

1. A gyógyszerek legtöbbszörrel kapcsolatban megállapítható volt, hogy biotranszformációjuk eredményeképpen reaktív metabolito(ka)t és fehérjeadduktokat képeznek.
2. A táblázatban szereplő gyógyszerek közül 20 esetén ismert a fehérjeadduktot képző reaktív metabolit képződését katalizáló enzim, melyek közül 16 a citokróm P450 (CYP) enzimek egyike. A legtöbb reaktív metabolit a CYP3A4 izoenzim által katalizált reakcióban képződik.
3. A vegyületek egy része ismert CYP induktor. A legtöbb induktor a CYP3A enzimek induktora. Mivel a biotranszformáció során a legtöbb reaktív metabolit a CYP enzimek által katalizált folyamatokban képződik, a gyógyszerek e tulajdonsága számos a szervezetbe kerülő testidegen anyagból képződő hepatotoxikus reaktív metabolit megnövekedett mennyiségének képződését eredményezheti.
4. Szinte mindegyik gyógyszernek ismert klinikai jelentőséggel bíró gyógyszerkölcsönhatása. E tapasztalat minden bizonnyal kapcsolatos azzal, hogy a vegyületek toxikus metabolitokhoz vezető biotranszformációja a legtöbb ismert esetben CYP enzimek által katalizált, és a vegyületek közül több a CYP enzimek induktora.
5. A gyógyszerek legtöbbszörének napi adagja relatíve magas (magasabb, mint 100 mg) (lásd III-6. táblázat). Feltételezhető, hogy az idioszinkráziás nemkívánt gyógyszerhatások kialakulásának valószínűsége alacsonyabb dózisok esetén alacsonyabb.

III-6 táblázat: Klinikai jelentőséggel bíró idioszinkráziás hepatotoxicitást okozó gyógyszerek

Gyógyszer dózis	Hatástani csoport	Tipikus napi
Paracetamol	Analgetikum	1000 mg
Alpidem	Anxiolitikum	225 mg
Amineptin	Antidepresszáns	200 mg
Amodiaquine	Maláriaellenes szer	200-1000 mg
Bromfenák	Analgetikum	25-100 mg
Karbamazepin	Antiepileptikum	600 mg
Kombinált HIV-terápia	HIV-ellenes szerek	
Ciproteron-acetát	Androgén antagonistá	200 mg
Diklofenák	NSAID	100 mg
Didezoxiinozin	HIV-ellenes szer	750 mg
Dihidralazin	Antihipertenzív szer	100-150 mg
Ebrotidin	H ₂ -receptor antagonistá	400-800 mg
Enalapril	Antihipertenzív szer	10-20 mg
Felbamát	Antiepileptikum	600-1200 mg
Flutamid	Antiandrogén	750 mg
Halotán	Általános érzéstelenítő	0,5-3%
Izoniazid	Antituberkulotikum	350 mg
Ketokonazol	Antimikotikum	200 mg

Gyógyszer dózis	Hatástani csoport	Tipikus napi
Metoxiflurán	Általános érzéstelenítő	0,5-3%
Minociklin	Antibiotikum	100-200 mg
Nefazodon	Antidepresszáns	200 mg
Fenobarbitál	Antikonvulzáns	100-200 mg
Phenprocoumon	Antikoaguláns	1,5-6 mg
Fenitoin	Antiepileptikum	300 mg
Prokainamid	Antiarritmiás szer	3500 mg
Pirazinamid	Antituberkulotikum	1500 mg
Rifampicin	Antibiotikum	600 mg
Szalicilát	Analgetikum,	3900 mg
Szalazosulfapiridin	Crohn-betegség	4000 mg
Takrin	Alzheimer-kór	40 mg
Tienilsav	Diuretikum	250 mg
Troglitazon	Antidiabetikum	400 mg
Valproesav	Antiepileptikum	200 mg

A fenti közös tulajdonságokon túlmenően megemlítendő, hogy fiziológiai, életviteli és környezeti hatások befolyással bírnak számos, a reaktív metabolitok képződéséért felelős enzim aktivitására, valamint a reaktív metabolitok eliminálásában fontos szerepet betöltő redukált glutation (GSH) celluláris szintjére. Ugyanakkor, a szervezetbe kerülő gyógyszerek farmakokinetikáját, a reaktív metabolitok képződését és eliminációját jelentő reakcióutak hatékonyságát a fentiekben túl genetikai faktorok is befolyásolhatják. Mindezek az egyénekenként változó faktorok eredője bizonyosan alapvető fontossággal bír az idioszinkráziás toxikus hatások kialakulásában.

III.5 Kérdések, feladatok.

1. Ismertesse a Fázis 1 reakciók jellemzőit!
2. Ismertesse a Fázis 2 reakciók jellemzőit!
3. Jellemezze a mikroszómális és a nem-mikroszómális enzimeket!
4. Definiálja a fahéjsav benzoosavvá történő metabolikus átalakulási reakciójának típusát!
5. Definiálja a kinasav benzoosavvá történő metabolikus átalakulási reakciójának típusát!
6. Definiálja a benzoosav hippursavvá történő metabolikus átalakulási reakciójának típusát!
7. Definiálja a prontosil *p*-aminobenzolszulfonamiddá történő metabolikus átalakulási reakciójának típusát!
8. Soroljon fel három oxidációt katalizáló enzimet és az enzimek lokalizációját!
9. Soroljon fel három redukciót katalizáló enzimet és az enzimek lokalizációját!
10. Soroljon fel három hidrolitikus átalakulást katalizáló enzimet és az enzimek lokalizációját!
11. Jellemezze a CYP450 enzimek szerkezetét!
12. Milyen reakción alapul a CYP450 enzimek elnevezése?
13. A fehérjerész szerkezeti hasonlósága alapján hogyan különböztethetők meg az egyes CYP450 enzimek?

14. Sorolja fel a CYP450 enzimek emberi májban legnagyobb mennyiségben expresszáldó három formáját!
15. Írja le a CYP450 enzimek által katalizált reakciók általánosított reakcióegyenletét! Határozza meg a molekuláris oxigén (O_2) oxigénatomjainak oxidációs szám változását!
16. Határozza meg a vas- és az oxigénatomok oxidációs számát a CYP450 perferril-oxenoid komplexben!
17. Írja le a CYP450 enzimek által katalizált aromás hidroxiláció molekuláris mechanizmusát!
18. Értelmezze a CYP450 enzimek által katalizált O-dealkiláció molekuláris mechanizmusát!
19. Értelmezze a CYP450 enzimek által katalizált N-dealkiláció molekuláris mechanizmusát!
20. Értelmezze a paracetamol N-acetil-*p*-benzokinonimin (NAPQI) metabolittá történő átalakulásának molekuláris mechanizmusát!
21. Értelmezze a redukált FAD ($FADH_2$) és a dioxigén (O_2) molekula között lejátszódó reakció molekuláris mechanizmusát!
22. Értelmezze a nikotin nikotin-1'-N-oxid metabolittá történő átalakulásának molekuláris mechanizmusát!
23. Értelmezze a tioalkoholok diszulfidokká történő átalakulásának molekuláris mechanizmusát!
24. Értelmezze a metamizol metamizol-S-oxid metabolittá történő átalakulásának molekuláris mechanizmusát!
25. Jellemezze a peroxidáz enzimek által katalizált reakciók molekuláris mechanizmusát!
26. Jellemezze a prosztaglandin-H-szintetáz (PHS) enzim peroxidáz funkciójának molekuláris mechanizmusát!
27. Sorolja fel a peroxidáz enzimek által katalizált egyelektronos oxidációs reakciók leggyakoribb szubsztrátjait!
28. Mi az akut metanol-mérgezés etanol bevitellel történő delokalizáció molekuláris mechanizmusa?
29. Hogyan befolyásolja az ALDH2 izoenzim polimorfizmusa az etanol biológiai hatásait?
30. Mik a monoamino-oxidáz (MAO) enzimek által katalizált reakciók termékei?
31. Sorolja fel a mikroszómális Fázis 2 reakciókat katalizáló enzimeket!
32. Hasonlítsa össze a paracetamol és a paracetamol-glükuronid legfontosabb fizikai-kémiai tulajdonságait (pl. vízdékonyság, sav-bázis tulajdonságok)!
33. Hasonlítsa össze a paracetamol és az ibuprofén glükuronid-konjugátumainak szerkezeti jellemzőit!
34. Jellemezze az UDP-glükuroniltranszferáz (UGT) enzimek által katalizált reakciók molekuláris mechanizmusát!
35. Hasonlítsa össze az UDP-glükuronsav és a paracetamol-glükuronid sztereokémiáját!
36. Definiálja az epimerizáció folyamatát!
37. Sorolja fel a glükuronid-konjugátumok öt szerkezeti csoportját!
38. Jellemezze a glükuronidáz enzimek által katalizált reakcióit!
39. Értelmezze a 2-aminonaftalin húgyhólyag daganatot eredményező hatásának molekuláris mechanizmusát!

40. Hasonlítsa össze a paracetamol és a paracetamol-szulfát legfontosabb fizikai-kémiai tulajdonságait (pl. vízdékonyság, sav-bázis tulajdonságok)!
41. Jellemezze a 3'-foszfoadenozin-5'-foszfoszulfát (PAPS) „foszfoszulfát” molekularészének szerkezetét!
42. Jellemezze a szulfotranszferáz enzimek által katalizált reakciók molekuláris mechanizmusát!
43. Jellemezze az aminosav-konjugációs reakciók molekuláris mechanizmusát!
44. Hasonlítsa össze a különböző szerkezetű karbonsavak fő metabolikus útvonalait!
45. Jellemezze a redukált glutation (GSH) sav-bázis tulajdonságait!
46. Jellemezze a redukált glutation (GSH) sztereokémiáját; adja meg a királis szénatomok számát és a lehetséges izomerek számát!
47. Jellemezze a redukált glutation (GSH) redox tulajdonságait; jelentőségét a celluláris redox-homeosztázis fenntartásában!
48. Jellemezze a redukált glutation (GSH) etakrinsavval lejátszódó reakciójában keletkező vegyület sztereokémiáját!
49. Írja le a GSH-konjugátumok merkaptursav-származékokká történő átalakulásának folyamatát!
50. Jellemezze a különböző glutation-S-transzferáz (GST) enzimek szerkezetét!
51. Írja le a dihidroalkánok és a redukált glutation (GSH) reakciójában képződő episzulfónium-ionok képződésének molekuláris mechanizmusát!
52. Hasonlítsa össze a *m*-aminobenzoésav és az N-acetil-*m*-aminobenzoésav legfontosabb fizikai-kémiai tulajdonságait (pl. vízdékonyság, sav-bázis tulajdonságok)!
53. Jellemezze az N-acetiltranszferáz (NAT) enzimek által katalizált reakciók molekuláris mechanizmusát!
54. Írja le az N-acetiltranszferáz (NAT) enzimek genetikai polimorfizmusának toxikológiai jelentőségét!
55. Jellemezze az S-adenozilmetionin (SAM) molekula szerkezetét!
56. Jellemezze a katechol-O-metiltranszferáz (COMT) által katalizált reakciók molekuláris mechanizmusát!
57. Egy-egy példát is említve, sorolja fel a különböző típusú metilezési reakciókat!
58. Írja le a tiopurin-metiltranszferáz (TPMT) enzim polimorfizmusának klinikai jelentőségét!
59. Jellemezze a metabolizáló enzimek aktivitását befolyásoló tényezőket!
60. Sorolja fel a vékonybél epithelsejtekben legnagyobb mennyiségben expresszáldó CYP3A4 izoenzim 3-3 inhibitorát és induktorát!

IV A paracetamol toxicitás

Az átlagéletkor növekedése eredményeképpen folyamatosan növekszik az emberi életkor azon szakasza, melyben rendszeres gyógyszeres kezelést igényel több krónikus kórtünet és megbetegedés (pl. diabetes, pszichiátriai kórképek vagy menopauza). Ezen időben az elhúzódó, rendszeres gyógyszeres kezelések számának növekedése fokozottan ráirányítja a figyelmet a kombinált gyógyszeres terápiák optimális megválasztására, az egyidőben alkalmazott gyógyszerek, a gyógyszerek és az élelmiszerek, valamint a gyógyszerek és környezetből a szervezetbe kerülő egyéb kémiai anyagok közötti kölcsönhatások (interakciók) természetének minél alaposabb megismerésére.

A gyógyszerhatás farmakodinámiai szakaszában kialakuló kölcsönhatások általában biztonsággal megjósolhatók, gyógyszerhatástani ismeretek alapján előre elemezhetők. A gyógyszerhatás farmakokinetikai fázisában kialakuló, elsősorban a gyógyszerek biotranszformációján alapuló kölcsönhatások elemzése már némiképpen összetettebb feladat. A gyógyszerek és az egyéb testidegen anyagok biotranszformációjában résztvevő enzimek katalitikus aktivitását az egyes enzimeket kódoló gének esetleges variációin (genetikai polimorfizmus) túl a kor és a nem, az étkezési és életvitelbeli szokások (pl. dohányzás, alkoholfogyasztás), egyes betegségek (pl. daganatos megbetegedések, diabetes, Parkinson-kór) és egyes környezeti tényezők (pl. levegőszennyeződés, peszticid maradványok) is befolyásolják. Mindezek, valamint a hosszabb ideig rendszeresen szedett gyógyszer(ek) a kérdéses enzimek egyéneként eltérő, időben változó expresszióját alakíthatják ki, melyek ismerete elengedhetetlen a személyre szabott optimális gyógyszeres terápia megválasztásához.

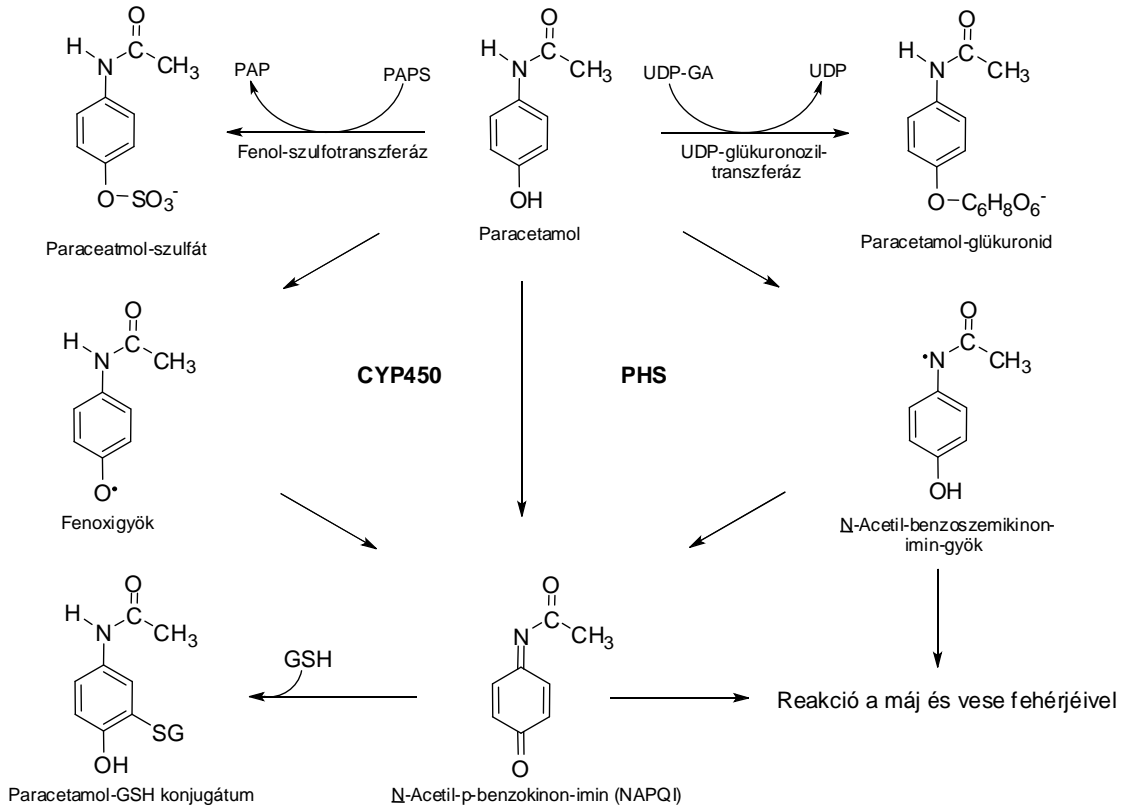
Ismeretes, hogy a szervezetbe kerülő testidegen anyagok (pl. gyógyszerek, élvezeti szerek és környezeti szennyezőanyagok) biotranszformációja reaktív (toxikus) metabolitok képződéséhez vezethet. Amennyiben e metabolitok képződése a vártnál intenzívebb és/vagy a szervezet védekező mechanizmusainak kapacitása az átlagosnál alacsonyabb – és így nem elegendő a képződő reaktív metabolitok hatékony eliminálására – úgy krónikus, súlyosabb esetben akut toxikus hatások alakulnak ki. E közlemény első része annak a sorozatnak, melynek célja, hogy áttekintést adjon a testidegen anyagok biotranszformációján alapuló nem kívánt (toxikus) gyógyszerhatások leggyakoribb kémiai mechanizmusairól és az azokat módosító hatásokról.

IV.1 A paracetamol biotranszformációja és toxikus hatásai kialakulásának mechanizmusai

A testidegen anyagból közvetlenül képződő reaktív részek által kiváltott toxicitás egyik példája a paracetamol okozta máj- és vesekárosító hatás. A paracetamol terápiás dózisában (1–3 g/nap) biztonságos fájdalomcsillapító és lázcsökkentő szernek tekinthető. A *per os* alkalmazott paracetamol ($pK_a=9,7$) gyorsan felszívódik a gyomorbél rendszerből. Eliminációs fél-életideje 2–3 óra. A felszívódott gyógyszer legnagyobb mennyisége a májban paracetamol-glükuronid és paracetamol-szulfát származékokká alakul át (IV-1. ábra). A glükuronid- és a szulfát-konjugátumok mennyiségének aránya az alkalmazott dózis függvénye. Alacsonyabb dózisok esetén – a fenol-szulfotranszferáz enzimmel szemben mutatott magasabb affinitása következtében – a szulfát-észter a nagyobb mennyiségben képződő konjugátum. Az alkalmazott dózis mintegy 3–4%-a változatlan formában a vesén keresztül ürül ki a szervezetből és hasonló mennyisége

metabolizálódik a citokróm P450 enzimrendszer által. A citokróm P450 enzimek által katalizált biotranszformáció végterméke a reaktív N-acetil-*p*-benzokinonimin (NAPQI) (IV-1. ábra).

IV-1. ábra: A paracetamol biotranszformációja.



Megjegyzés: PAPS = 3'-foszfoadenozin-5'-foszfát. UDP-GS = uridin-difoszfát-glükuronsav. UDP = uridin-difoszfát. PHS = prosztaglandin-H szintetáz. GSH = redukált glutation.

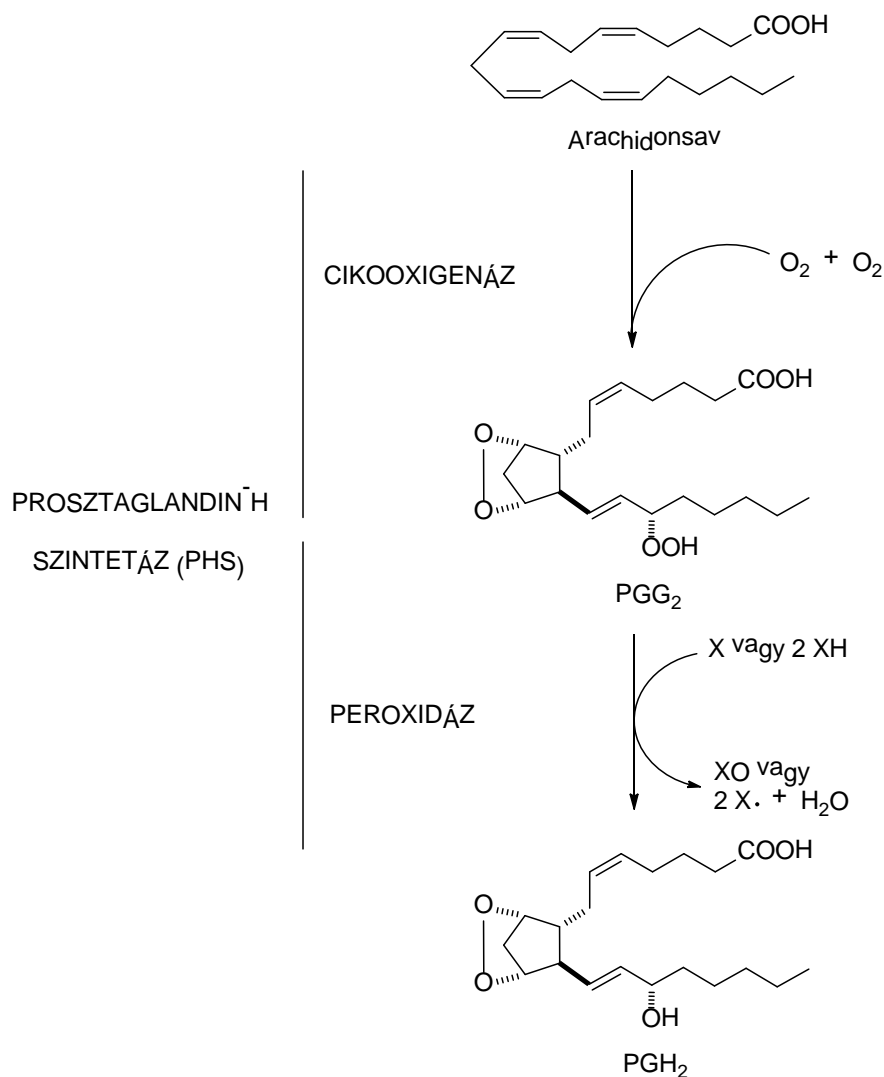
A glükuronid- és szulfát konjugátumok képződése eredményeképpen vízben jól oldódó, a vizelettel ürülő nem-toxikus metabolitok keletkeznek. A NAPQI, illetve a képződéséhez vezető fenoxigyök és N-acetil-benzoszemikinonon-imin-gyök a paracetamol biotranszformációjának reaktív metabolitjai, melyek elektrofil karakterük következtében egyrészt közvetlenül is képesek reagálni a sejt makromolekuláinak nukleofil centrumaival, másrészt reaktív oxigéngyökök képződését eredményezhetik (B-típusú toxikus folyamat).

A terápiás dózisban alkalmazott paracetamolból képződő NAPQI és a képződéséhez vezető reaktív intermedierek gyorsan elreagálnak a máj citoszol fiziológiásan 6–8 mM koncentrációban jelen lévő redukált glutation (GSH) tartalmával (IV-1. ábra). Minden a NAPQI mennyiségét növelő (pl. paracetamol túladagolás) és a GSH mennyiségét csökkentő (pl. rendszeres alkoholfogyasztás) hatás azonban ezen eliminációs mechanizmus vártnál gyorsabb kimerülését eredményezi, ami elsősorban a NAPQI és a fehérjék SH- és/vagy NH₂-csoportjai között lejátszódó reakción keresztül a paracetamol májkárosító hatásának (nekrózis) kialakulásához vezet.

Ugyancsak a NAPQI képződését tartják felelősnek a túladagolt paracetamol okozta vesekárosító hatás kialakulásáért is. A vese medullában keletkező NAPQI képződéséért azonban elsősorban nem a CYP enzimek (melyek expressziója itt igen

alacsony), hanem a *prostaglandin-H szintetáz* (PHS) enzim felelős. Ez utóbbi enzim két típusú katalitikus aktivitással (*ciklooxygenáz* és *peroxidáz*) rendelkezik. A ciklooxygenáz funkció az arachidonsav PGG₂-vé, míg a peroxidáz aktivitás a PGG₂ hidroperoxid PGH₂ alkohollá történő átalakítását katalizálja. Ez utóbbi reakció során történik a kooxidációs szubsztrátként jelen lévő xenobiotikum oxidációja (IV-2. ábra).

IV-2. ábra: A prostaglandin-H-szintetáz (PHS) enzim működésének mechanizmusa



IV.2 A paracetamol toxicitást befolyásoló tényezők

A paracetamol toxicitás kialakulásának molekuláris szintű ismeretében sorra vehetjük azokat a leggyakoribb problémákat, ill. kölcsönhatásokat, melyeknek ismerete és elkerülése megelőzheti a paracetamol-okozta máj és vesekárosodás kialakulását. Ezek közül a legkézenfekvőbb, ugyanakkor gyakorta előforduló eset, a *paracetamol túladagolás*. Ez annál is inkább felhívja a figyelmet a recept nélküli paracetamol készítmények kumulált használatának veszélyére, mert a 2011 évi Gyógyszer Kompendiumban felsorolt, paracetamol tartalmú, különböző néven forgalomba hozott gyógyszerkészítmények száma is 21!

A szervek GSH koncentrációja több hatás együttes eredőjeként alakul ki. Ezek közül megemlítendő, hogy a rendszeres alkoholfogyasztás, az éhezés, a fogyókúra csökkent a celluláris GSH szintet. Így a szervezet érzékenyebbé válik többek között a NAPQI okozta máj- és vesekárosító hatással szemben. A celluláris GSH-szint csökkentése figyelhető meg az oxidatív stressz kialakulásával járó, illetve az oxidatív stressz által kiváltott, leggyakrabban krónikus betegségekben (pl. II. típusú diabetes, daganatos megbetegedések, hiperthyreozis, hiperlipidémia) szenvedők esetében is.

A paracetamol NAPQI-t eredményező transzformációját a mikroszómális CYP1A2, CYP2E1 és a CYP3A4 izoenzimek katalizálják. Az izoenzimek közül a CYP2E1 enzim bír a legnagyobb a jelentőséggel a NAPQI képződésében. A három CYP izoenzim néhány további szubsztrátját, gátlóit és induktorait a III. táblázat foglalja össze. Ezek közül figyelemre méltó, hogy a cigarettafüst (CYP1A2), az alkohol (CYP2E1), valamint többek között a *karbamazepin*, az *eritromicin*, a *fenitoin* és a *lyukaslevelű orbáncfű* (*Hypericum perforatum*) kivonata (CYP3A4) a kérdéses enzimek induktorai. Így a szervezetbe történő rendszeres bejutásuk, rendszeres fogyasztásuk, illetve alkalmazásuk – a reaktív metabolit (NAPQI) mennyiségének megnövekedése következtében – a szervezet paracetammal szembeni fokozottabb érzékenységét eredményezi.

Az alkohol fenti hatásai (CYP2E1 indukció, valamint GSH depléció) összegeződésének eredménye, hogy rendszeres alkoholfogyasztók esetén a paracetamol napi dózisének javasolt maximuma csupán fele (2 g/nap) az alkoholt rendszeresen nem fogyasztó, egészséges felnőttek maximális napi adagjának. A rendszeres alkoholfogyasztás eredményeként kialakuló emelkedett CYP2E1 aktivitás csupán az alkohol fogyasztás abbahagyását követő 5. napot követően csökken le a normál érték közelébe. Így az alkoholfogyasztással felhagyó, korábban rendszeresen alkoholt fogyasztók az alkoholemegvonást követő első napokon a paracetamol okozta májtoxicitás szempontjából az egyik leginkább veszélyeztetett csoportot képezik! A CYP2E1 aktivitás még mindig a normális érték többszöröse, ugyanakkor CYP2E1 aktív helye körül már nincsenek jelen a paracetammal versengő alkoholemolekulák.

A szervezetbe kerülő paracetamol legnagyobb mennyisége (mintegy 95%-a) glükuronid- és szulfát-konjugátum formájában a vizelettel ürül ki a szervezetből. Így a két konjugációs folyamat során kialakuló kölcsönhatások, illetve azoknak az időskori, vagy szervspecifikus megbetegedés(ek) következtében kialakuló csökkent kiürülése szintén befolyásolja a vegyület biotranszformációját, illetve toxicitását. Így például a *Crigler-Najjar*-szindrómában és a *Gilbert*-kórban (II. típusú *Crigler-Najjar*-szindróma) szenvedő betegek esetén az UDP-glükuronil-transzferáz enzim csökkent aktivitása figyelhető meg (genetikai polimorfizmus). A megbetegedésekben szenvedők – a megnövekedett mennyiségű NAPQI képződése eredményeképpen – az átlagosnál érzékenyebbek a paracetamol okozta májkárosító hatásra. A máj citoszol termikusan stabil szulfotranszferáz enzimeinek aktivitását genetikai faktorok szintén befolyásolják. Ez a speciális genetikai polimorfizmus különösen gyakori az európai és a kongói embertípusokra és a két közösségben korrelációt mutat a paracetamol-szulfát képződésének egyéni szinten megfigyelhető változásaival.

A paracetamol metabolizmusában résztvevő enzimek közül a CYP1A2 enzim interindividuális aktivitása meglehetősen tág határok között változik, genetikus károsodásának előfordulása igen ritka. A nem-indukált CYP2E1 aktivitás meglehetősen állandó a humán populációban. A CYP3A4 enzim aktivitása ugyancsak nagy individuális különbségeket mutat. Az enzimaktivitás abszolút hiánya azonban ezideig nem volt megfigyelhető. Megemlítendő azonban, hogy a CYP enzimek aktivitására

egyeb megbetegedések is szignifikáns hatást gyakorolnak. A leggyakoribb megbetegedések között a *diabetes*, a *daganatos folyamatok*, valamint a *hipertireózis* található. A diabetes mellett az *elhízás* is hatással van a CYP450 enzimek, így pl. a CYP2E1 izoenzim aktivitására. Így a cukorbetegségben szenvedő túlsúlyos betegek – a megemelkedett CYP2E1 aktivitás és a csökkent GSH-szint következtében – a paracetamol toxicitás egy további fokozottan veszélyeztetett csoportját alkotják.

IV.3 Kérdések, feladatok.

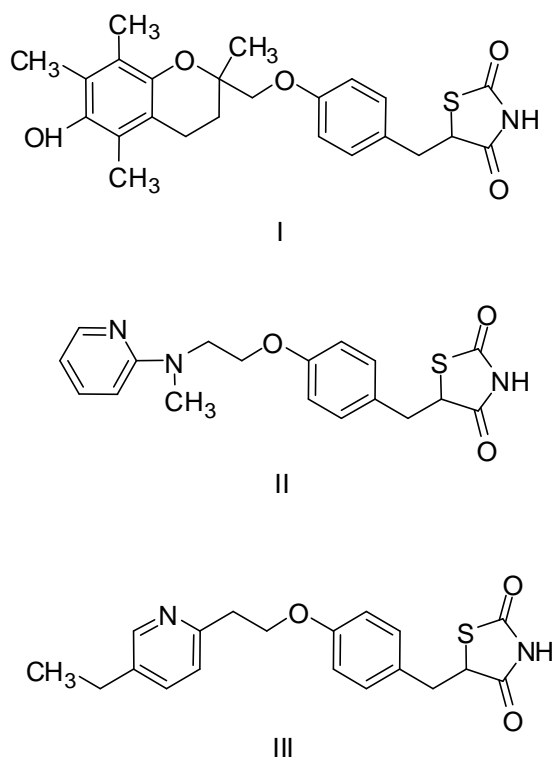
1. Jellemezze a paracetamol sav-bázis tulajdonságait!
2. Hasonlítsa össze a paracetamol és a paracetamol-glükuronid lipofilitását és sav-bázis tulajdonságait!
3. Értelmezze a CYP450 enzimek szerepét a paracetamol N-acetil-*p*-benzokinonimin (NAPQI) metabolittá történő átalakulásában!
4. Értelmezze az N-acetil-*p*-benzokinonimin (NAPQI) metabolit redukált glutationnal (GSH) lejátszódó reakciójának molekuláris mechanizmusát!
5. Értelmezze a paracetamol vesekárosító hatásának molekuláris mechanizmusát!
6. Hogyan változik meg a molekuláris oxigén (O₂) oxigénatomjainak oxidációs száma a prosztaglandin-H-szintetáz (PHS) enzim ciklooxigenáz aktivitása eredményeképpen keletkező prosztaglandin G₂ (PGG₂) molekulában?
7. Értelmezze az oxidatív stresszel járó krónikus megbetegedések paracetamol-toxicitást növelő hatását!
8. Értelmezze a lyukaslevelű orbáncfű (*Hypericum perforatum*) paracetamol-toxicitást növelő hatását!
9. Értelmezze az etanol paracetamol-toxicitást növelő hatását!
10. Értelmezze a *Crigler-Najjar-szindróma* paracetamol-toxicitásra gyakorolt hatását!

V A troglitazon toxicitás.

V.1 A „glitazonok” alkalmazása a diabetes terápiában

A diabetesben szenvedő betegek legnagyobb hányada ún. 2-es típusú diabeteses (nem-inzulinfüggő diabeteses) beteg. A 2-es típusú diabetes kialakulása minden bizonnyal genetikai okokra vezethető vissza, mely kezdeti szakaszában a sejtek inzulinrezisztenciája formájában jelentkezik. Kialakulásának molekuláris mechanizmusában bizonyosan fontos szerepet játszik az elsősorban a zsírszövet eredetű tumor nekrózis faktor alfa változata (TNF α), mely expressziójának megnövekedése a sejtek csökkent inzulinérzékenységéhez vezet. A 2-es típusú diabetes kezdeti szakaszának gyógyszeres kezelésére ma már számos - kizárólagos vagy kombinált formában alkalmazható - orális antidiabetikum áll a kezelést folytató orvos rendelkezésére. Az orális antidiabetikumok egyik legújabb csoportját képezik az ún. 2,4-tiazolidin-dion (TZD) struktúrájú antidiabetikumok, melyek elsőként forgalomba került képviselője a *troglitazon* (I) volt (V-1. ábra).

V-1. ábra: A troglitazon (I), a roziglitazon (II) és a pioglitazon (III) szerkezeti képletei.



A *troglitazon* (TGZ) 1997-ben került az Egyesült Államokban, az Egyesült Királyságban és Japánban bevezetésre. Hasonlóan a további TZD struktúrájú antidiabetikumokhoz, a roziglitazonhoz (II) és a pioglitazonhoz (III) (V-1. ábra), a vegyület antidiabetikus hatásának alapja elsősorban az izom és a zsírszövet sejtjei inzulinérzékenységének fokozása és kisebb mértékben a máj glükóztermelésének csökkentése. A vegyület inzulinrezisztenciát csökkentő hatása elsősorban a sejtben található peroxiszóma-proliferátor-aktiválta receptor gamma változata (PPAR γ) stimulálásának eredménye. A PPAR γ aktivációja a zsírszövet TNF α szekréciójának

csökkenését és annak eredményeképpen a sejtek inzulinérzékenységének növekedését eredményezi. Az inzulinrezisztencia csökkentésének eredményeképpen a TGZ csökkenti a 2-es típusú diabetesre jellemző hiperinzulinémiát, hiperglikémiát és a megnövekedett perifériás lipolízist.

A TGZ kedvező antidiabetikus hatása mellett azonban forgalomba hozatalát követő alkalmazása során néha súlyos májkárosodás kialakulása volt megfigyelhető. A súlyos májkárosodásokhoz, több esetben a kezelt betegek halálához vezető mellékhatások kialakulása miatt, a gyógyszert kifejlesztő és forgalomba hozó gyógyszergyárak a készítményt az Egyesült Királyságban már 1997-ben, az Egyesült Államokban 2000-ben önkéntesen kivonták a forgalomból. A rokon szerkeztű *rozigitazon* és *pioglitazon* alkalmazása során a *troglitazon* által okozott májkárosodásokhoz hasonló súlyosságú esetek ezideig csak néhány esetben fordultak elő. Mindkét forgalomban lévő TZD struktúrájú antidiabetikum alkalmazása esetén azonban a kezelt betegek májfunkcióinak rendszeres ellenőrzését írják elő az engedélyező hatóságok (pl.: *Gyógyszer Kompendium, 2003*). A *troglitazon* alkalmazásával szerzett tapasztalatok ismét előtérbe helyezték a „váratlan”, un. idoszinkrziás gyógyszer toxicitás előfordulásának jelentőségét a gyógyszerkipróbálás és gyógyszerengedélyezés gyakorlatában, valamint a gyógyszeres terápiában.

V.2A hepatotoxicitás mechanizmusai

A TGZ forgalomba hozatalát követően felismert hepatotoxikus hatása és azt követően a forgalomból történő visszavonása nem az első eset a gyógyszerek történetében. A gyógyszerkipróbálás késői fázisában felismert hepatotoxicitás a máj speciális vérellátásának, valamint kiválasztó, szintetizáló és metabolikus szerepének következménye. A gyomor-bél rendszerből felszívódó gyógyszerek a véráram segítségével koncentráltan kerülnek a májba. A gyógyszermetabolizáló enzimek számos testidegen anyag detoxikálását végzik, de az átalakulások reaktív származékok képződését is eredményezhetik.

A kémiailag módosított szerkezetű gyógyszerek és egyéb testidegen anyagok nagy része, a metabolikus folyamatok során keletkező endogén toxikus vegyületek (pl. bilirubin), valamint a májban szintetizált epesavak az epével ürülnek a májból. A hepatociták és az epevezeték sejteinek toxikus hatások eredményeként kialakuló károsodása azonban elégtelen epekiválasztást (kolesztázist) okozhat, aminek következtében az epesavak és más toxikus metabolitok szaporodnak fel a májban. A toxikus epesavak felszaporodása a hepatociták apoptikus sejthalálát eredményezi.

A hepatociták mellett a szinuszoid endothel sejtek, a Kupffer sejtek (rezidens makrofágok) és az un. hízósejtek (*Ito-sejtek*) szintén részt vehetnek a hepatotoxikus hatás kialakulásában. Így pl. hepatotoxikus hatások (gyógyszer, szöveti trauma, endotoxin, baktériumok) eredményeképpen a *Kupffer sejtekben* a gyulladással járó folyamatok kialakulásában szerepet játszó citokinek és chemokinek, valamint oxidatív stresszt okozó reaktív oxigén- és nitrogénszármazékok képződnek. A toxikus hatás eredményeképpen keletkező gyulladással járó mediátorok (komplementer faktorok, citokinek és chemokinek), reaktív oxigén- és nitrogénszármazékok, valamint lipidperoxidációs termékek (pl. 4-hidroxinonenal) közvetlenül és/vagy neutrofil aktiváláson keresztül a sejtek nekrotikus elhalását eredményezhetik. Az oxidatív stressz által aktivált hízósejtek kollagént szintetizálnak, melynek túlermelése májfibrózishoz, valamint cirrhozishoz vezet.

A troglitazon hepatotoxikus hatása kapcsán külön említést érdemelnek az inzulinrezisztencia okozta hepatikus elváltozások. Az inzulinrezisztencia következtében egyrészt a kialakuló hiperinzulinémia megnöveli a máj glükózból történő szabad zsírsav termelését, másrészt a perifériás lipolízis eredményeképpen is nő a keringés szabad zsírsav (FFA) szintje. Így a máj megnövekedett FFA felvétele és FFA szintézise meghaladja a FFA mitokondriális oxidációjának valamint VLDL formában történő kiválasztásának kapacitását. Ennek eredményeképpen szteatózisz (zsírmáj) alakul ki, ami a nem-alkoholos szteatohepatitis „benignus” előfeltétele.

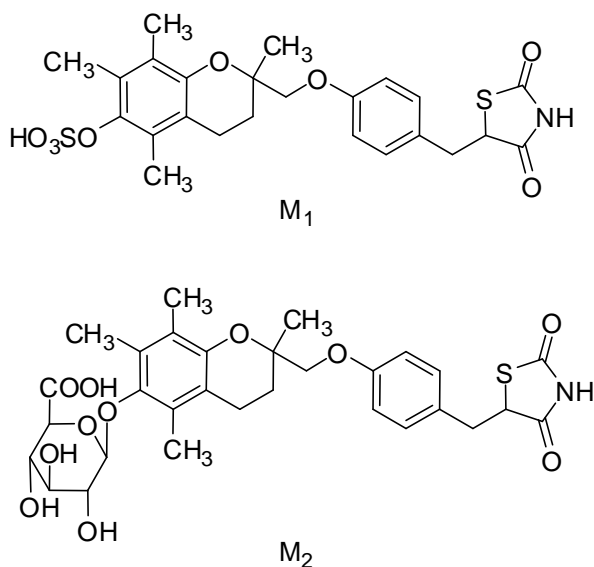
Kísérleti állatokban a máj megemelkedett telítetlen zsírsavszintje már önmagában megnöveli a lipidperoxidációt. Ugyanakkor, az inzulinrezisztenciát kísérő hiperglikémia a trikarbonsav cikluson keresztül képes a hepatikus lipidperoxidáció megnövelésére. Ugyancsak a reaktív oxigénszarmazékok számának emelkedéséhez vezet az inzulinrezisztenciát kísérő emelkedett hepatikus CYP2E1 expresszió. A CYP2E1 központi szerepet játszik az alkohol-eredetű májkárosodás kialakulásában egyrészt mert, alkohol-indukálta overexpressziója szuperoxid-anion képződésén keresztül oxidatív stresszt okoz, másrészt mert az FFA-k CYP2E1-katalizált oxidációja citotoxikus dikarbonsavak képződését eredményezi. Az oxidatív stressz egyrészt a hízósejtek aktiválásához, toxikus lipidperoxidációs termékek képződéséhez és többek között a mitokondriális ATP-szint csökkenéséhez vezet. Ez utóbbi a hepatociták szintetizáló, kiválasztó és metabolikus funkcióinak elégtelenségét, súlyosabb esetben azok elhalását okozhatja. Az oxidatív stressz eredményeképpen csökken a sejtek redukált glutation (GSH) szintje, ami a celluláris makromolekulák reaktív metabolitokkal szembeni védettségének csökkenését eredményezi.

V.3A troglitazon biotranszformációja

A szervezetbe kerülő TGZ legnagyobb mennyisége a májban és a zsírszövetben akkumulálódik. A májban akkumulálódó TGZ könnyen bejut a hepatocitákba, ahol számos reakcióúton keresztül metabolizálódik (V-2.-4. ábrák).

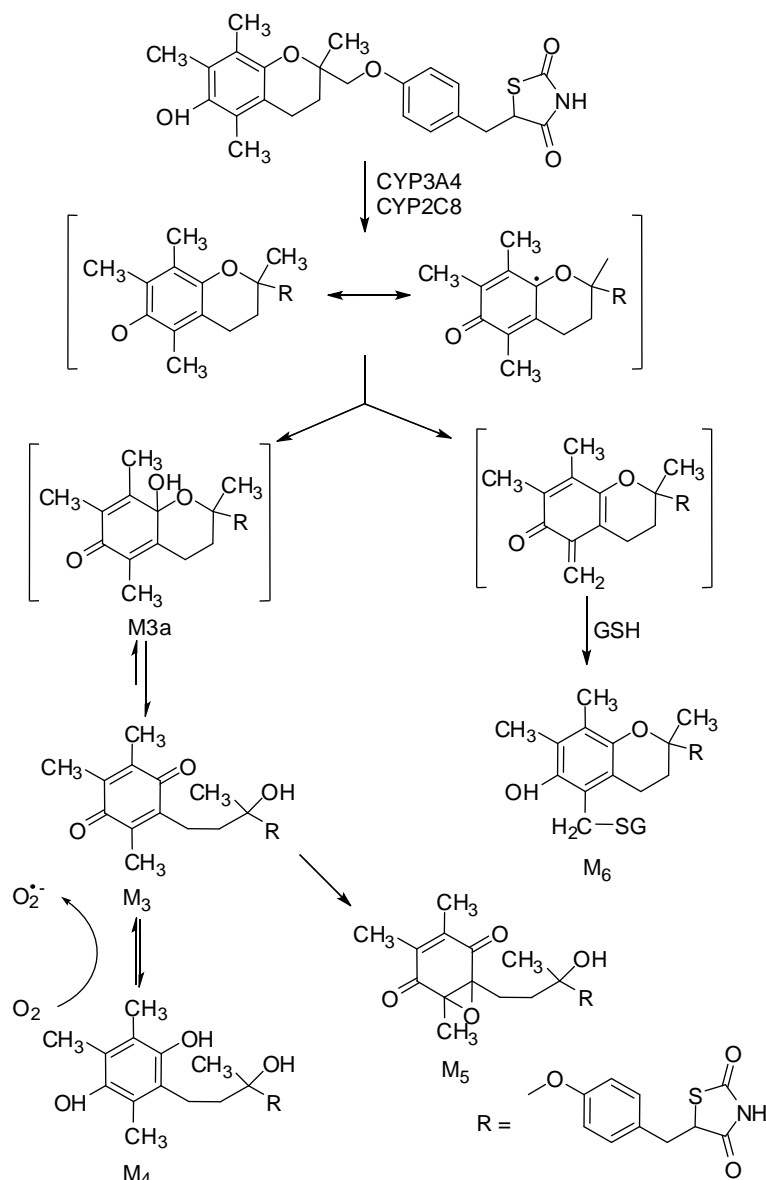
A TGZ fő metabolitja a TGZ-szulfát (V-2. ábra: M1), melynek képződését elsősorban a közelmúltban azonosított PST1A3 szulfotranszferáz katalizálja. A TGZ-szulfát plazmakoncentrációja nagyban meghaladja a konjugálatlan molekula koncentrációját és az epével történő kiválasztását követően az enterohepatikus körfolyamat révén visszakerül a keringésbe. A TGZ molekula másik konjugált metabolitja, a TGZ-glükuronid (V-2. ábra: M2) a szulfátkonjugátumhoz képest kisebb mennyiségben képződik. Ugyancsak az epével választódik ki és a szulfátkonjugátumhoz hasonlóan részt vesz a gyógyszer molekula enterohepatikus körforgásában.

V-2. ábra: A troglitazon-szulfát (M1) és a troglitazon-glükuronid (M2) szerkezeti képletei.



A TGZ molekula citokróm P450 enzimek által katalizált/inicializált oxidatív metabolikus útvai szerteágazó képet mutatnak. A vegyület kromángyűrűs molekularészletének oxidatív transzformációját a CYP3A4 és a CYP2C8 izoenzimek katalizálják (V-3. ábra). A fenolos funkció CYP-katalizált egyelektronos oxidációja TGZ-fenoxigyök képződéséhez vezet, ami egy hidroxilgyök befogással instabil hemiketált (M3a) eredményez. A keletkezett instabil hemiketál spontán gyűrűfelnyílása a TGZ jól ismert kinon-metabolitjának (M3) képződését eredményezi (V-3. ábra).

V-3. ábra: A troglitazon kromángyűrűs molekularészeltének metabolikus transzformációi

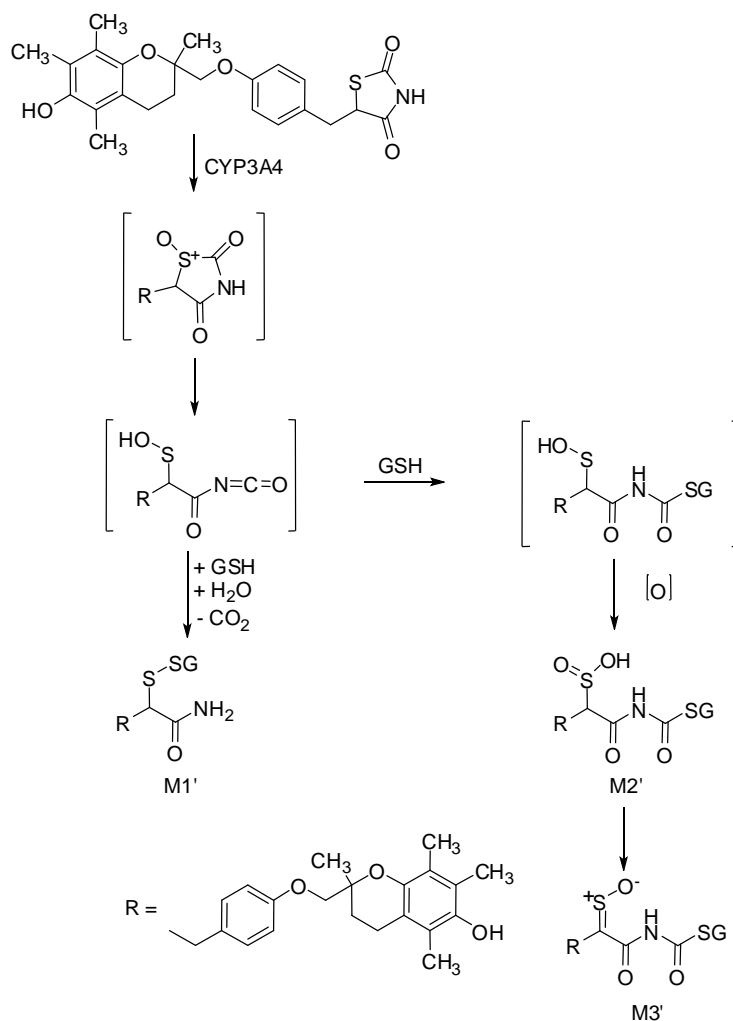


Említést érdemel, hogy ez a metabolikus transzformáció a CYP enzimek egy új, csak az elmúlt évek során felismert reakcióútját jelenti. A relatíve stabil kinon egyrészt a megfelelő hidrokinonná (M4) redukálódhat, másrészt epoxidszármazékká (M5) oxidálódhat. Utóbbi, epoxidfunkciója révén, bizonyosan toxikus metabolit, ami könnyen reakcióba lép a celluláris makromolekulák nukleofil kén-, nitrogén- és oxigénatomjaival. Bár a keletkezett kinon-metabolit (M3) - szubsztitúciója következtében – közvetlenül nem reagálhat a citoszol GSH molekuláival, vagy a fehérjék reaktív tiolsz csoportjaival, ún. „redox cycling” útján reaktív oxigénszármazékok (ROS) képződését eredményezheti, melyek a toxikus hatás vektorai lehetnek (V-3. ábra). A TGZ-kinon redukációjában keletkező hidrokinon szulfát-, valamint glükuronid-konjugátum formájában képes kiürülni a szervezetből. A TGZ-fenoxigyök továbbalakulásának egy alternatív útja, hogy az intermedier egy P450-katalizált

hidrogénatom absztrakció útján a vegyület az instabil α -kinonmetin-származékká alakul át, ami redukált glutationnal reagálva az M6 GSH-adduktot eredményezi (V-3. ábra).

A TGZ molekula egy másirányú, ugyancsak CYP3A4-katalizált metabolikus transzformációját jelentik a TZD-gyűrű felnyílásához vezető reakcióutak (V-4. ábra). A reakciósor feltételezhetően a kénatom oxidációjával indul. A keletkezett szulfoxid intermedier spontán gyűrűfelnyílásával a reaktív α -ketoizocianát-származék képződik, melynek hidrolízisét követő dekarboxileződése, majd a keletkező szulfén-savamid GSH-val lejátszódó reakciója az M1' metabolitot eredményezi. Az α -ketoizocianát egy másik feltételezett reakcióútja a vegyület GSH-val lejátszódó reakciója majd oxidációja, ami az M2' metabolitot eredményezi. Feltételezhető, hogy a humán máj mikroszóma frakcióval és CYP3A4 enzimmel végzett *in vitro* kísérletekben, valamint *in vivo* patkánykísérletben keletkező M1' és M2' mellett azonosítható M3' metabolit az M2' szulfinsav metabolit vízvesztésével keletkezik (VI-4. ábra). Megjegyzendő, hogy az M1' és M2' metabolitok képződése a szulfoxid-metabolit és GSH direkt reakciójából is levezethetők.

V-4. ábra: A troglitazon 2,4-tiazolidin-dion-gyűrűs molekularészletének metabolikus transzformációi.



V.4 A troglitazon hepatotoxicitás

Az a tapasztalat, hogy a TGZ megismert metabolizmusa számos reaktív intermedier képződésén keresztül zajlik, először ahhoz a feltételezéshez vezetett, hogy a hepatotoxikus hatás a klasszikus GSH-depléció/kovalens kötődés mechanizmuson keresztül, vagy a TGZ-kinon redox-ciklusa által kiváltott oxidatív stressz útján alakul ki. Ez a feltételezés magyarázatául szolgál a CYP enzimek által katalizált reakcióban keletkező reaktív intermedierek által okozott 3. zónájú centrilobuláris nekrozisnak, ami a TGZ által kiváltott hepatotoxikus hatás esetén is megfigyelhető volt. Számos érv és kísérleti tapasztalat támasztja alá azonban azt a nézetet, hogy a TGZ hepatotoxicitás nem kizárólagosan a reaktív metabolitok celluláris nukleofilekkel lejátszódó reakciói, illetve a TGZ-kinon által kiváltott oxidatív stressz eredménye. Így pl. *in vitro* kísérletek eredményei azt mutatták, hogy míg az alapvegyület toxikus, addig a TGZ-kinon nem toxikus humán és sertés hepatocitákkal szemben. Továbbá, hogy a TGZ, az E-vitaminhoz hasonlóan, antioxidáns hatással rendelkező vegyület. Így az oxidatív stressz által okozott toxicitás csak a TGZ antioxidáns potenciáljának kimerülését követően válhat toxikus vektorrá. A TGZ toxicitás kialakulása elhúzódó és a paracetamol okozta hepatotoxicitás kialakulásával ellentétben, általában nem megfigyelhető a kezelést követő egy-két napon belül. A paracetamolhoz hasonlóan, terápiás dózisban a TGZ nem csökkenti a GSH-szintet, de kísérleti állatokban növeli a paracetamol okozta hepatotoxicitást.

A „*toxikus kinonná történő átalakulás*” hipotézis korábban más okból is előtérbe került. Ez a feltételezés ugyanis magyarázatául szolgálhat, hogy miért citotoxikusabb a TGZ mint más TZD származékok, mint pl. a roziglitazon, ami nem krománszármazék és nem metabolizálódik kinonszármazékká. Mivel azonban a TGZ-kinont két májsejtkultúrával szemben sem találták citotoxikusnak, ez a hipotézis nem magyarázza a különbséget. Ugyanakkor nem elhanyagolható, hogy a *roziglitazon* és a *pioglitazon* dózisa jóval alacsonyabb a TGZ dóziséénél (lásd előbb).

A TGZ (és/vagy metabolitjai) megfigyelt idioszinkráziás hepatotoxicitásának kémiai-biokémiai háttere a fentiek alapján bizonyosan különbözik a paracetamol májkárosító hatásától. A TGZ direkt toxicitását magyarázhatják azok a kísérleti tapasztalatok, melyek szerint a vegyület apoptózist indukált számos normál és daganatos sejtvonalon. A hepatociták apoptikus pusztulását - ellentétben a nekrotikus sejtelhalással - nem kíséri a celluláris enzimek (pl. a transzaminázok) véráramba kerülése. Így az apoptikus citotoxicitás, legalábbis addig, amíg kiterjedt gyulladással nem jár, nem indukál, nem mutatható ki a transzamináz enzimek vérben történő aktivitásának meghatározásával. Ez magyarázhatja, hogy a klinikai kivizsgálások során a vegyület májtoxicitásának vizsgálata céljából vizsgált transzamináz enzimek plazmaszintje nem jelezte az esetleges kezdődő májkárosodást.

A TGZ hepatocitákkal szemben mutatott toxicitását számos kutató igazolta. Azt találták, hogy a TGZ 5 μM alatti koncentrációban növeli a humán hepatociták CYP3A aktivitását, de a sejtekkel szemben csak 25 μM felett mutat toxikus hatást. Humán hepatocitákkal végzett kísérletek során a szulfotranszferáz enzim gátlása megnövelte a vegyület toxicitását. Ez alapján a humán hepatocitákban domináns szulfálás protektív metabolikus folyamat. Ugyanakkor a szerzők felvetették, hogy a II. típusú diabéteszt kísérő kolesztázis eredményeképpen a májban felszaporodhat a TGZ-szulfát, és így a klinikai gyakorlatban megfigyelhető hepatotoxicitás a TGZ és a TGZ-szulfát együttes hatása lehet.

A TGZ direkt hepatotoxikus hatásának egyik valószínűsíthető mechanizmusa a mitokondrium ATP szintje csökkenésének és a citokróm-c kiáramlásának eredményeképpen létrejövő apoptikus sejthalál indukciója. Ezzel összhangban vannak azok a kísérletek, melyek azt mutatták, hogy humán hepatociták TGZ-vel történő kezelése a sejtek ATP tartalmának és mitokondriális transzmembrán potenciáljának gyors csökkenését eredményezte. A transzmembrán potenciál csökkenésének eredményeképpen megnő a membrán permeabilitása és az apoptózist előidéző citokróm- c kiáramlik a citoplazmába.

A TGZ hepatotoxicitás kialakulásának egy további lehetséges mechanizmusa az epesav-só export pumpa (BSEP) TGZ és/vagy TGZ-szulfát által történő gátlása és annak eredményeképpen citotoxikus epesavak felszaporodása a májsejtekben. A BSEP gátlása eredményeképpen a májsejtekben felszaporodó epesavak a sejtek apoptikus sejthalálát eredményezik. A TGZ és a TGZ-szulfát BSEP gátlását jellemző IC_{50} értékek (3,9 μM és 0,4 μM) alapján megállapítható, hogy a BSEP hatékony gátlásához szükséges koncentrációk bizonyosan elérhetők a TGZ terápiás alkalmazása során. Megjegyzendő, hogy a további BSEP gátló gyógyszerek között ott van a *glibenklamid*, egy a szulfonilkarbamid csoportba tartozó antihyperglykémias szer is. Egy másik BSEP gátló szernek TGZ-vel történő együttes alkalmazása valószínűsíthetően megnöveli a TGZ hepatotoxicitását. Megemlítendő, hogy a TGZ által okozott akut hepatotoxicitást leíró esetek között több is szerepel melyben TGZ és glibenklamid együttes alkalmazása történt.

A TGZ idioszinkráziás hepatotoxicitása lehetséges vektorainak elemzésénél nem hagyható figyelmen kívül, hogy a gyógyszert szedő II. típusú diabeteses betegek körében a hyperglykémia, a hiperinzulinémia és a megnövekedett perifériás lipolízis eredményeképpen számos, a gyógyszer toxikus hatását csökkentő vagy növelő faktornak a toxicitás kialakulása szempontjából releváns eredője egyénekenként különbözik. Az egyénekenként különböző genetikai, fiziológiai, életviteli és környezeti hatások eredményeképpen kialakuló enzim- és transzporter-aktivitások, esetleges gyógyszerkölcsonhatások, ugyancsak erősíthetik vagy gyengíthetik a TGZ ismertett toxikus hatásvektorait. A betegek májfunkcióinak különbözősége a TGZ szervezetben történő megoszlásának, biotranszformációjának és kiürülésének nagyfokú különbözőségét eredményezheti nemcsak az inzulinrezisztenciától mentes egyénektől, de a II. típusú diabétesssel kezelt betegek körében is. Mindezek figyelembevétele alapvető fontosságú a II. típusú diabeteses betegek más gyógyszerekkel történő gyógyszeres kezelése során, valamint az alapbetegség kezelésére rendszeresen alkalmazott gyógyszerek mellett szükségszerűen javasolt további gyógyszerek kiválasztásánál is.

V.5 Kérdések, feladatok.

1. Értelmezze a glitazon-típusú antidiabetikumok hatásának molekuláris mechanizmusát!
2. Értelmezze a Kupffer-sejtek szerepét a testidegen anyagok hepatotoxikus hatása kialakulásában!
3. Jellemezze az inzulinrezisztencia szerepét a szteatózis (zsírmáj) kialakulásában!
4. Jellemezze az inzulinrezisztencia szerepét az etanol-eredetű májkárosodás kialakulásában!
5. Hasonlítsa össze az alacsony dózisban alkalmazott paracetamol és troglitazon szulfát- és glükuronid-metabolitjainak relatív mennyiségét!

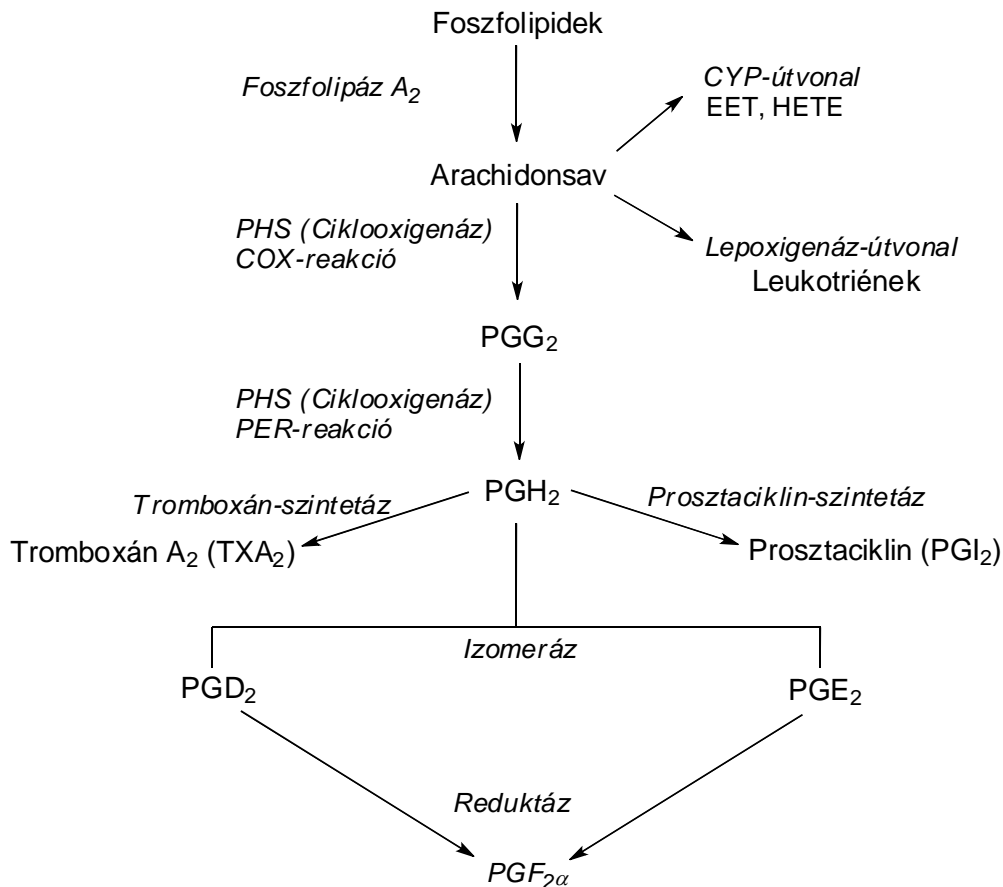
6. Értelmezze a troglitazon troglitazon-kinonná történő – CYP450 enzimek által katalizált – reakciójának molekuláris mechanizmusát!
7. Értelmezze a troglitazon-kinon redox-ciklusának molekuláris mechanizmusát!
8. Jellemezze a troglitazon 2,4-tiazolidindion gyűrűje metabolikus átalakulásnak szerepét a vegyület hepatotoxikus hatásának kialakulásában!
9. Jellemezze a hepatociták apoptikus és nekrotikus pusztulását kísérő biokémiai folyamatok különbözőségét!
10. Jellemezze a troglitazon és a troglitazon-szulfát hatását az epesav-só exportpumpa (BSEP) aktivitására! Írja le a hatás szerepét a troglitazon hepatotoxikus hatásának kialakulásában!

VI A nem-szteroid gyulladáscsökkentő szerek toxicitása. A diklofenák hepatotoxicitás.

A nem-szteroid gyulladáscsökkentő szerek (NSAIDs) a gyógyászatban alkalmazott gyógyszerek egyik leggyakrabban alkalmazott csoportját képezik. Elsődleges terápiás hatásterületeiket az ízületek gyulladással járó folyamataiban a fájdalom és a gyulladás csökkentése jelenti. Történetileg az acetilszalicilsav a hatástani csoportba tartozó vegyületek első képviselője. A gyógyászatban betöltött jelentős szerepét mi sem mutatja jobban, mint hogy a világ éves acetilszalicilsav termelése napjainkban is 50 000 tonna körüli értékre tehető. Az acetilszalicilsav és a további nem-szteroid gyulladáscsökkentők hatásmechanizmusa molekuláris szinten történő megismerésének első közleményei az 1970-es évek elején jelentek meg. Az e téren folytatott vizsgálatok eredményei igazolták, hogy az aszpirin és az indometacin a prosztanoidok bioszintézisében alapvető fontosságú *ciklooxygenáz* gátlása révén fejtik ki hatásukat. A későbbi kutatások igazolták, hogy a különböző szerkezettel rendelkező nem-szteroid gyulladáscsökkentő szerek hatásmódjukban megegyeznek: valamennyien a ciklooxygenáz (COX) gátlása révén gátolják a prosztanoidok képződését a szervezetben.

A prosztanoidok képezik az arachidonsav biotranszformációjának eredményeként a szervezetben keletkező, ún. eikozanoidok egyik csoportját. A prosztanoidok bioszintézisének folyamatát a VI-1. ábra mutatja be. A bioszintézis első lépése az arachidonsav (AA) elsősorban a foszfolipáz-A₂ izoenzimek által katalizált felszabadulása a sejtmembrán alkotó foszfolipidekből. A folyamat következő meghatározó lépése az AA prosztaglandin-H-szintetáz (PHS) által katalizált biotranszformációja. A kettős funkciójú PHS előbb az AA és két mól O₂ reakciójában a rövid életű PGG₂ keletkezését katalizálja (ez maga a ciklooxygenáz (COX) reakció), majd a keletkező PGG₂-t az enzim peroxidáz (PER) funkciója a megfelelő PGH₂ származékká konvertálja. Megjegyzendő, hogy a két folyamatot katalizáló PHS enzim COX aktivitását gátló nem-szteroid gyulladáscsökkentő szereket általában nem PHS gátló, hanem ciklooxygenáz (COX) gátló vegyületekként említi a szakirodalom. A továbbiakban a prosztaglandin-H-szintetáz (PHS) enzimre történő hivatkozás során a dolgozatban a ciklooxygenáz (COX) megjelölést használom. Amint azt a VII-1. ábra mutatja, az AA COX-dependens biotranszformációjának végtermékeiként prosztaglandinok (PGD₂, PGE₂, PGF_{2α}), prosztaciklin (PGI₂) és tromboxánok (pl. TXA₂) keletkeznek. Az AA két további oxidatív átalakulási útvonalát jelenti a lipoxigenázok által katalizált útvonalon keletkező leukotriének (LT), valamint a citokróm-P450 izoenzimek által katalizált reakciókban keletkező hidroxieikozatetraénsavak (HETE) és epoxieikozatriénsavak (EET) (VI-1. ábra).

VI-1. ábra: A Prostaglandinok ($\text{PGF}_{2\alpha}$, PGD_2 , PGE_2), a prosztaciklin (PGI_2) és a tromboxánok (pl. TXA_2) arachidonsavból kiinduló szintézisútjai



A prosztanoidok fiziológiai és patofiziológiai hatásai jól ismeretek az irodalomban. Ezek közül itt csak néhány, a címvegyületek nemkívánt mellékhatásainak kialakulásában is szerepet játszó hatást kívánok megemlíteni. A prosztanoidok közül a PGE_1 , PGE_2 , de különösen a PGI_2 erős értágító és vérnyomáscsökkentő hatású. Ugyanakkor a TXA_2 valamint a PGG_2 és PGH_2 érszűkítő hatású. (Utóbbi két vegyület fájdalomkeltő és szövetkárosító hatással is rendelkezik.) A gyulladásos folyamatok során felszabaduló PGE_2 , PGI_2 és PGD_2 tágítja az arteriolákat és elősegíti más gyulladásos mediátorok vasculáris hatásait. A nociceptorokat nem izgatják, de szenzibilizálják azokat más fájdalomkeltő anyagokkal (pl. bradikinin) szemben. A gyomor-bélrendszerre kifejtett hatásaik közül megemlítendő, hogy a PGE_2 és a PGI_2 gastroprotektív hatásúak, gátolják az ulcus kifejlődését. A vérlemezkék aggregációját a trombotákból felszabaduló TXA_2 elősegíti, míg az erek endotheljéből felszabaduló PGI_2 gátolja. A bronchusok simaizmét a PGE_2 elernyeszti, a PGD_2 , a $\text{PGF}_{2\alpha}$ és a TXA_2 viszont összehúzza. A vesében a prosztaglandinok, így a renális értágulatot okozó PGE_2 és a PGI_2 a véráramlás szabályozásában, a tubuláris működésben és a renin-szokréciónban egyaránt szerepet játszanak.

VI.1 A nem-szteroid gyulladáscsökkentő szerek csoportosítása és a ciklooxygenáz gátlásával összefüggő mellékhatásai

Az 1980-as évek végén jelentek meg azok az első közlemények, melyek elvezettek ahhoz a felismeréshez, hogy a ciklooxygenáz enzimnek legalább két formája expresszálódik a szervezetben. Az egyik, az ún. COX-1 konstitutív enzimként van jelen majdnem minden szövetben és felelős az élettani működéshez (gasztrointesztinális citoprotekció, veseműködés szabályozása, trombociták aggregációjának gátlása stb.) szükséges szöveti proszتانoid szint bazális értékének fenntartásáért. Ugyanakkor a másik, az ún. COX-2 izoforma, a legtöbb sejtben alig mutatható ki; a gyulladásban résztvevő mediátorok hatására (tumornekrózis faktor, interleukin-1, liposzacharidok, reaktív oxigéntermékek) azonban mennyisége 70-80-szorosára nő. Ez az izoenzim felelős a gyulladás szöveti történéséért és így ez egyben a nem-szteroid gyulladáscsökkentők hatásának támadáspontja is.

A ciklooxygenáz két formájának megismerését követően intenzív kutatások indultak szelektív COX-2 gátlók kifejlesztése céljából. A kutatás-fejlesztések célja olyan szelektív gátlók kifejlesztése volt, melyek egyrészt nem csökkentik a COX-1 izoenzim által fenntartott proszتانoid szintet, másrészt megakadályozzák a gyulladásos folyamatok által inicializált proszتانoidok szintézisét. Így a szelektív COX-2 inhibitorok alkalmazása során megmarad a nem szelektív NSAID szerekre jellemző gyulladáscsökkentő és analgetikus hatás, ugyanakkor várhatóan nem alakulnak ki a nem-szelektív COX gátlók alkalmazásakor jelentkező, a bazális proszتانoidszint csökkenésével kapcsolatos mellékhatások, melyek leggyakoribb formái a következők:

1. ulcerogén hatás,
2. vérlemezke-aggregációt gátló hatás,
3. hiperszenzitív reakciók, és
4. vesekárosító hatás.

Ad 1.) Mivel a COX-1 által fenntartott PGE₂ és a PGI₂ szint alapvető fontossággal bír a gasztrointesztinális mukóza integritásának védelmében, a nem szelektív COX gátlók (és az alacsony dózisban alkalmazott aszpirin, mint szelektív COX-1 gátló) egyik jól ismert mellékhatása azok ulcerogén hatása. A gyomor-bél nyálkahártya károsodásának kialakulásában minden bizonnyal szerepet játszik a savas természetű vegyületek lokális, irritatív hatása is.

Ad 2.) Ugyancsak a nem-szelektív NSAID szerek ciklooxygenáz-gátló hatásának eredményeképpen csökken a vérlemezkek aggregációját elősegítő és a vasculáris sérülések helyén vazokonstriktiót okozó TXA₂ mennyisége. Különösen kifejezett ez a hatás a ciklooxygenáz enzimet irreverzibilisen gátló (annak szerin aminosav egységét acetiláló) acetilszalicilsav alkalmazása esetén. Megjegyzést érdemel, hogy a vérlemezkek aggregációjának gátlása bizonyos esetekben terápiás haszonnal is járhat. A preventív céllal alacsony dózisban alkalmazott aszpirin e hatása például, minden bizonnyal szerepet játszik annak miokardiális infarktust és koronáriás szívelégtelenséget megelőző hatásában.

Ad 3.) A nem-szelektív COX gátlók alkalmazása esetén egyes egyéneknél hiperszenzitív reakciók, pl. rhinitis, bronchus spasmus, vagy bőrkiütés jelentkezhet. Bár a jelenségek mechanizmusa részleteiben nem ismert, az e téren folytatott vizsgálatok eddigi eredményei alapján feltételezhető, hogy a ciklooxygenáz gátlása következtében

fokozódik az AA lipoxigenáz enzim által katalizált metabolizmusa, melynek eredményeképpen fokozottan képződnek az allergiás reakciókban szerepet játszó leukotriének (lásd VII-1. ábra).

Ad 4.) A nem-szelektív COX gátlók egy további jól ismert mellékhatása azok vesekárosító hatása. A vegyületek alkalmazásával kapcsolatban ezideig megfigyelt vesekárosító hatások három típusba sorolhatók:

- a. akut veseelégtelenség,
- b. analgetikus vesetoxicitás (papillanekrózis), és
- c. interstitialis nephritis.

a.) A vesében termelt, vazodilatációt okozó prosztaglandinoknak (PGE₂ és PGI₂) alapvető szerepük van a vesekeringés és a glomerulus filtráció fenntartásában a vese csökkent vérellátása (pl. szívelégtelenség, krónikus vesebetegség) esetén. Ilyen esetekben nagy adag (túladagolt) nem szelektív NSAID szerek alkalmazása megszünteti a prosztaglandinok kompenzatorikus hatását és akut veseelégtelenség alakulhat ki.

b.) A nem-szelektív COX gátlók és/vagy paracetamol krónikus (> 3 év) alkalmazása egy gyakran irreverzibilis vesekárosodást, az un. analgetikus vesetoxicitást eredményezheti. Az analgetikus nephropátia kialakulásának gyakorisága a nyugati világban széles határok között (1-18 %) változik. A betegség előfordulás gyakoribb a nőbetegekben. Az elsődleges vesekárosodás krónikus interstitialis nephritist kísérő papillanekrózis Feltételezhető, hogy a toxikus hatás kialakulásában a krónikus vazokonstrikció okozta ischemia, valamint a vegyületek metabolikus transzformációja során képződő reaktív metabolitok által kiváltott oxidatív stressz és/vagy a reaktív metabolitok kritikus fehérjékhez történő kovalens kapcsolódása is szerepet játszik (lásd a diklofenák hepatotoxicitás kialakulásának mechanizmusait).

c.) A harmadik, a nem-szelektív COX gátlók által előidézett, meglehetősen ritkán előforduló vesekárosító hatás az un. interstitiális nephritis. E vesekárosodást diffúz interstitiális ödéma, megemelkedett szérum kreatinin és proteinuria jellemzi. A tünetek általában a NSAID szer alkalmazásának abbahagyását követő 1-3 hónapon belül megszűnnek.

A forgalomban lévő NSAID szerek legnagyobb csoportját ma a klasszikus, nem-szelektív szerek képezik. A szelektív COX-2 szerek kutatásának intenzitását azonban mi sem jellemzi jobban, mint a nagyszámú szabadalmi bejelentés és a forgalomba kerülő szelektív gátlók növekvő száma. A szelektív COX-2 gátlók szerkezetileg a következő öt nagy csoportba sorolhatók:

1. diaril- vagy aril-heteroaril-éterek (szulfonanilidek): pl. nimeszulid;
2. vicinális diaril-szubsztituált heterociklusok: pl. celecoxib, rofecoxib, valdecoxib;
3. korábban kifejlesztett NSAID szerek szerkezeti módosításával kapott, megnövekedett COX-2 szelektivitással bíró szerek: pl. meloxicam, etodolac;
4. antioxidáns vegyületek; és
5. 1,2-diaril-etilénszármazékok (*cisz*-stilbének).

A szelektív COX-2 gátló NSAID szerek gasztrointesztinális toxikus hatásai a várakozásnak megfelelően alacsonyabbnak bizonyultak, mint a klasszikus NSAID szereké. Ugyanakkor, a *rofecoxib*bal nyert tapasztalatok azt mutatták, hogy a vegyület megnövelte a miokardiális infarktus előfordulását a vizsgálatokba bevont betegek körében. A vizsgálati eredmények megismerését követően a készítményt kifejlesztő Merck and Co 2004 szeptemberében önkéntesen visszavonta a terméket a gyógyszerpiacról. A konstitutív COX-2 gátlásának eredményeképpen a szelektív COX-

2 gátló NSAID szerek alkalmazásakor a következő mellékhatások előfordulását kell mérlegelni:

- a. hipertenzió és veseelégtelenség kialakulása,
- b. kardiovasculáris események (pl. miokardiális infarktus) gyakoriságának megnövekedése, valamint
- c. fekélyes sebek gyógyulási idejének meghosszabbodása.

A szelektív COX-2 gátló szerek ugyanakkor számos más terápiás területen is ígéretes gyógyszerjelölt vegyületek lehetnek. E területek közül megemlítendő a szelektív COX-2 gátlók anti-angiogenikus, valamint az Alzheimer-kór előfordulási gyakoriságát csökkentő hatásai. A gyógyszervegyületek ezen új terápiás területeken történő alkalmazásának lehetőségei jelenleg folyamatban lévő vizsgálatok tárgyát képezik.

VI.2 A nem-szteroid gyulladáscsökkentő szerek ciklooxygenáz-independens toxicitása. A diklofenák hepatotoxicitás.

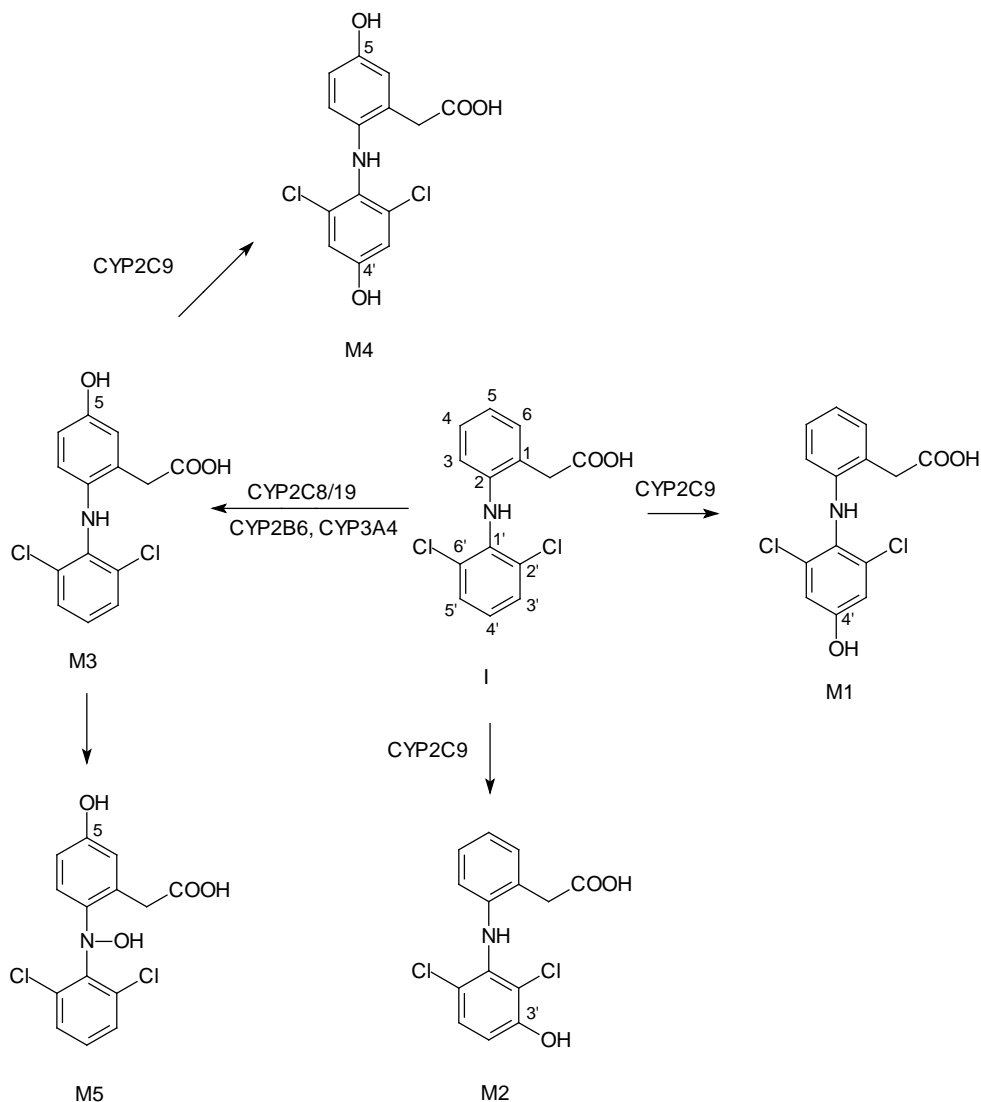
A nem-szteroid gyulladáscsökkentő szerek előbb ismertetett ulcerogén hatása, valamint vérlemezke-aggregációt gátló hatása a vegyületek ciklooxygenáz enzim dózisfüggő gátló hatásának következménye. A vegyületek e két mellékhatása a nemkívánt gyógyszerhatások A-típusához („augmented”) tartozó hatások. Ugyancsak ebbe a kategóriába sorolható a vegyületek akut veseelégtelenség kialakulásához vezető toxicitása. Ugyanakkor a vegyületek interstitialis nephritist, illetve miokardiális infarktust okozó toxikus hatásai a nemkívánt gyógyszerhatások B-csoportjához („bizarre”) tartozó mellékhatások.

A nem-szelektív NSAID szerek arilpropionsav szerkezeti csoportjába tartozó diklofenák további, az irodalomban jól dokumentált mellékhatása a vegyület idioszinkráziás hepatotoxicitása. Az ismert klinikai jelentőséggel bíró idioszinkráziás hepatotoxicitást okozó gyógyszerek közös tulajdonságait az előző fejezet foglalja össze. E közös tulajdonságok között elsőként megemlítendő, hogy a gyógyszerek legtöbbjének biotranszformációja eredményeképpen reaktív metabolitok és fehérjeadduktok képződnek.

A diklofenák Egyesült Államokban történt alkalmazása során az FDA által 1988 novembere és 1991 júniusa között regisztrált, diklofenák-indukált 180 nemkívánt hatás retrospektív analízise a következő eredményekhez vezetett: A 180 eset beteganyagát tekintve annak 79 %-a nő, 71 %-a 60 éves vagy annál idősebb, és 77 %-a osteoarthritisrel kezelt beteg volt. Az esetek 77 %-a tünetek, a további esetek laboratóriumi vizsgálatok eredményei alapján került felismerésre. A szimptomás betegek 75 %-a esetén (120 betegből 90) sárgaság jelentkezett. Immunológiai idioszinkráziára utaló jelek (kiütés, láz, eozinofília) egyik betegnél sem jelentkeztek. A hepatotoxikus hatás az esetek 24 %-a esetén a gyógyszer szedésének megkezdését követően 1 hónappal, az esetek 85 %-ában pedig a gyógyszer szedésének megkezdését követően 6 hónappal volt megfigyelhető. Mindezek az eredmények, valamint számos további kísérletes tapasztalat a diklofenák metabolikus eredetű idioszinkráziás hepatotoxikus hatását valószínűsítik. Ugyanakkor megemlítendő, hogy néhány további tanulmányban a szerzők a diklofenák gyógyszer-hiperszenzitivitásra (immunológiai idioszinkrázia) jellemző nemkívánt hatásairól (pl. autoantitestek megjelenése) számoltak be.

A diklofenák mind az arilecetsav mind az antranilsav szerkezeti elemeket hordozó NSAID szer. *Per os* adagolva igen jó hatásfokkal, gyorsan felszívódik a gyomor-bélrendszerből. A felszívódott gyógyszervegyület mintegy 40-50%-a májban ún. „first-pass” metabolizmuson megy keresztül. A vegyület oxidatív transzformációjában képződő metabolitok szerkezetét a VI-2. ábra mutatja be. A diklofenák (I) oxidatív metabolizmusának fő metabolitja a 4'-hidroxiszármazék (M1), ami mintegy 50%-át teszi ki a kiválasztott diklofenák dózisanak. További hidroxilált-származékok a 3'-OH (M2), az 5-OH (M3), a 4',5-diOH (M4) és az N,5-diOH (M5) metabolitok (VI-2. ábra).

VI-2. ábra: A diklofenák humán hepatocitákban azonosított oxidatív metabolitjai



A 4'-OH (M1) és a 3'-OH (M2) metabolitok képződését emberben a CYP2C9 izoenzim katalizálja. Humán hepatocita sejtekkel végzett inkubációs kísérletek eredményei ugyanakkor azt mutatták, hogy az 5-OH metabolit (M3) képződését több CYP izoenzim, így a CYP2B6, a CYP2C8/19 és a CYP3A4 is katalizálja. A CYP2C9 és CYP2C19 gének esetén több, a megfelelő enzimek aktivitását csökkentő allélvariáns azonosították már. A CYP2C9 és CYP2C19 enzimek –melyek polimorfizmusa szerepet játszhat a diklofenák idioszinkrasiás hepatotoxicitásának kialakulásában- néhány további szubsztrátját, inhibitorát és induktorát az VI-1. táblázat foglalja össze.

VI-1 táblázat: A CYP2C9, CYP2C19 és CYP3A4 enzimek néhány szubsztrátja, inhibitora és induktora

	CYP2C9	CYP2C19	CYP3A4
Szubsztrát	Diklofenák Fenobarbitál Fenitoin Hexobarbitál Ibuprofén Indometacin Lozartan Naproxen Piroxicam Tesztoszteron Tolbutamid Szulfametoxazol (S)-Warfarin	Diazepam Fenitoin Hexobarbitál Imipramin Kariszoprodol Loratadin Mefenitoin Naproxen Omeprazol Piroxikám Propranolol Valproesav (S)-Warfarin	Amlodipin Cimetidin Diazepam Diltiazem Flukonazol Karbamazepin Loratadin Lozartan Paracetamol Szteroidok Teofillin Verapamil (R)-Warfarin
Inhibitor	Cimetidin Diazepám Diklofenák Fenilbutazon Flukonazol Fluvasztatin Metronidazol Szulfonamidok Tolbutamid Warfarin	Diazepám Felbamát Flukonazol Fluoxetin Ketokonazol Lovasztatin Tolbutamid Tranilcipromin	Cimetidin Diltiazem Flukonazol Fluvasztatin Glibenklamid Grapefruit-lé Kinidin Metronidazol Nifedipin Verapamil
Induktor	Fenobarbitál Karbamazepin Rifampin Rifampin	Fenitoin Fenobarbitál Rifampin	Fenitoin Fenobarbitál Karbamazepin

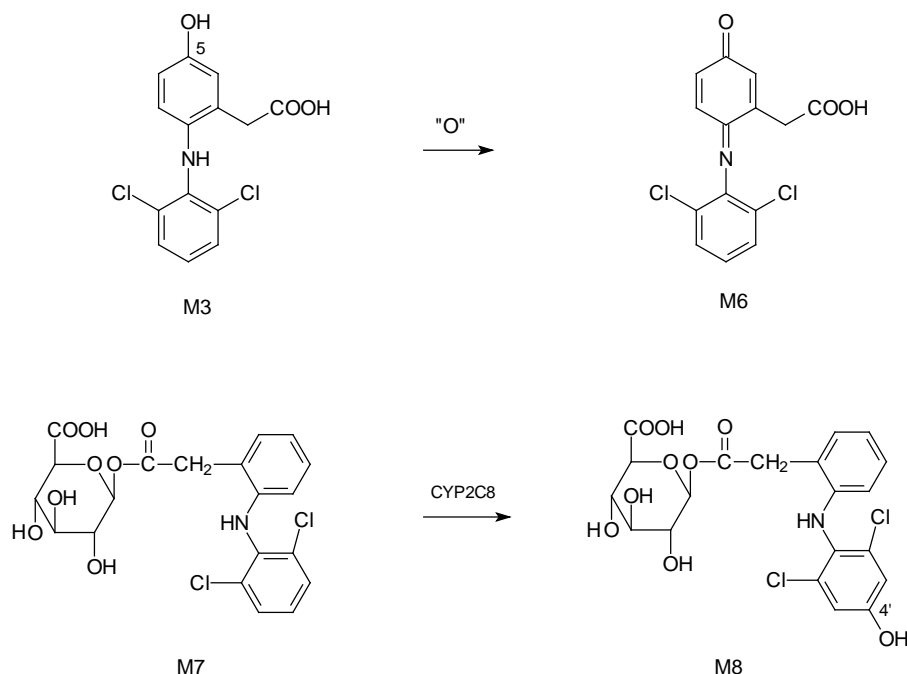
Bár a diklofenák hepatotoxikus hatása kialakulásának mechanizmusa ma még teljességében nem ismert, a toxikus hatás kialakulásának két, a vegyület metabolikus transzformációján alapuló hipotézise körvonalazható az irodalomban. Az egyik hipotézis alapja a diklofenák CYP enzimek által katalizált oxidatív metabolizmusa során reaktív intermedierek képződése, melyek kovalens fehérjekötődés és/vagy reaktív oxigén származékok (ROS) generálása révén okozzák a megfigyelhető hepatotoxicitást. A második hipotézis kémiai alapja a diklofenák UGT2B7 enzim által katalizált reakciójában képződő glükuronid-konjugátumának proteinekkel szemben megfigyelhető reaktivitása.

A diklofenák hepatotoxicitás kialakulása egyik biokémiai mechanizmusaként a vegyület és metabolitjainak - azok mitokondriális toxicitásán alapuló - apoptózist indukáló hatása valószínűsíthető. A diklofenák apoptózist indukáló hatását *in vitro* kísérletekben gyomor-bél mukózasejt kultúrán, valamint humán hepatocitákkal végzett

kísérletekben is igazolták. Utóbbi kísérletek során a szerzők azt találták, hogy antioxidánsok gátolják a diklofenák-indukált apoptózist. A diklofenák (I) és 4'-OH (M1) valamint 5-OH (M3) metabolitjainak összehasonlítása során a három vegyület közül az 5-OH (M3) metabolit bizonyult a legerősebb apoptózist indukáló hatással bíró formának. E kísérleti eredmények a vegyület metabolizmusán alapuló, reaktív oxigénszármazékok (ROS) részvételével (is) kialakuló apoptikus mechanizmust valószínűsítik.

A diklofenák hepatotoxicitás egy másik valószínűsíthető biokémiai vektora a vegyület reaktív metabolitjainak celluláris makromolekulákkal (fehérjékkel) lejátszódó kovalens kölcsönhatása. Fenobarbitállal előkezelt hepatocitákban megnövekedett a CYP3A4 izoenzim aktivitása és a diklofenák hepatotoxicitása. Humán máj mikroszómával végzett kísérletek azt mutatták, hogy a CYP3A4 izoenzim által katalizált reakcióban képződő metabolit(ok) kovalens adduktot képeznek a mikroszóma frakció fehérjével. A fenti tapasztalatok alapján feltételezhető, hogy a CYP3A4 enzim által keletkező 5-OH metabolit (M3) képződése során, vagy annak továbbalakulásával keletkező metabolit(ok) szerepet játszanak a diklofenák kovalens addukt(ok) képződésén alapuló hepatotoxikus hatása kialakulásában. Az egyik lehetséges reaktív metabolit az 5-OH metabolit (M3) oxidációjával keletkező *p*-benzokinonimin-származék (VI-3. ábra: M6), melynek glutation-adduktja, valamint az abból keletkező - a vizelettel kiürülő - merkaptursav-származék kísérletesen is kimutatható, illetve azonosítható volt.

VI-3. ábra: Az 5-hidroxdiklofenák (M3) *p*-benzokinonimin-származékká (M6), valamint a diklofenák-glükuronid (M7) 4'-hidroxdiklofenák-glükuroniddá (M8) történő oxidatív átalakulásai



További lehetséges reaktív metabolitok képződésének kiindulási vegyületei lehetnek az M1 (4'-OH) és M2 (3'-OH) metabolitok, valamint az M3 (5-OH) metabolit N-OH- (M5) és 4'-OH (M4) származékai is (lásd VI-2. ábra). Ezt a feltételezést megerősítik azok a patkány máj mikroszómával végzett kísérletek, melyek

eredményeképpen megállapítható volt, hogy a diklofenák metabolizmusát katalizáló CYP2C11 aktivitása mintegy 25 %-kal csökkent a kísérleti állatok diklofenákkal történt kezelése eredményeképpen. A mikroszóma frakció diklofenákkal történő inkubálását követően abból diklofenák-CYP2C11 addukt képződése volt kimutatható. Miután a patkány CYP2C11 és a humán CYP2C9 izoenzimek között 85%-os a homológia, feltételezhető, hogy a CYP2C9 enzim által katalizált reakciók is eredményez(het)nek olyan nagy reaktivitású metabolitokat (átmeneti termékeket), melyek képesek kovalens kölcsönhatást kialakítani a mikroszómális fehérjékkel.

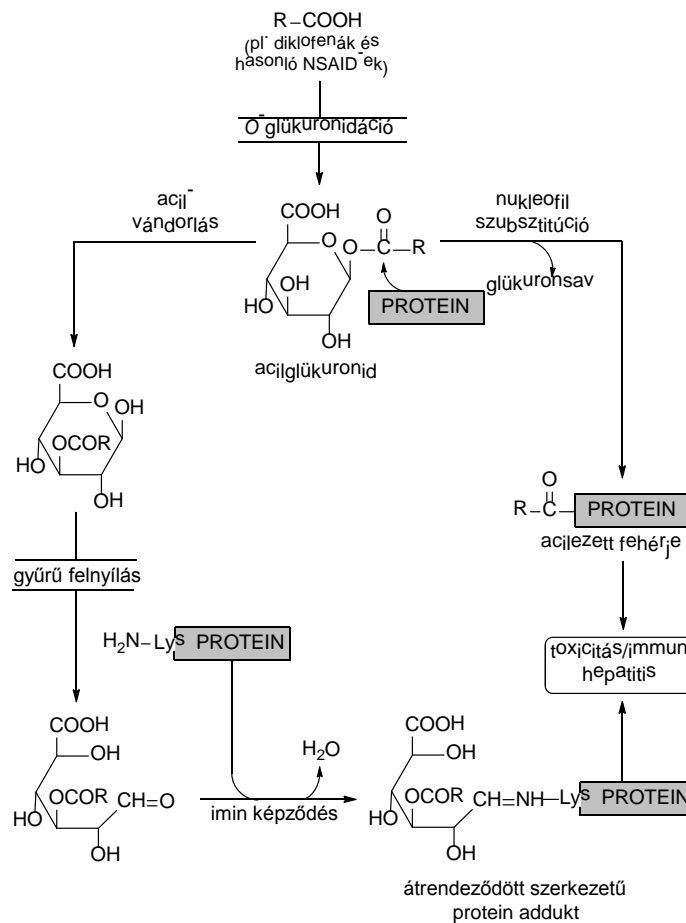
A fenti mechanizmusokon keletkező reaktív metabolitok keletkezését és azok toxikus hatásának kialakulását számos az egyéni érzékenységet befolyásoló tényező befolyásolja. Ezek között kiemelkedő fontossággal bír az 5-OH (M3) és a 4'-OH (M1) metabolitok (és az azok továbbalakulása során képződő további metabolitok) abszolút és relatív mennyiségét meghatározó CYP izoenzimek aktivitása, valamint a kérdéses enzimek szubsztrátjainak egyidejű alkalmazása (metabolikus gyógyszerinterakciók). A diklofenák idioszinkráziás hepatotoxicitás kialakulása szempontjából jelentőséggel bíró metabolitok képződését katalizáló CYP2C9, CYP2C19 és CYP3A4 izoenzimek néhány szubsztrátját, inhibitorát és induktorát a VI-1. táblázat foglalja össze.

A diklofenák hepatotoxikus hatásának másik, szintén a vegyület metabolikus transzformációján alapuló hipotézise a vegyület glükuronid-konjugátumának (VI-3. ábra: M7) kémiai természetével kapcsolatos. Bár a glükuronid-konjugátumok általában stabilis metabolitoknak tekinthetők, a karbonsav funkcióval rendelkező gyógyszer-molekulák glükuronid-konjugátumai reaktív elektrofil metabolitok, melyek számos nem-enzimatikus reakcióban vehetnek részt. Így:

- a. a konjugátumok hidrolízise a konjugátatlan vegyületek (metabolitok) visszaalakulását eredményezheti,
- b. a konjugátumok intramolekuláris átrendeződés eredményeképpen izomer acil-glükuronidokká alakulhatnak át, és
- c. a konjugátumok (a gyógyszer(metabolit) karboxilcsoportjának részvételével) a fehérjék nukleofil centrumaival kovalens kapcsolatot alakíthatnak ki (átacilezés).

Ez utóbbi reakció eredményeképpen például a diklofenák-glükuronid (M7) kovalens adduktot képezhet a hepatociták fehérjéivel (VI-4. ábra).

VI-4. ábra: A diklofenák-glükuronid reakciója fehérjékkel



A diklofenák glükuronid-konjugátumának (M7) egy további jellegzetes metabolikus tulajdonsága, hogy az ún. „metabolikus first pass effektus” eredményeképpen a CYP2C8 izoenzim-katalizált reakcióban 4'-OH-diklofenák glükuronid konjugátummá (VI-3. ábra: M8) transzformálódhat.

A reaktív metabolitok képződésének kvalitatív és kvantitatív viszonyai mellett azok toxikus hatását nagymértékben befolyásolja a toxikus elektrofil természetű metabolitok (ROS, kinonok, stb.) eliminálásában résztvevő enzimek (pl. szuperoxid-dizmutáz, kataláz, GSH-dependens peroxidáz, NADPH:kinon:oxidoreduktáz) és a nukleofil jellegű citoprotektív vegyületek (pl. redukált glutation) aktuális aktivitása, illetve mennyisége a szervezetben. E kémiai átalakulások egyes reakcióit katalizáló enzimek aktivitása genetikai, fiziológiai, életviteli és környezeti hatások eredményeként egyénenként változik. Ennek eredménye az egyéni gyógyszerérzékenység változékonysága, ami egyes betegek esetében az ismert toxikus gyógyszerhatások megjelenését eredményezi.

VI.3 Kérdések, feladatok.

1. Ismertesse a foszfolipáz A₂ enzim szerepét a nem-szteroid gyulladáscsökkentő szerek (NSAIDs) hatásának kialakulásában!
2. Jellemezze a prosztaglandin-H-szintetáz (PHS) enzim ciklooxygenáz (COX) funkciójának molekuláris mechanizmusát!
3. Jellemezze a prosztaglandin-H-szintetáz (PHS) enzim peroxidáz (PER) funkciójának molekuláris mechanizmusát!
4. Jellemezze a prosztaglandin E₂ (PGE₂) és a prosztaglandin I₂ (PGI₂) prosztaglandin-származékok biológiai hatásait!
5. Milyen különbségek figyelhetők meg a COX-1(ciklooxygenáz-1) és a COX-2 (ciklooxygenáz-2) izoenzimek funkciója között?
6. Mi a nem-szelektív COX-gátlók alkalmazása során fellépő négy leggyakoribb nemkívánt hatás?
7. Értelmezze a nem-szelektív COX-gátló szerek ulcerogén hatásának molekuláris mechanizmusát!
8. Értelmezze a nem-szelektív COX-gátló szerek vérlemezke-aggregációt gátló hatásának molekuláris mechanizmusát!
9. Értelmezze a nem-szelektív COX-gátló szerek akut veseelégtelenséget okozó hatásának molekuláris mechanizmusát!
10. Sorolja fel a szelektív COX-2 gátló szerek öt fő szerkezeti csoportját!
11. Mik a COX-2 gátló szerek leggyakoribb mellékhatásai?
12. Mik a diklofenák-hepatotoxicitás előfordulásának és tüneteinek jellemzői?
13. Mi a diklofenák CYP enzimek által katalizált átalakulásának fő metabolitjai?
14. Milyen továbbalakulási reakciója ismert a diklofenák hidroxilált metabolitjainak? Milyen szerepet játszanak ezek a reakciók a diklofenák idioszinkráziás hepatotoxikus hatásának kialakulásában?
15. Jellemezze a diklofenák glükuronid-konjugátumának szerkezetét! A metabolit milyen további átalakulásai vehetnek részt a diklofenák idioszinkráziás hepatotoxikus hatásának kialakulásában?

VII A szulfonamid hiperszenzitivitás

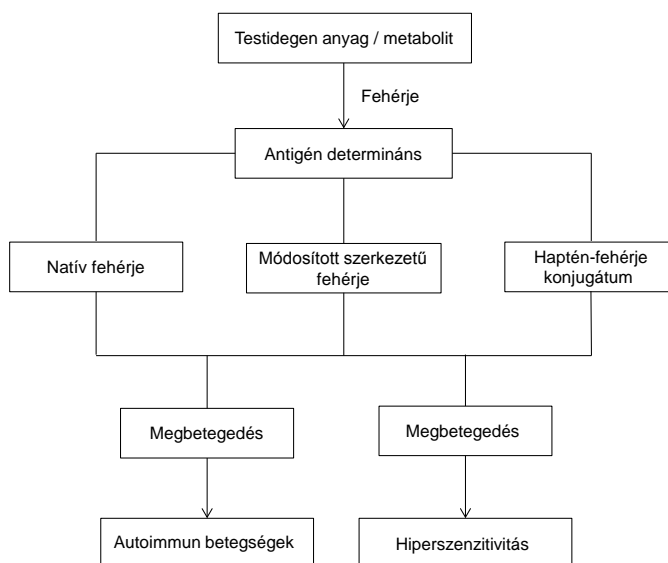
A gyógyszerek (testidegen anyagok) metabolizmusában szerepet játszó enzimek, transzportfolyamatok egyénekenkénti, genetikailag determinált különbözősége (genetikai polimorfizmus) következményeként a metabolitok képződésének, reaktivitásának, eliminációjának egyénekenkénti különbözőségeket mutathat. E különbségek azonban nem szükségszerűen genetikailag determináltak. A testidegen anyagok metabolizmusában, az anyavegyület és a metabolitok szervezetben történő megoszlásában, valamint a szervezetből történő kiürülésében résztvevő biokémiai mechanizmusokat az életvitel és a krónikus betegségek (pl. cukorbetegség, daganatos megbetegedések, AIDS, stb.) is egyénekenként befolyásolhatják. A szervezetbe kerülő testidegen anyagok (ételek, italok, élvezeti cikkek, stb. tartalomanyagai és szennyezői) között számos vegyületet ismerünk, melyek bizonyos enzimek, transzportfolyamatok aktiválását/hatékonyosságát növelik (*induktorok*) vagy csökkentik (*inhibitorok*). Hasonló megállapítás tehető a krónikus megbetegedések által okozott állandósuló fiziológiás elváltozásokra is.

Az egyénekenkénti genetikailag kódolt, illetve testidegen anyagok vagy krónikus fiziológiás elváltozások által indukált különbözőségek a gyógyszerek (egyéb testidegen anyagok) alkalmazása (szervezetbe jutása) esetén nem várt (mellék) hatások kialakulását eredményezhetik. Az átlagos népességgel szemben eltérő válasz megnyilvánulhat *hipo-* illetve *hiperreaktivitás* formájában is. Azt a jelenséget, amikor a gyógyszer a szokásostól minőségileg eltérő reakciót vált ki idioszinkráziának nevezzük. Az idioszinkráziás nemkívánt gyógyszerhatások szinte mindegyike metabolikus alapú /eredetű. Az idioszinkráziás hiperaktivitás nem tévesztendő össze a hiperszenzitivitással, ami immunológiai alapú.

Túlérzékenységi reakció előfordulhat már az első adagolásnál is. Ilyenkor a szervezetet korábban már érte hasonló jellegű expozíció, és a nemkívánt hatás a két vegyület között keresztezett túlérzékenységi reakció eredményeképpen alakul ki. A túlérzékenységi reakció (allergiás reakció, hiperszenzitivitás) oka az, hogy a szervezet antitesteket termel a módosított szerkezetű plazmafehérjével vagy plazmafehérjéhez kötött gyógyszerrel (antigénnel) szemben.

A VII-1 ábra bemutatja azoknak a lehetséges effektusok sorozatát, aminek eredményeképpen egy testidegen anyag az immunrendszer közvetítésével kialakuló nemkívánt hatást vált ki.

VII-1. ábra: Testidegen anyagok túlérzékenységi reakció (hiperszenzitivitás) vagy autoimmun betegség kialakulásához vezető egyszerűsített mechanizmusa



A túlérzékenységi reakciók az immunrendszer külső hatásokra adott túlzott vagy nem megfelelő válaszának eredményeképpen alakul ki. E válasz szövetkárosodást okoz, ami különböző fiziológiás eltéréseket, megbetegedéseket eredményez. Ezeket a válaszreakciókat *R. Coombs* és *P. G. H. Gell* négy különböző csoportba sorolta, aminek alapját a négy különböző szövetkárosító mechanizmus képezi.

VII-1 táblázat: A túlérzékenységi reakciók (hiperszenzitivitás) csoportosítása Coombs és Gell nyomán

Elnevezés	Reakció kezdete	Mechanizmus
I. Azonnali (korai) típusú túlérzékenységi reakció	1 órán belül	Az allergén keresztkötése a hízósejtek és bazofil granulociták felszínén található FcεRI-IgE komplexszel aktiválja a hízósejtek és bazofil granulocitákat, melyekből különböző mediátorok szabadulnak fel.
II. Ellenanyag közvetített citotoxikus reakció	4-8 órán belül	Különböző sejt felszíni antigénekkal reagáló IgG és IgM molekulák komplementaktiválás vagy citotoxikus T sejtek által közvetített ADCC révén pusztítják el a célsejtet.
III. Immunkomplex (IK) közvetített reakció	2-8 órán belül	A szövetekben lerakódó antigén ellenanyag (IgG) komplexek komplementet aktiválnak, és ezáltal gyulladást indukálnak.
IV. Késői típusú túlérzékenységi reakció	1-3 napon belül	Szenzibilizált Th1 sejtekből felszabaduló citokinek aktiválják a makrofágokat és citotoxikus T sejteket.

A *korai (I. típusú) típusú érzékenységben* - a reakció az allergén-ellenanyag találkozás után néhány perccel vagy órával végbemegy. A reakciót IgE ellenanyagok (reaginok) keletkezése váltja ki az allergén bejutásakor. A reaginok olyan ellenanyagok, melyek sejtaffinok, az ellenanyag-molekula egyik végével a szövetekhez, a másikkal az antigénhez kötődnek. Az IgE -k csak kis mennyiségben vannak a keringésben, nagyobb részük a szövetekhez kötődött.

A szervezetben hisztamin és egyéb mediátorok szabadulnak fel azokból a sejtekből, melyek felszínén az antigénnel találkoznak. A mediátor felszabadulása okozza érfalak permeabilitásának fokozódását (*urticaria*), simaizmok görcsét (*asztma*), vagy az erek általános tágulatát (*anaphilaxiás shock*- antigén és ellenanyag egyesüléskor fellépő túlérzékenység).

A *citolitikus vagy citotoxikus (II. típusú) reakció* is ellenanyaghoz, IgG (vagy IgM) típusúhoz kötött. Az antigén a sejtfelszínre kötődik, a bipoláris ellenanyagok a sejtől és antigénből álló komplexumhoz kapcsolódnak, ami sejtszétesést eredményez. 4-8 óra alatt alakul ki. Ez a reakció alakul ki pl. pemphigusban, pemphigoidban, vagy amikor nem azonos vércsoportú vérek keverednek. Vérátömlesztéskor halálos szövődményt okozhat a vérsejtek szétesése. Újszülöttekben a sárgaság a széteső vérsejtekben levő vérfestékből keletkezik. Az Rh-összeférhetetlen anya-magzat terhességben, az anyában keletkezett IgG típusú ellenanyag bejut a magzatba. A reakció nagysága kisebb-nagyobb fokú sárgaságon át a magzat halálát okozhatja. Ezért fontos terhességben mind az anya, mind az apa vércsoportjának tisztázása a lehetséges szövődmények kivédésére.

Az *antigén-antitest immunkomplex okozta reakció* (III. típusú, ún. *Arthus-reakció*) bipoláris ellenanyagokhoz, IgM és IgG típusúhoz kötött. A szervezetben lévő antigénekhez hozzákapcsolódnak a termelt ellenanyagok, ehhez egyéb fehérjék, nagy molekulák kapcsolódhatnak. Az így keletkezett anyagot nevezzük immunkomplexnek (IK), ami az ér-lumenben, az érfalban, vagy közvetlen szomszédságában, az ízületi tokban vagy a vese-glomerulusokban képződik. Mindennapi esetben a keletkezett IK-kat a szervezet a komplement enzimrendszer és a falósejtek útján elbontja. Kóros esetben azonban (ha az IK mennyisége tömegesebb) az IK-k kicsapódnak az erek falára egyes szervekben, itt gyulladáshoz vezetnek és betegséget okoznak. Ez történik *reumás lázban*, egyes vesebetegségben, érgyulladásokban. Kialakulása 2-8 órát vesz igénybe.

A *késői típusú (IV. típusú) túlérzékenységet* leírója után *Coombs*-nak is nevezett folyamatban elsősorban a T-limfociták vesznek részt. A reakció 1-2 nap után keletkezik, ezért hívják későinek. A bejutott antigént a bemutatósejtek felveszik, majd reagál az antitest módon viselkedő limfocitákkal. A reakció késése azzal magyarázható, hogy az antitestet hordozó limfociták az antigén hatására először „blasztosodnak”, osztódással szaporodnak. Csak hosszabb idő alatt érnek el a reakció kiváltásához szükséges mennyiségben arra a területre, ahol a szöveti sejtekhez az antigén adszorbeálódott. Az allergiás érzékenységet limfocitákkal lehet átvinni.

A kiváltás módja és a shock-szerv szerint két típusa van:

IV/a. *Tuberkulin-típusú érzékenység* fertőző betegségek alatt mikroba-antigének hatására keletkezik, s az elölt baktérium (vírus) kivonatának bőrbe fecskendezésével mutatható ki. Olykor az antigént a véráram a befecskendezés vagy a kóros folyamat helyétől tovasodorja és távolabb is keletkeznek bőrtünetek, pl. *urticaria*, *papulák*, *erythema multiforme*, *erythema nodosum*, stb.

IV/b. Ekcémás típusú reakcióban shock szerv a hám. Tuberkulin típusú érzékenységekben az allergén a keringésből, ekcémában kívülről éri a shock szervet. Az allergénnek a való érintkezés helyén papulákból álló ekcémászerű reakció keletkezik. A hámiban vesicula-képződés, gyulladáshoz exsudátum (váladék) látható. Pl. kontakt ekzéma, fotoallergiás ekzéma, atópiás ekzéma.

Az antigén-antitest reakció eltekintve a sejtkárosodástól és a szövetekben, érben képződő csapadéktól, nem káros. A találkozás során azonban biológiailag aktív anyagok, *mediátorok* keletkeznek, melyek patológiás folyamatot váltanak ki.

A mediátorok jelenősége kicsi cytolytikus reakcióban (II. típus) és az *Arthus*-jelenségben (III. típus), nagy jelentőségű azonban a reagin- (I. típus) és a tuberculin-típusú (IV. típus) érzékenységekben. A legfontosabb mediátorok és főbb hatásai a következők:

1. *Hisztamin* - urticariogén
2. *Acetilkolin* – urticariogén. Hatására a bőrben adrenerg anyag szabadul fel, okozza a késői kifehéredést, ami endogén ekcémás betegek bőrén figyelhető meg.
3. *Szerotonin* – urticariát okoz.
4. *Heparin* – felszabadul allergiás reakciók során. Szöveti hatásai: növeli az erek permeabilitását, a szövetek víztartalmát, az eosinofil sejtek aktivitását.
5. *Bradikinin* – a savóban lévő kallidinből keletkezik tripszin vagy kallikrein hatására, urticariát, eritémát, ödémát, simaizomgörcsöt okoz, nem idéz elő gyulladást.
6. *Slow reacting substance* – kis molekulású glikoproteid. Antihisztaminok hatását nem gátolják. A bronchiolusok tartós görcsét okozza.
7. *Prostaglandinok* – elhúzó urticariát okozó vasoaktív proteinek, hisztamin felszabadulást előidézik. Eosinofil kemotaktikus faktor – IgE-vel szenzibilizált szövetekben keletkezik az allergiás reakció során. Eosinofil sejtek felszaporodását váltja ki a reakció helyén, melyek valószínűleg a reakció megállításában játszanak szerepet.
8. *Permeabilitásfaktorok*

Az autoimmun megbetegedések esetén az immunrendszer a szervezet saját alkotóelemeit „idegen testnek” érzékeli és elpusztításukra törekszik. Az elpusztítandó alkotóelemek (antigének) általában fehérjék vagy poliszacharidok. Az immunreakció során gyulladás alakul ki az érintett szövetben, és idővel a fehérjét szintetizáló sejtek, illetve a sejtek által alkotott szövet is károsodhat. Az autoimmun betegség gyűjtőfogalom, amelybe különböző betegségek (pl. 1-es típusú diabetes mellitus, *Addison-kór*, aplasztikus anémia, *Basedow-kór*, *Chron-betegség*, rheumatoid arthritis, stb.) tartoznak, a fenti reakció azonban mindegyikre jellemző.

Számos gyógyszer ismételt alkalmazását nemkívánt immunválasz, túlérzékenységi reakció vagy autoimmun betegség kialakulása követheti. Bár az immunológiai értelemben vett túlérzékenység (*hiperszenzitivitás*) kialakulása egyetlen gyógyszercsoportnál sem kizárt, bizonyos gyógyszerek esetén (pl. szulfonamidok, penicillinek, cefalosporinok) a legjelentősebb nemkívánt hatás (ADR) alapja lehet.

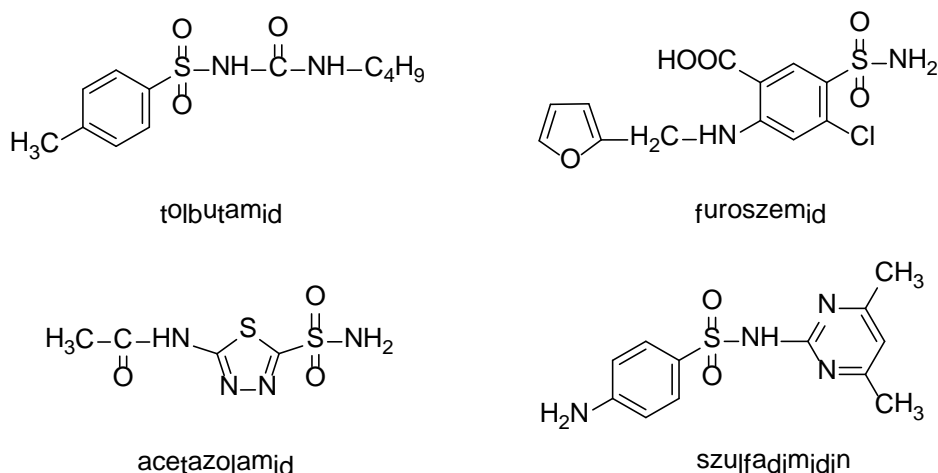
A szulfonamidok közös szerkezeti eleme az $-SO_2NH-$ molekulaegység, melyet számos különböző farmakológiai hatással bíró vegyületben megtalálhatunk. A

klínikailag is jelentőséggel bíró szulfonamidok hatástani szempontból a következő csoportokba sorolhatók:

1. *Antibakteriális hatású szulfonamidok*
 - Szulfametoxazol
 - Szulfadiazin
 - Szulfacetamid
 - Szulfadoxine
2. *Antidiabetikus hatású szulfonamidok (szulfonil-karbamidok)*
 - Tolbutamid
 - Tolazamid
 - Glibenklamid
 - Glimepirid
3. *Diuretikus hatású szulfonamidok*
 - Acetazolamid
 - Klortalidon
 - Furoszemid
 - Hidroklorotiazid
4. *Antikonvulzáns szerek*
 - Acetazolamid
 - Szultiám
 - Zonizamid
5. *Egyéb hatástani csoportba tartozó szerek*
 - Celecoxib (COX-inhibitor)
 - Szotalol (béta-blokkoló)
 - Probenicid (köszvényellenes szer)
 - Szulfaszalazin (reumaellenes szer)

A különböző hatástani csoportba sorolható szulfonamidok között jellegzetes szerkezeti különbségek figyelhetők meg. Így például az orális antidiabetikumok a karbamid benzolszulfonil származékai. A diuretikus hatású szulfonamidok primér (*N*-atomon szubsztituens nem hordozó) benzolszulfonamid-származékok. Hasonlóképpen, az epilepszia terápiájában használt szulfonamidok is primér szulfonamid funkciót tartalmazó szerek. E vegyületektől szerkezetileg nagymértékben különböznek az antibakteriális hatású szulfonamid-származékok, melyek közös szerkezeti elemei a 4-amino-benzolszulfonsavamid nitrogénatomjához (N^1) a vegyületek többségében közvetlenül egy heterociklusos molekularész kapcsolódik. A különböző hatástani csoportba tartozó szulfonamid-származékok egy-egy képviselőjét a VII-2. ábra mutatja be.

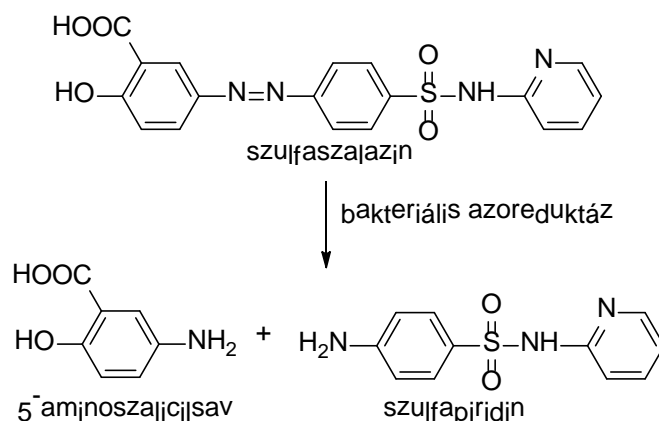
VII-2. ábra: A különböző hatástani csoportba tartozó szulfonamidok egy-egy képviselőjének szerkezete



Az antibakteriális szulfonamidok általában amfoter vegyületek. Aromás primer aminocsoportjuk révén gyenge bázisok, míg szulfonsavamid-csoportjuk (-SO₂-N¹-H) a kapcsolódó elektronvonzó csoportok hatásának eredményeképpen savas.

Bár hatástanilag és szerkezetileg a reumaellenes terápiában alkalmazott szulfaszalazin az antibakteriális szulfonamidoktól eltérő tulajdonságokat mutat, a molekula a vastagbél baktériumok azoreduktáz aktivitása eredményeképpen 5-aminoszalicilsavra és antibakteriális hatású szulfapiridinre metabolizálódik (VII-3. ábra). A metabolikus transzformáció magyarázatot ad arra a megfigyelésre, hogy a szalazopirin – az antibakteriális szulfonamidokhoz hasonlóan túlérzékenységi reakciókat okozhat, melyek valószínűsíthetően szulfapiridin-specifikus citotoxikus T sejtek által közvetített mechanizmuson (II. típusú túlérzékenységi reakció) alakul ki.

VII-3. ábra: A szulfaszalazin bakteriális azoreduktázok által katalizált metabolizmusa



A szulfonamid antibiotikumok alkalmazása során gyakran előfordulnak túlérzékenységi reakciók. Bár néhány kivételes esetet leír az irodalom, általánosságban megállapítható, hogy az antibiotikus és a nem-antibiotikus hatású szulfonamid-származékok között nem alakul ki kereszt-hiperszenzitivitás.

A szulfonamid antibiotikumok által kiváltott túlérzékenységi reakciók kialakulásában mind metabolikus, mind immunológiai történések szerepet játszanak. A túlérzékenységi reakciók előfordulása a szulfonamid antibiotikumokkal kezelt betegek körében 3 % körül van.

A szulfonamid antibiotikumok alkalmazása során gyakran előfordulnak túlérzékenységi reakciók. A szulfonamid hiperszenzitivitás gyakorisága a teljes populáció körében kb. 3 %, míg a HIV-fertőzött populáció körében 17-20 %. Utóbbi megfigyelés jelentőségét az adja, hogy a HIV-fertőzött betegek *pneumocystis pneumonia* (a pneumocytis jiroveci (carinii) gomba által okozott pneumonia) megbetegedésének megelőzésére javasolt terápiás protokoll a szulfametoxazol és a trimetoprim kombinációja.

Egységes populációban a szulfonamid túlérzékenység minden típusa megfigyelhető:

1. Az I. típusú, IgE által mediált azonnali túlérzékenységi reakció jellemzői a csalánkiütés, valamint az anafilaxiás sokk jellemző kísérő tünetei (nehéz légzés, bradycardia, vérnyomás csökkenés, stb.) hasonló I. típusú túlérzékenységi reakció jellemző a penicillin-származékokra, az aszpirinre (acetilszalicilsav), illetve a nemszteroid gyulladáscsökkentőkre is. A szulfonamid antibiotikumok esetében az IgE molekulával kialakuló kölcsönhatás nagyfokú sztereoselektivitású, és kialakításában a nem-metabolizálódott vegyület N¹-atomhoz kapcsolódó heterociklusos gyűrűjével kialakuló nemkovalens kölcsönhatás játszik meghatározó szerepet. Az anafilaxia orvosi vészhelyzet, amely esetben azonnali életmentő intézkedés szükséges.
2. Az antibakteriális szulfonamidok által leggyakrabban kiváltott túlérzékenységi reakció az IgG és IgM által közvetített II. típusú túlérzékenységi reakció. Különböző típusú és súlyosságú megjelenési formái között megemlítendő a bőрпиrosság, a hemolitikus anémia, a neutropénia és a trombocitopénia. A szulfonamidok okozta trombocitopénia mechanizmusa hasonló a kinin, a kinidin és a nem-szteroid gyulladáscsökkentők által kiváltott reakciókhoz. Közös tulajdonságuk, hogy az immunreakciót (antitest termelődést) a szulfonamid és a vérlemezke felületén lévő glikoproteinek közti nemkovalens komplex (antigén) váltja ki. Ugyanakkor, a bőрпиrosság kialakulása során a vegyületek reaktív metabolitjai (haptén) kovalens fehérjeadduktjainak (antigén) tulajdonságát igazolják.
3. A szulfonamidok reaktív metabolitjainak szerepét a III. típusú túlérzékenységi reakciókban is igazolták. E túlérzékenységi reakciók jellemző tünetei a szérumbetegség, a láz, bőрпиrosság, valamint a bőr súlyosabb funkcionális zavara, ami *Stevens-Johanson szindróma* és *Lyell szindróma* kialakulásához vezethet.
4. Az antibakteriális szulfonamidok egy további, késői típusú reakciója tipikusan a terápia megkezdését követő 7-14 napokon jelentkező, lázzal és bőрпиrossággal, hepatoxikus és vérképzőszervi toxikus hatásokkal járó tünetegyüttes. Súlyosabb Stevens-Johanson szindróma és a legsúlyosabb Lyell szindróma. Mindkét utóbbi az életet veszélyeztető, a teljes bőrfelületet érintő elváltozás, melyben a bőr legkülső rétege (epidermis) leválik az alsóbb bőrrétegtől (dermis).

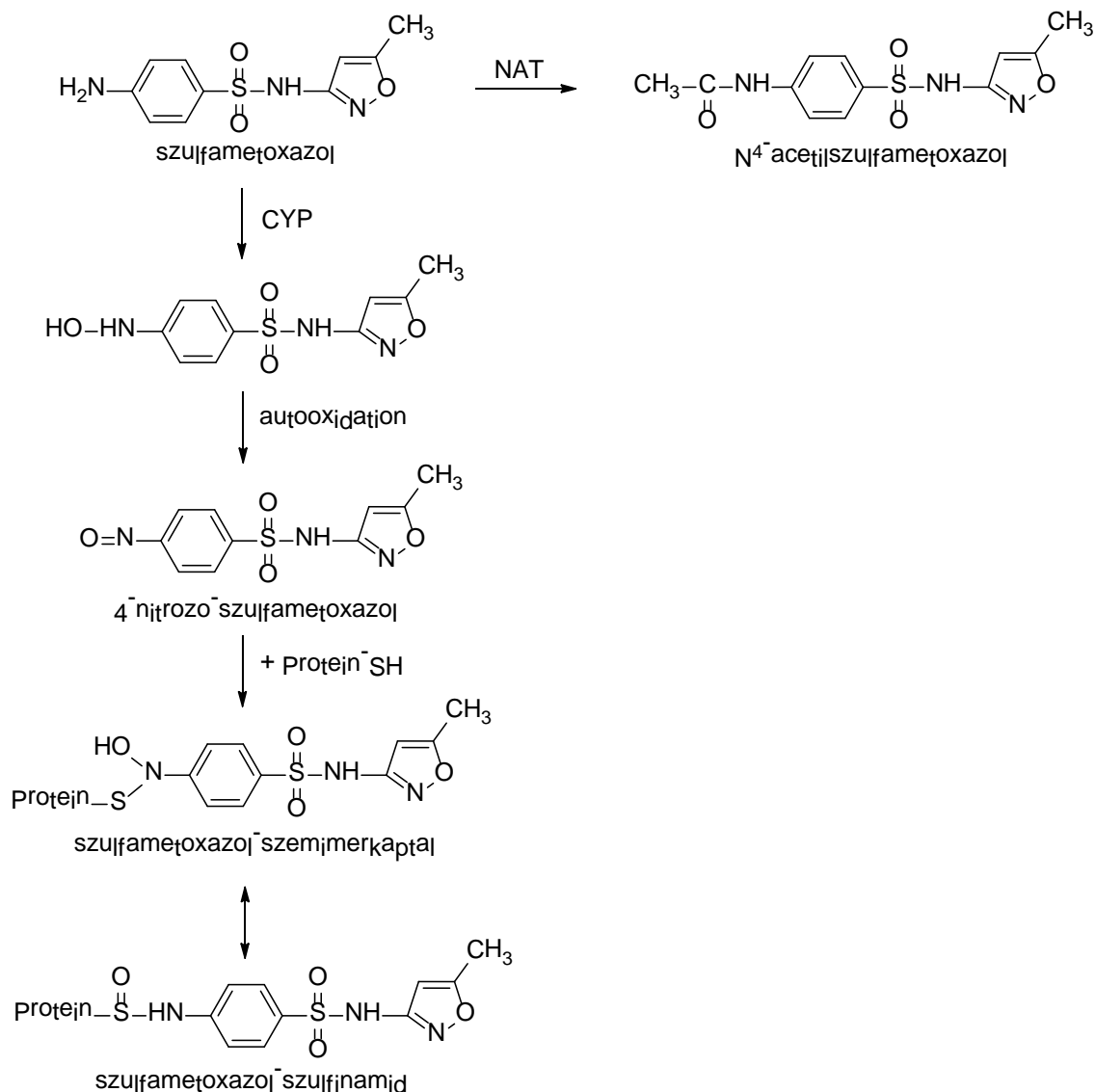
Bár a különböző típusú szulfonamidok által okozott túlérzékenységi reakciók molekuláris mechanizmusa részleteiben nem minden esetben ismert, több esetben (lásd II. és III. típusú reakciók) igazolást nyert, hogy a reakciók a vegyületek

metabolizmusával, illetve a keletkező reaktív metanolitok reaktivitásával kapcsolatos. A legtöbb adat a terápiában leggyakrabban alkalmazott szulfametoxazol (SMX) metabolizmusával, illetve túlérzékenységi reakcióinak mechanisztikus vizsgálatával áll rendelkezésre. Ezek alapján megállapítható volt, hogy az SMX okozta hiperszenzitivitás

1. az antibakteriális szulfonamidok N¹-atomjának CYP2C9 enzim katalizált N-hidroxilációhoz kötött, és
2. a lassú acetiláló fenotípus esetén előfordulása gyakoribb.

A szulfonamidok fő metabolikus útvonala az acetileződés az aromás primer aminocsoporton. E metabolikus átalakulásnál kisebb jelentőségű az aromás aminocsoport (N⁴) CYP2C9 enzim által katalizált hidroxilációja (VII-4. ábra). A keletkező N-aril-hidroxilamin metabolit az oxidált 4-nitrozoszármazékon keresztül készségesen reagál celluláris nukleofil atomokkal, így a fehérjék cisztein-SH funkcióival.

VII-4. ábra: A szulfametoxazol metabolikus aktiválása.



A keletkezett szulfametoxazol-fehérje addukt – megfelelő mennyiségű képződése – önmagában toxikus hatás iniciátora lehet, de ugyanakkor antigén szignált jelenthet 4-nitrozoszulfametoxazol-specifikus T sejtekkel szemben. Csökkent NAT aktivitású fenotípusok esetén a hidroxilamin-metabolit mennyisége megnő, és a toxikus hatás kifejezettebbé válik.

Az antibakteriális szulfonamidok túlérzékenységi reakciói fenti molekuláris mechanizmusát alátámasztja az a klinikai tapasztalat is, hogy az antibakteriális és nem-antibakteriális szulfonamidok között kereszt túlérzékenységi reakciók nem tapasztalhatók. Utóbbi származékok ugyanis nem rendelkeznek primer aromás aminocsoporttal.

VII.1 Kérdések, feladatok.

1. Milyen tényezők befolyásolják a testidegen anyagok metabolikus átalakulásait katalizáló enzimek aktivitását?
2. Jellemezze az idioszinkráziás gyógyszerhatás molekuláris mechanizmusát!
3. Hasonlítsa össze az idioszinkráziás hiperaktivitás és a hiperszenzitivitás jelenségét!
4. Írja le a testidegen anyagok túlérzékenységi (hiperszenzitivási) reakciói kialakulásának mechanizmusait!
5. Jellemezze a I. típusú túlérzékenységi reakciókat!
6. Jellemezze a II. típusú túlérzékenységi reakciókat!
7. Jellemezze a III. típusú túlérzékenységi reakciókat!
8. Jellemezze a IV. típusú túlérzékenységi reakciókat!
9. Egy-egy példát is említve, sorolja fel a szulfonamidok különböző hatástani csoportjait!
10. Jellemezze a szulfametoxazol metabolikus aktiválásán alapuló túlérzékenységi reakcióját!

VIII Kémiai karcinogenezis

Karcinogenezisen a különféle /kémiai, sugárzás, fizikai, virális/ tényezők hatására kialakuló daganatok fejlődésének mechanizmusát értjük. A szomatikus sejtek öröklődési anyagában létrejövő kóros elváltozás, lényegében szomatikus mutáció, amely nem öröklődik. Feltételezik, hogy ez együtt jár a növekedést szabályozó egyes proteinek megváltozásával és a sejtreceptorok elvesztésével, miáltal megszűnik a normál intercelluláris felismerési folyamat. Az így létrejött daganat sejtek (tumor sejtek) osztódási képességüket a környező szövetek rovására végtelenül hosszú ideig megtartják. A daganat sejtek anatómiai és működési szempontból is megváltoznak, és a szakember számára könnyen felismerhetők.

VIII.1 Definíciók

Daganat vagy tumor: Duzzanat, szövetszaporulat, igen eltérő okokkal a háttérben. Így a kiváltó ok lehet pl. gyulladás (ödéma) és a szövetszaporulat lehet „valódi” tumor, ún. neoplazma.

Neoplazma: Genetikai hibák, génszabályozási zavarok eredményeképpen folyamatos/fokozatos sejtszaporodással osztódó szövet.

Rosszindulatú (*malignus*) neoplazma: *áttételeket* (metasztázisokat) képez.

Rosszindulatú neoplazmák elnevezése:

- a.) Mesenchymalis eredetű neoplazmák: *szövet neve + sarcoma*
Pl. fibrosarcoma, osteosarcoma, liposarcoma
- b.) Ekdotermális vagy exotermális (epithelialis) eredetű neoplazmák: *szövet leírása + carcinoma*
Pl. epidermikus (bőr) carcinoma, hepatocelluláris carcinoma, gastricus carcinoma

Jóindulatú (*benignus*) neoplazma: nem képez áttéteket.

Jóindulatú neoplazmák elnevezése: *szövet neve + oma*

Pl. fibroma, adenoma, lipoma.

Áttétel (metastasis): Az elsődleges neoplazmából eredő másodlagos sejt/szövetszaporulat (daganat, tumor).

Rák (cancer): Neoplazmikus szövetszaporulat(ok) kialakulásával járó megbetegedés.

Karcinogén ágens: Neoplazma kialakulását okozó vagy indukáló ágens.

VIII.2 A sejtosztódás

A sejteket osztódási képességük és élettartamuk szerint a következő csoportokba sorolhatjuk:

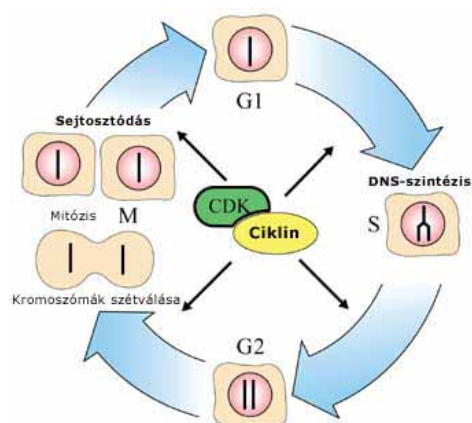
1. *Megújuló populációk.* A megújuló populációk (pl. bélhámsejtek, vérképző sejtek) sejtjei élénken szaporodnak. Osztódásaik során egyre érettebb alakok jelennek meg, végül kialakul a fajlagos működésű *végsejt*. A végsejtek további osztódásra már nem képesek. Működésük közben meglehetősen gyorsan elhasználódnak, vagy távoznak a szervezetből (pl. ivarsejtek). Élettartamuk ezért meglehetősen

- rövid (néhány nap, vagy hét). A populáció azonban fennmarad, mert a tartalékban lévő „össejtekből” állandóan megújul.
2. *Statikus sejtek.* Ezek a sejtek a magzat életben élénken osztódnak, a születés után azonban rövidesen beszüntetik szaporodásukat. Ilyen statikus sejtek a harántsíktolt és szívizomsejtek, illetve a gerincesek idegsejtjei. Ezek a sejtek annyi idősek, mint maga a szervezet. A statikus sejtek néha különlegesen hosszú élettartamát nem a sejtjes, hanem a molekuláris megújulása biztosítja.
 3. *Expandáló sejtek.* A fenti két típus között átmenetnek tekinthetők. Ilyenek például a hámszövetek és a máj sejtjei. A serdülőkor befejeztéig valamelyest ugyan még szaporodnak, de felnőttekben már ritkán, és akkor is csak az elpusztult sejtek pótlására. Például, a sebészeti gyakorlatban előfordul, hogy a máj egy részét eltávolítják (*hepatektómia*). Ilyenkor gyors regeneráció kezdődik és a májsejtek ugyanúgy szaporodnak, mit a megújuló sejtek. De – csak a szerv eredeti méretének eléréséig!
 4. *Össejtek.* Önfenntartó populációt alkotnak.

Az osztódó (megújuló, expandáló, és össejtek) sejtek reprodukciója a sejt tömegének, anyagainak megkettőződésével, két genetikailag azonos utódsejt kialakulásával járó, szigorú rendben lezajló események során valósul meg. A sejt anyagainak megkettőződését, majd osztódás következtében két új sejt létrejöttét eredményező folyamat a *sejtciklus*. Hagyományos definíció szerint a sejtciklus a mitózis kezdetétől a következő mitózisig tart (VIII-1. ábra).

A sejtciklust, annak meghatározó történései alapján, fázisokra osztjuk. A hagyományos fénymikroszkópos vizsgálatokkal a ciklust két szakaszra lehet osztani, a mag és a sejt ketté osztódására, valamint az osztódások között eltelt időszakra. A sejtmag osztódása (*mitózis*) és a sejt egészének (citoplazmájának) osztódása (citokinézis) együttesen alkotják az *M fázist*. (Gyakran nevezik ezt a két folyamatot együttesen mitózissnak.) Két egymást követő M fázist elválasztó szakasz az *interfázis*. Korszerű vizsgáló módszerekkel azonosítható, hogy az *interfázis* is jól elkülöníthető szakaszokból áll: a tipikus sejtciklusban *G₁*, *S* és *G₂* fázisokra tagolható.

VIII-1. ábra: A sejtciklus általánosított sémája.



Az *M fázisban* megtörténik a kromoszómák szétválása és a sejt kettéosztódása. *Interfázisban* a sejt növekszik, tömege megkettőződik, majd a mitózisban feleződik. A fehérjék, ribonukleinsavak szintézise, a sejtorganellumok számának növekedése az interfázisban folyamatos. A DNS szintézise kizárólag az S fázisban zajlik. A duplikáció

pontos, minden DNS-molekuláról egy másolat készül, továbbá a feleződés a mitózis során szigorúan egyenlő, mindkét utódsejt pontosan egyforma kromoszómakészletet örököl. Hasonlóan szigorú szabályozás figyelhető meg a centriólumok számában és szétosztásában. Ezek száma az interfázisban, általában az S fázis során, duplázódik, majd osztódáskor fele-fele arányban kerülnek a két utódsejtbe.

A sejtciklus történései szigorúan meghatározott rendben követik egymást. A ciklus meghatározott pontjain *ellenőrző pontok* – molekuláris mechanizmusok – működnek melyek a továbblépést csak akkor engedik, ha a fázisra jellemző részfolyamatokat a sejt végrehajtotta, és nem mutatkozik károsodás a genetikai örökítő készletben. A *három fő ellenőrző pont*

- a G_1/S fázis határán,
- a G_2 fázis végén és
- az M fázisban működik.

A sejt akkor tud a G_1 -ből az S fázisba lépni, ha a G_1 fázis során ún. *növekedési faktorokhoz* (általánosabban ún. *mitogénekhez*) jutott és tömege megfelelő méretűre növekedett, DNS-állománya ép, a replikációhoz szükséges apparátus és anyagok (pl. polimerázok, nukleotidok stb.) rendelkezésre állnak. Mindezek ellenőrzésére a G_1 fázis végén kerül sor (*G_1 ellenőrzési pont*).

A *G_2 ellenőrzési pont* nem engedi mitózisba lépni a sejtet akkor, ha DNS-molekulái károsodottak vagy hiányosan replikálódtak az S fázis során.

Az *M ellenőrzési pontok* a mitózis metafázisában működnek: például a sejt addig nem lép át az anafázisba, amíg az összes kromoszóma rá nem kötődik a szegregációt biztosító magorsóra (mitotikus készülékre) és el nem helyezkedik az ekvatoriális síkban.

A sejtciklus folyamatainak összehangolását molekuláris mechanizmusok biztosítják. A fázisok közötti átmenetet kinázokból és szabályozófehérjékből álló komplexek működése irányítja. Alapvető elemei a *ciklinfüggő protein kinázok* („cyclin dependent kinase” – *Cdk*), valamint a *ciklinek*. A sejtben többféle Cdk és ciklin is működik, specifikus kombinációik más és más fázisátmeneteket szabályoznak.

A sejtciklust szabályozó molekuláris mechanizmusok hibás működése többszörös mutáció következtében, ún. *transzformált sejtek*, állandóan kontrollálatlanul osztódó sejtvonalak alakulnak ki. A sejtosztódást serkentő géneket *protoonkogéneknek* nevezzük (pl. *ras*, *raf*, *bcl*, *jun*, *myc*). Ezek túlműködést előidéző mutációjával létrejövő transzformáló gének az *onkogének*. Hatásuk domináns a protoonkogének termékei felett, hatásukra fokozott sejtosztódás, sejtburjánzás következhet be.

Az osztódást gátló gének a *tumor szupresszor* gének (pl. *p53*, *rb*, *wt*, *brca*, *mcc*). Normál működésű termékeik hozzájárulnak a sejtciklus szabályozásának egyensúlyához. E gének deléció vagy alulműködést okozó mutációja a sejtciklus szabályozásának felborulását eredményezheti. Mindkét géncsoport mutációja a ciklus szabályozásának zavarához, szélsőséges esetben annak felfüggesztődéséhez, végül tumorok kialakulásához vezethet.

A daganatok kialakulása és a sejtciklust szabályzó gének (és termékeik) károsodása közötti összefüggést többek között alátámasztja, hogy

1. A legkülönbözőbb ráktípusoknál igazolták a DNS megváltozását, valamint azt, hogy a rákos sejt DNS-e különbözik a szomszédos egészséges sejt(ek) DNS-étől.

2. A DNS-t károsító szerek (mutagének) soráról bizonyították, hogy rákkeltő (karcinogén) is egyben, tehát a karcinogenezis és a mutagenezis háttérben ugyanaz áll.
3. Sok esetben az okoz rákot, ha sérült a DNS javító mechanizmusok egyike és emiatt nagyobb a mutáció valószínűsége.
Epidemiológiai adatok igazolják, hogy a daganatok képződésének elsődleges okai a környezeti hatások között keresendők. A környezeti hatások között kiemelt jelentőséggel bír
 - a táplálkozás,
 - a dohányzás,
 - a különböző fertőzések,
 - a szexuális magatartás, valamint a foglalkozás.

VIII.3 Környezeti karcinogének

A környezeti hatások megnyilvánulnak a genetikai információ érvényre jutásának szintjén (epigenetika) is, de az ún. karcinogén anyagok közvetlenül a sejtek genetikai állományában okoznak sérülés(ek)e)t, mely(ek) azok neoplastikus átalakulásához vezethet(nek).

Az ilyen típusú rákkeltők három fő csoportba sorolhatóak:

- a. kémiai anyagok,
- b. sugárzó energia és
- c. biológiai karcinogének (jellemzően vírusok).

Egy adott anyag humán karcinogén voltának bizonyítása igen nehéz és hosszú folyamat. Az ember sok külső hatásnak; gyógyszereknek, különböző vegyszereknek, ipari szennyezésnek van kitéve. Emellett az expozíció és a tumorok kialakulása között jellemzően hosszú lappangási idő (akár 15-20 év) telik el. Az, hogy sejtvonalakon vagy labor állatokon végzett kísérletek alapján karcinogén egy adott vegyület, még nem bizonyító értékű emberre gyakorolt hatására nézve. A bizonyítottan vagy feltételezhetően karcinogén anyagok regisztrálását a Nemzetközi Rákkutató Ügynökség (IARC) végzi és koordinálja számos, leginkább mutagenezisre, teratogenezisre és toxicitásra kiterjedő, akár több évtizedig elnyúló kísérletes és epidemiológiai vizsgálat adatainak felhasználásával.

A daganatkeltők veszélyességi csoportokba való besorolása meghatározott kritériumok alapján történik, attól függően, hogy elegendő, korlátozott, inadekvát vagy semmiféle bizonyíték nem áll rendelkezésünkre a humán daganatkeltő hatásra vonatkozóan. Ez alapján 4 csoportot különböztetnek meg.

1. kategória: Az anyag *bizonyítottan karcinogén* az emberre. Humán karcinogén az az anyag, amely az emberekben egyértelműen és elegendő bizonyítékalapján rákkeltő hatású. Az első kategóriába sorolt karcinogének listáját az VIII-1 táblázat foglalja össze.

2/A. kategória: Az anyag *valószínűleg karcinogén* az emberre. A humán karcinogenitásra vonatkozóan korlátozott, de az állatkísérletek eredményei alapján elegendő bizonyíték áll rendelkezésre.

2/B. kategória: Az anyag *lehetséges, hogy karcinogén* az emberre. Az emberre vonatkozóan korlátozott, az állatkísérletek eredményei alapján viszont kevesebb, mint elegendő bizonyíték áll rendelkezésre a karcinogenitásra.

3. kategória: Az anyag a karcinogenitása alapján *nem osztályozható*. Nincs elegendő bizonyíték az emberre nézve és nem elegendő, vagy korlátozott bizonyítékunk van az állatkísérletek eredményei alapján.

4. kategória: Az anyag *valószínűleg nem karcinogén* az emberre. Mind emberre, mind állatra vonatkozóan az anyagnak bizonyítottan nincs rákkeltő hatása.

VIII-1 táblázat: Emberben bizonyítottan rákkeltő kémiai, fizikai és biológiai hatások (IARC 1. kategória)

Táplálkozás	hematitbányászat (mélysintű radon expozícióval)
aflatoxinok	izopropil-alkohol előállítás
alkoholfogyasztás (etanol)	erős szerves savak gőze
acetaldehid (alkoholos italok fogyasztása)	kőszénkátrány desztillálás
arisztolochiasav (gyógynövény)	ásványi olajok, kezeletlen és enyhén kezelt
sózott halak (kínai típusú)	palaolajok
Életmód	korom
Bérelragás (dohánnyal)	fapor (bútorgyártás)
Bagóragás (dohánnyal)	feldolgozott bőr pora (cipőgyártás)
dohányüst (passzív dohányzás)	Biológiai tényezők
N'-nitrozonornikotin (NNN)	Epstein-Barr vírus
4-(N-nitrozometilamino)1-(3-piril)-1-butatnon (NNK)	Helicobacter pylori
Fémek	Hepatitis B és C vírus
arzén és szerves vegyületei	HIV 1-es típus
berillium és vegyületei	Kaposi szarkóma herpeszvírus
gallium arzenid	HPV egyes vírusai
kadmium és vegyületei	Humán T-sejt limfotróp vírus, 1-es típus
króm(VI) vegyületek	Opisthorchis viverrini
Nikkelvegyületek	Chlonorchis sinensis
Szemcsék, rostok	Schistosoma haematobium
azbeszt	Gyógyszerek
szilikátok	azatioprin
talkum, azbesztszerű szálakkal	buszulfán
erionit (zeolit)	ciklosporin
Sugárforrások	ciklofoszfamid
radionuklidok, α - és β -kibocsátók	klórnaftalin
radon-222 és bomlástermékei	fenacetin
radium-224,-226,-228 és bomlástermékei	melfalan
stroncium-90 és bomlástermékei	8-metoxipszoralén (methoxsalen) + UV-A sugárzás
tórium-232 és bomlástermékei	4,4'-metilénbisz(2-klóranilin) (MOCA)
plutonium-239 és bomlástermékei	MOPP kezelési séma (+ más alkilezőszerekkel végzett kemoterápia)
hasadási termékek (nukleáris baleset)	1-(2-klóretil-3-(4-metilciklohexil)-1-nitrozourea (metil-CCNU)
foszfor-32	klorambucil

radiojódok, rövid életű izotópjai	bisz(klórmetil)éter és klórmetil-metil-éter
röntgen- és γ -sugárzás	etopozid
napsütés	treoszulfán
UV-sugárzás	thiotepa
neutronsugárzás	hormonkezelések: dietilstilbösztrol, posztmenopauzális ösztrogénkezelés, ösztrogén-progeszteronkezelés, orális ösztrogén-progeszteron kontraceptívumok, tamoxifén
Növényvédőszer	Egyéb
3,4,5,3',4'-pentaklórbifenil (PCB-126)	vinilklorid
2,3,4,7,8-pentaklórdibenzofurán	1,3-butadién
2,3,7,8-tetraklórdibenzo- <i>para</i> -dioxin	4-aminobifenil
Foglalkozási expozíció	benzol
alumíniumgyártás	benzidin
vas- és acélgyártás	benz[a]pirén
kokszyártás	mustárgáz
festégyártás	formaldehid
auraminyártás, magentagyártás (festégyártás)	etilénoxid
festő (foglalkozás)	o-toluol
gumiipar	2-naftilamin
széngázosítás	dízelmotor kipufogógáz

VIII.3.1 Kémiai anyagok

A testidegen anyagok és emberi daganatok közötti összefüggésről az első megfigyelés 1775-ből *P. Pott*-tól származik. Kísérletesen 1915-ben *Yamagiwa* és *Ichikawa* tudott nyulakban kátránnyal daganatot előidézni. Környezetünkben kb. 4 millió felett van a kemizáció következtében bekerült anyagok száma, mely évente 10.000-vel nő. Ezekből az anyagokból több ezret már megvizsgáltak, és több száz bizonyult karcinogénnek. A humán daganatok kb. 80 %-áért környezeti tényezők felelősek, s ezek 90 %-áért a kémiai karcinogének. A rákkeltő vegyületeket - bár önkényesen - általában hat nagy csoportra osztják:

1. A *policiklikus aromás szénhidrogének* (PAH-ok, pl. dimetilbenzantracén, benzpirén, metilklorantén, stb.), amelyek leginkább a kátránytermékekben, a kőszén égése során keletkező gázokban, a koromban, a dohányfüstben, kipufogó gázokban jelenlévő karcinogének. Bőr és tüdődaganatot okoznak. Promóter hatással is rendelkeznek, így komplett karcinogéneknek tekinthetők.
2. Az *aromás aminok* (pl. 2-naftilamin, o-toluidin, 4-aminobifenil, benzidin, stb) anilinfestékek, növényvédő szerek, és egyes műanyagok gyártása során szennyező rákkeltők. Máj- hólyagtumorok kialakulásáért felelősek. Daganatkeltő hatásuk metabolikus aktiválásukhoz kötött.
3. *Nitrózaminok* (pl. dimetil-, dietil-, dibutil- stb. nitrózaminok): pl. dohányfüst, fodrászipar, gumiipar, során történt expozíciók karcinogénjei. A nitrózaminok és a nitrózamidok nagyon erős, széles spektrumú kémiai karcinogének. A nitrózaminok vegyületenként eltérő szerspecifitást mutatnak, így számos szervben indukálhatnak daganatot (tüdő, máj, gyomor, bél).

4. *Aflatoxinok* (különböző *Aspergillus* és más ehető gombafajták toxinjai): gabonákon, kukoricán, földimogyorón előforduló, a táplálkozási láncon keresztül bejutó rákkeltők. Egyik legismertebb képviselőjük az aflatoxin B1, ami májtumorok kialakításában játszik szerepet.
5. Hatásukban, szerkezetükben egymással együtt nem csoportosítható vegyületek, közöttük:
 - a. *szervetlen vegyületek*: pl. arzén, berillium, kadmium, króm, nikkel, stb.
A fémionok elsősorban oxidatív károsodást okozva rákkeltőek, de epigenetikai változásokat is okozhatnak a DNS-metiláció fokozásával, redox-potenciál megváltoztatásával (króm), keresztkötéseket létrehozva a DNS és a fehérjék között, vagy receptorkötődéssel, de a DNS hibajavító (*repair*) mechanizmusa is károsodást szenved.
 - b. *szerves szintetikus vegyületek*: pl. mustárgáz-származékok, egyes növényvédő szerek, vinilklorid, gyógyszerek, stb.
Egyes gyógyszerek alkalmazása során iatrogén daganatok keletkezhetnek. A gyógyszerek daganatkozó hatása igazolható citosztatikus terápia során (pl. a *klórambucil*, a *buszulfán* és a *ciklofoszfamid* akut mieloid leukémiát indukálhat), továbbá egyes hormonkezeléseknél (pl. a *tamoxifén*, ami a humán emlőtumor kialakulásának kockázatát csökkenti, endometrium daganatot okozhat), valamint *fenacetin* tartalmú fájdalomcsillapítóknál is (ez utóbbi vegyült esetben a vesemedence és húgyvezeték rosszindulatú elváltozását írták le).
 - c. *szerves természetes vegyületek*: pl. egyes gombák hidrazinjai, egyes növényi alkaloidák, stb.
6. Azbeszt, kvarc, talkum

VIII.3.2 Sugárzó energia

Az elektromágneses sugárzással kapcsolatos jelenségek értelmezésénél annak hullám- és részecskesajátságai is szerepet kapnak. A fény elektromágneses sugárzásként történő leírása *J. C. Maxwell* nevéhez fűződik: a mágneses és elektromos mező egymásra és a fény terjedésére merőleges irányban oszcillál.

Az elektromágneses sugárzás, mint hullám jellemezhető:

1. *hullámhosszal* (λ): a szinusz hullám két egymás utáni, azonos fázisú pontjai közötti távolság;
2. *frekvenciával* (ν): az egy másodpercre eső hullámok száma; illetve
3. *hullámszámmal* (ν^*): az egy méterre eső hullámok számával.

Az egyes tényezők közötti kapcsolatot az alábbi összefüggések adják meg:

$$\nu \cdot \lambda = \frac{c}{n}$$

$$\nu^* = \frac{1}{\lambda} = \frac{\nu \cdot n}{c}$$

ahol

ν = a frekvencia

ν^* = a hullámszám

λ = a hullámhossz

c = a fény sebessége vákuumban ($3 \cdot 10^8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$)

n = a közeg törésmutatója

A fény bizonyos spektroszkópai folyamatokban részecske természetet mutat. Az elektromágneses részecskéi (kvantumai) *a fotonok*. A foton energiája (E) egyenesen arányos a sugárzás frekvenciájával:

$$E = h \cdot \nu = \frac{h \cdot c}{\lambda \cdot n}$$

ahol

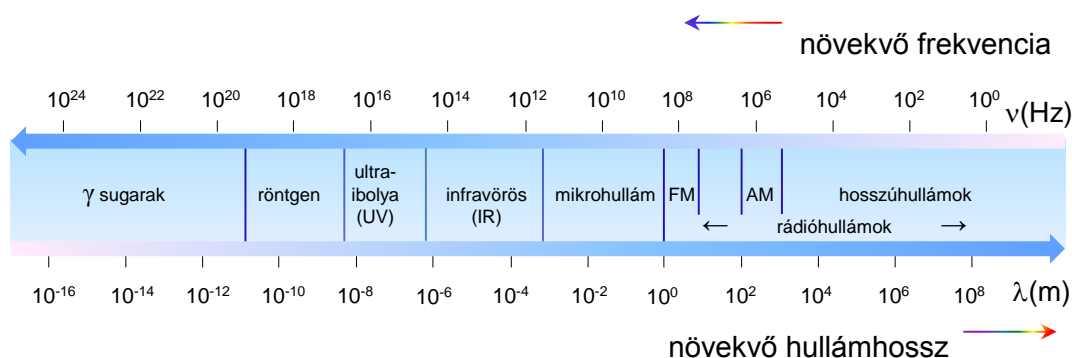
E = a foton energiája

h = a Plank-féle állandó ($6,626 \cdot 10^{-34}$ J)

VIII.3.2.1 Nemionizáló sugárzások

A nem-ionizáló sugárzások az elektromágneses sugárzásoknak a 100 nm-nél hosszabb hullámhosszú spektrumát alkotják. Jellemzőjük, hogy fotonenergiájuk nem képes ionizációt létrehozni és a hullámhossz növekedésével csökken az energiájuk. A növekvő hullámhossznak megfelelően ide tartozik a 100-400 nm hullámhosszúságú ultraibolya (közeli és távoli), a 400-800 nm látható fény és a 800 nm-1 mm közötti infravörös sugárzás (közeli és távoli). Ezt a hullámhossztartományt az optikai sugárzások tartományának nevezik, míg az 1 mm-1 m közötti mikrohullámú és az 1 m-től 1 km-ig terjedő hullámhosszúságú nagyfrekvenciás sugárzásokat összefoglalóan rádiófrekvenciás sugárzásoknak hívjuk. Az 1 km-nél hosszabb hullámhosszak esetében elektromos és mágneses terekről beszélünk (VIII-2. ábra)

VIII-2. ábra: Az elektromágneses spektrum tartományai



Legfontosabb természetes eredetű nem-ionizáló sugárforrásunk a Nap, aminek ultraibolya (UV) komponense a legismertebb veszélyes rákkeltő. Még a XIX. század végén fedezték fel, hogy az emberi bőrrák kapcsolatba hozható a napfényvel, amit aztán számos kísérletben bizonyítottak. Az epidemiológiai adatok tanúsága szerint több mint 2 millió nem-melanoma bőrrák és megközelítően 200 000 rosszindulatú melanoma keletkezik a Földön minden évben. A rizikó nagysága függ az UV hullámok típusától, a sugárzás intenzitásától és a bőr melanin tartalmától. A genetikából fakadó rizikótényezők; a pigment karakterisztika (szem és hajszín) és a bőr anyajegyességének mértéke a legfontosabb személyre jellemző tényezők.

Az UV tartomány egyes elemeinek biológiai hatásai a hullámhossztól függően eltérőek. Az UV spektrum a hullámhossz alapján három alcsoportba osztható: UVA (320-400 nm), UVB (280-320 nm) és UVC (200-280 nm), melyek közül az UVB tartható felelősnek a bőrrák kialakulásáért. Habár az UVC sugárzás is mutagén, az ózonréteg védő szerepe miatt hatása – egyelőre – nem érezhető. Az UVC mesterséges

fényforrásokból előállítva viszont pont DNS károsító jellege miatt hatékony dezinficiáló ágens, ilyen módon kerül hasznosításra, mint germicid lámpa, vagy mint nagy volumenű víztisztító berendezés. Az UVC igen kifejezett DNS károsító hatásának alapja az, hogy a DNS molekula abszorpciós maximuma 260 nm, amely teljes egészében ebbe a tartományba esik. Emellett azonban a DNS abszorpciós görbéje átnyúlik az UVB tartományba is, így ennek a hullámhossz tartománynak a DNS károsító hatásával is számítanunk kell. Az UV-fotonok a DNS-ben jellemzően két egymás melletti pirimidin bázis esetén okoznak markáns elváltozást, két alapvető fototermék létrehozásával. Ezek közül gyakran jön létre a ciklobután-pirimidin-dimerek, illetve kisebb valószínűséggel a pirimidin-pirimidon fotoproduktum.

Az UV sugarak több útvonalon keresztül hathatnak a sejtekre: sejtosztódás-gátlás, enzim inaktiváció, mutáció indukció és kellően nagy dózisban akár a sejtek elpusztítása is. Az UVB sugárzás mutációkat okoz az onkogénekben és a tumorszuppresszor génekben egyaránt (pl. ras és p53). A természetes napsugárzás mellett a szoláriumok rendszeres használata is növeli a bőrrák kialakulásának kockázatát.

VIII.3.2.2 Ionizáló sugárzás

Az elektromágneses sugárzások spektrumában az ionizáló sugárzásokat nagyon rövid hullámhossz (<100 nm) jellemzi, amelyek az anyaggal direkt vagy indirekt módon – kölcsönhatásba lépve a semleges atomokat ionokká alakítják. A sugárzást alkotó komponensek között megkülönböztetünk részecske- vagy korpuszkuláris sugárzásokat (protonok, neutron, elektron, α -részecskék) és elektromágneses *röntgen-* vagy *gamma*sugárzásokat.

Az ionizáló sugárzások olyan energiafajták, amelyek az elnyelő anyag atomjait gerjesztik, vagy ionpárokká változtatják. Az ionizáció direkt és indirekt módon mehet végbe. Direkt ionizálásnak a töltött részecskék, indirekt pedig az elektromágneses hullámok. A töltetlen részecskék (neutronok) másodlagos töltött részecskék révén ionizálnak. A sugárhatásban alapvető fizikai jelenség a gerjesztés és az ionizáció. Indirekt sugárhatásnál közvetlenül ionizáló töltött részecskék képződnek (másodlagosan).

A molekulák sugárérzékenysége a DNS-től kiindulva csökken, olyannyira, hogy a DNS érzékenysége pl. 8-szor nagyobb, mint az aminosavaké. A lipidek és más makromolekulák érzékenysége ezektől elmarad. A DNS-ben – a kémiai rákkeltőkhöz hasonlóan – a következő károsodásokat indukálhatja a sugárzás: (a) kettősszál törés, (b) egyesszál törés, (c) báziskárosodás, (d) szálon belüli és szálak közötti keresztkötések, (e) DNS-protein keresztkötések, de ezen túlmenően kialakulhatnak a fehérje-fehérje keresztkötések is.

A sejtek sugárérzékenysége függ a sejt ciklusbeli állapotától. A szinkron kultúrákban (azonos osztódási fázisokban) lévő sejtek leginkább a G1-fázisban (DNS-szintézis előtti fázis) és az S-fázis (DNS-szintézis fázisa) elején érzékenyek. Ez az érzékenység progresszíven csökken az S-fázis vége felé, majd újból emelkedni kezd és ismét érzékenység áll be a G2-ben (DNS-szintézis utáni fázis), ami egészen a következő mitózis kezdetéig tart. Mitózisban a sejtek ismét nagyon érzékenyek. In vivo körülmények között azonban a sejtek nem szinkron, hanem heterogén módon növekednek, tehát valamennyi fázist reprezentálják. Ekkor a sugárérzékenységet a leginkább sugárrezisztens komponens tömege fogja meghatározni, aminek a sugárterápiás dózisok tervezésében van jelentősége.

Az ember nem minden szerve egyformán érzékeny a sugárzásra: a leggyakrabban a leukémiák és pajzsmirigyák, ezt követően emlő-, tüdő- és nyálmirigyek malignitásainak incidenciája nő meg, míg a bőr, a csont és az emésztőrendszer relatíve védettnek tekinthető a sugárzás hatásaival szemben.

A humán populációt érő legfontosabb ionizáló sugárforrás a

- a.) természetes háttérsugárzás,
- b.) orvosi és mesterséges sugárforrások, valamint
- c.) foglalkozási sugárforrások

VIII.3.3 Biológiai karcinogének

A biológiai rákkeltő tényezők közé a különféle mikroorganizmusok tartoznak, amelyek általában a tartós gyulladás fenntartásával járulnak hozzá a rák kialakulásához. A VIII-2 táblázat összefoglalja a humán karcinogenezis szempontjából legfontosabb baktériumokat, vírusokat és egyéb biológiai ágenseket.

A *Helicobacter pylori* gramm negatív kórokozó, mely a gyomor különböző régióiban – legjellemzőbben az antrumban – okoz krónikus gyulladást. Ez a betegek mintegy 80%-ában tünetmentes, azonban következményeként fekélyes gyomor- illetve duodenális fekélyek, ezek talaján malignus elfajulás jöhet létre.

Az *Opisthorchis viverrini* és *Clonorchis sinensis* élősködők (férgek) az epevezetékben telepednek meg és az epevezeték és az epehólyag daganatát okozzák. A *Shistomosa haematobium* hólyagrát képez okozni.

A vírusok a sejtjeink génállományával kapcsolatba lépve, módosíthatják is azt, s olyan elváltozást hozhatnak létre, ami rákhoz vezet. Az elsőként felismert oncovírus a csirkékben sarcomát okozó *Rous sarcoma* vírus volt, melyet P. Rous írt le (1911). Globálisan igen jelentős hatású karcinogén vírusok a *hepatitis B* vagy *C*, melyek hepatocelluláris karcinómát okozhatnak, illetve a *humán papilloma vírus* (HPV) mely a pénisz-, vulva- és méhnyakrák, valamint az anális régió adenocarcinomáinak kialakulásában játszik szerepet. A vírus integrálódik a genomba és megváltoztatja a génszabályozás egyensúlyát mutációt okozva, illetve epigenetikai módon a beépülés közelében lévő gének aktivitásának megváltoztatásával.

VIII-2 táblázat: Humán karcinogén biológiai ágensekkel kapcsolatba hozható daganattípusok

<i>Helicobacter pylori</i>	gyomorrák
<i>Opisthorchis viverrini</i> és <i>Clonorchis sinensis</i>	epevezeték- és epehólyagrák
<i>Shistomosa haematobium</i>	hólyagrák
<i>Epstein-Barr vírus (EBV)</i>	Burkitt limfóma, immunszuppresszió-függő non-Hodgkin limfóma, nazális limfóma, nazofaringeális rák és feltehetően gyomorrák
<i>Hepatitis B vírus (HBV)</i>	hepatocelluláris karcinóma, epevezeték- és epehólyagrák, non-Hodgkin limfóma
<i>Hepatitis C vírus (HCV)</i>	hepatocelluláris karcinóma, epevezeték- és epehólyagrák, non-Hodgkin limfóma
<i>Kaposi-szarkóma-asszociált herpesz vírus (KSHV)</i>	Kaposi szarkóma, limfóma
<i>Humán immundeficiencia vírus (HIV)</i>	Kaposi szarkóma, non-Hodgkin limfóma, Hodgkin limfóma

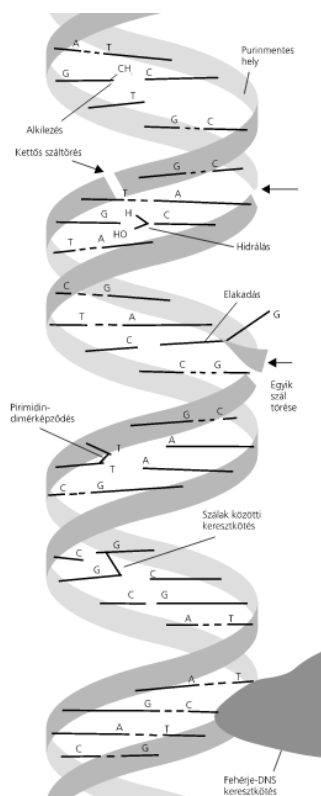
<i>Humán papilloma vírus (HPV)</i>	cervix-, vulva-, vagina-, pénisz-, ánus-, szájüreg-, orrgarat-, mandula-, gégerák
<i>Humán T-lymphotropic vírus 1-es típus (HPTLV-1)</i>	felnttkori T-sejtes leukémia/limfóma

VIII.4 A kémiai karcinogenezis

A genetikai állomány, a DNS-molekula épségének megőrzése mind a fajfenntartás, mind, saját egészségünk megőrzésében döntő jelentőségű. Ha az ivarsejtek génjeiben alakul ki DNS-eltváltozás, akkor *germinális* vagy ivarsejti, ha a testi sejtekben károsodik a DNS, akkor *szomatikus* vagy testi sejt mutációkról beszélünk. A daganatok nagy része a szomatikus sejtekben felhalmozódó mutációk következménye, ezeket hívjuk sporadikus daganatoknak. Ezzel szemben a daganatoknak egy igen kis hányada öröklött mutációkra vezethető vissza, amikor minden egyes testi sejt a megváltozott, mutált gént hordozza. Ahhoz, hogy ezekben az egyénekben később rosszindulatú daganat alakuljon ki, további szomatikus mutációkra van szükség. Ezeknek a személyeknek a kockázata ugyanannyi a daganat kialakulására, mint a mutációt nem hordozóknak, de megfelelő életmóddal, a karcinogén-expozíció elkerülésével vagy csökkentésével az örökletes daganatképződés kockázata is csökkenthető.

A mutációt kiváltó ágenseket *mutagéneknek* nevezzük. A mutagének és a DNS közötti kölcsönhatások lehetséges káros következményeit az VIII-3. ábra mutatja be. A kémiai anyagok környezeti vagy endogén hatásra bázisvesztést, báziscicseréldést, bázisbeépülést, oxidációt, depurinálást, depirimidinálást, alkilálást, egyszálú- és kétszálú törést, stb. okozhatnak a DNS-ben.

VIII-3. ábra: A DNS kettős spirál feltételezett károsodásai



Általában minél több mutáció jön létre egy, vagy egymástól függetlenül akár több sejtben, annál valószínűbb a rák kialakulása. Sok testidegen anyag sajátossága, hogy kis dózisban mutagénként, nagy dózisban pedig citotoxikus szerként viselkedik. Mind az előbbieket, mind az utóbbiakat gyakran nevezzük *genotoxikus szereknek* is, különösen akkor, amikor a sejt maganyagában lévő DNS-t károsítják.

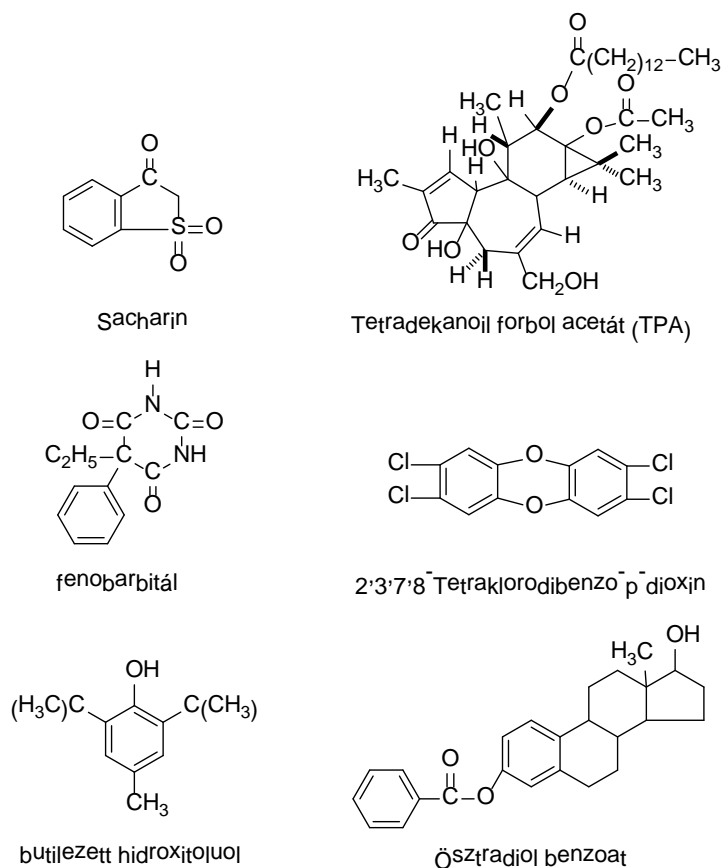
A karcinogén tulajdonságú anyagokkal érintkező szervezetben azoknak a mutációknak van jelentőségük, amelyek nem vezetnek a sejt halálához (apoptózis) és nem javítják ki azokat különböző enzimatis rendszerek (reparáció), hanem biológiai szempontból értelmes (bár káros) információt közvetítenek az utódsejtekbe, amelyek idővel a karcinogenezis további fázisaiban már korlátlan sejtburjánzással alakulnak daganatos szövetté.

A kémiai karcinogenezis mechanizmusainak modellezésére több elmélet született. Ezek a modellek azért fontosak, mert támpontot nyújtanak az adott anyag karcinogén tulajdonságainak megállapításához, a támadási fázisok vizsgálatához, ezen belül a különböző tesztek és a prevenciók lehetőségek kidolgozásához. Általánosságban azonban a karcinogenezist valamennyi modell többlépcsős folyamatként írja le.

P. Rous volt az első kutató, aki felvetette a daganatfejlődés kétlépcsős modelljét az iniciációt és a promóciót. Az 1940-es években *I. Barenblum* azonosította elsőként azokat a vegyületeket, melyek erősítették a karcinogének hatását, és amelyeket „kokarcinogéneknek”) nevezett el. A modell szerint az *iniciátor* vegyületek mutagének, kémiailag módosítják a DNS szerkezetét. Hatásuk irreverzibilis, egyszeri expozíciójuk is elegendő a daganat kialakulásához. Legismertebb képviselői a policiklusos aromás szénhidrogének, az N-nitrozovegyületek (N-nitrozaminok, N-nitrozokarbamid-származékok), valamint a halogénszubsztituált szénhidrogének (vinilklorid, etiléndibromid).

A *promóter* vegyületek önmagukban nem karcinogének, nem változtatják meg a DNS szerkezetét. Hatnak a génextpresszióra, a sejtosztódásra és a sejtnövekedésre. A daganat kialakuláshoz többszörös expozíció szükséges, valamint az, hogy az expozíció az iniciációt követően történjen. Hatásuk reverzibilis, ha a hatás nem érkezik megfelelő időközönként, akkor a köztes időben - amennyiben a sejt *repair* mechanizmusai jól működnek - helyreállítják a károsodást, és nem következik be a malignus elfajulás. Ebbe a csoportba tartoznak a forbolészterek és néhány halogénszubsztituált szénhidrogén (pl. DDT, dioxin). Néhány reprezentatív tumor promóter szerkezetét a VIII-4. ábra mutatja be.

VIII-4. ábra: Néhány tumor promóter szerkezete



A daganatképződés képlépcsős modellje alapján a kémiai karcinogéneket osztályozhatjuk a szerint is, hogy a daganatképződés melyik fázisában vesznek részt. A különböző típusú daganatkeltő szereket a VIII-3 táblázat foglalja össze.

VIII-3 táblázat: A karcinogén anyagok osztályozása

<i>Szinkarcinogén</i>	Az a két vagy több karcinogén anyag, amelyek önmagukban mg hatástalan dózist együtt adagolva, azok együttesen daganatok kifejlődését segítik elő.
<i>Komplett karcinogén</i>	Az a karcinogén anyag, amelyik az iniciációs és a promóciós szakra egyaránt hat, tehát önmagában is képes daganat létrehozására.
<i>Inkomplett karcinogén</i>	Olyan anyag, amely kizárólag az iniciális (vagy promóciós) szakaszt indítja meg, de a promóciós (az iniciális) fázisra hatástalan.
<i>Kokarcinogén</i>	Az az anyag, amelyik csak a promóciós szakaszra hat, és daganatot csak akkor tud előidézni, ha a szövet sejtjei már áttestek az iniciális fázison.

A promóter hatás megértése azért nagyon lényeges, mert általában a spontán iniciált sejtek önmagukban nem vezetnek megbetegedéshez; a daganat továbbfejlődéséhez promóter hatás szükséges. Néhány promóter-receptor interakciót a VIII-4 táblázat foglal össze.

VIII-4 táblázat: Néhány promóter-receptor interakció a célszövetekben

Promóter	Célszövet(ek)/szerv(ek)	Receptor-státus	Típus
Tetradekanoil-forbol-acetát (TPA)	Bőr	Azonosított	G-proteinhez kötött tirozinkináz
Planáris poliklórozott bifenilek	Bőr, máj	Azonosított	Szteroid
Szexuál szteroidok	Máj, emlő, vese	Azonosított	Szteroid
Szintetikus antioxidánsok	Máj, tüdő, gyomor	Feltételezett	Szteroid (?)
Fenobarbitál	Máj	Feltételezett	Ismeretlen
Peroxisoma proliferátorok (pl. clofibrate)	Máj	Azonosított	Szteroid
Ciklosporin	Máj, limphoid szövet	Azonosított	G-proteinhez kötött tirozinkináz

Komplett karcinogén ágens jelen tudásunk szerint kevés van, közéjük tartozik a *2-naphtilamin*, a *vinilklorid*, a *dohányfüst* és *egyres sugárzások*.

A kémiai karcinogéneket hatásmechanizmusaik alapján a következő csoportokba sorolhatjuk.

1. *Genotoxikus karcinogének:* Azok a vegyületek, melyek a DNS-ben tárolt információt tartósan megváltoztatják, és ezáltal az örökölt tulajdonságok megváltozását (*mutációt*) idézhetik elő. Ezen kívül ide tartoznak azok a vegyületek is, melyek a genetikai károsodások kijavítását szolgáló rendszerekre hatnak. Főbb csoportjai a következők:
 - a. Metabolikus aktivációt nem igénylő karcinogének (pl. epoxidok, N-nitrozokarbamidok)
 - b. Metabolikus aktivációt igénylő prokarcinogének (pl. policiklusos aromás szénhidrogének)
 - c. Reaktív szabadgyököket képző karcinogének.

A genotoxikus karcinogének (mutagének) kovalens kötések révén módosítják a DNS (az RNS és a fehérjék) primér szerkezetét. A DNS-sel lejátszódó reakciókban a purin és piridinbázisok szerkezete megváltozik, melynek következtében a replikáció során hibás bázis épülhet be (pontmutáció), vagy a hélix szerkezetében történő változás miatt deléció vagy inzerció következik be. A genotoxikus hatású vegyületek által leggyakrabban okozott DNS károsító hatás a

- a. dezaminálás, és az
- b. alkilezés.

A kémiai DNS-károsítás eredményeképpen kialakult szerkezeti változások által indukált bázisrendváltozás rögzülhet, vagy a DNS-repair mechanizmusok segítségével visszaállhat az eredeti bázissorrend. Amennyiben a repair mechanizmust kódoló DNS szakasz, vagy a repair mechanizmusban résztvevő fehérjék (enzimek) szerkezete is károsodott, úgy a kialakult mutáció rögzülhet és továbbalakulhat az utódsejtekbe. Ha a mutáció egy onkogénben és/vagy tumor szupresszor génben jön létre (ezeknek a géneknek jelentős szerepük van a sejtosztódás szabályozásban) akkor az utódsejtekben szabályozatlan sejtosztódás játszódhat le, ami daganat kialakulásához vezethet.

2. *Nem-genotoxikus (epigenetikus) karcinogének:*

Azok a vegyületek, melyek a genetikai állományban továbbörökíthető, a DNS információtartalmát érintő elváltozásokat nem okoznak. Ezek jellemzője, hogy rákkeltő hatásuk nagy valószínűséggel ún. küszöbdózishoz kötött, a szervezetben egyébként is gyakran jelen vannak, általában nemhez kötötten, és/vagy szerv specifikus módon. Kis dózisokban létszükségletűek, nagy dózisokban lesznek karcinogének. Ezek a vegyületek általában nem elektrofilek, a DNS-hez nem kötődnek, hanem a biotranszformációt követően hatnak. Ilyenkor a genetikai információ nem magában a DNS-ben, hanem az üzenet közvetítésében résztvevő láncolatban (hisztonfehérjék, repair enzimek, riboszómális enzimek, szupresszor fehérjék stb.) torzul, ami káros fehérjeszintézisben, végső soron szintén mutációban nyilvánul meg. Lehetséges epigenetikus mechanizmusok:

- a. - nukleinsav szintézis gátlás,
- b. - mitózis gátlás,
- c. - promóter hatás,
- d. - enzimszintézis befolyásolása,
- e. - hormonhatás módosítása,
- f. - immunszupresszor hatás.

3. *Nem osztályozott karcinogének*

Egyes szakkönyvek a fizikai, mások a kémiai rákkeltők közé sorolják a különböző porokat, rostokat és kristályokat, így az azbesztet, talkumot és a kvarcot. A porok, rostok és kristályok leginkább a tüdő szöveteiben és sejtjeiben fejtik ki hatásukat, ahol nem a klasszikus vegyi anyag-sejt kölcsönhatással indul az iniciáció, hanem a makrofágok esetleges aktiválásával, gyulladásokkal. Az azbesztózis és szilikózis talaján kialakult rák patomechanizmusa mind a mai napig sem teljesen feltárt.

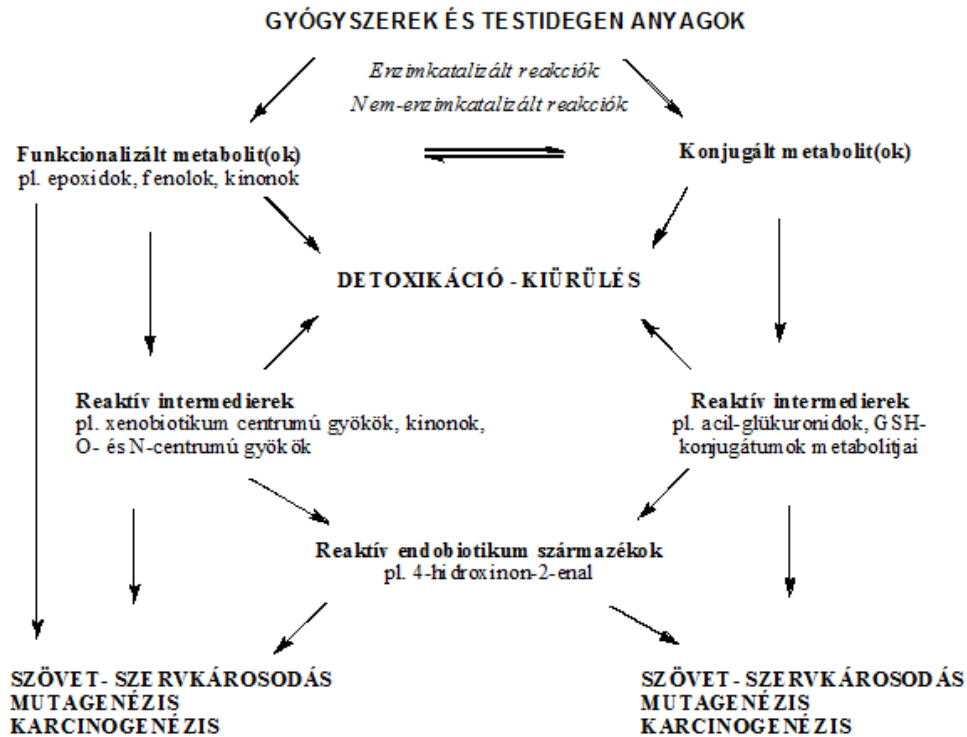
A génpolimorfizmus szerepe a daganatok kialakulásában

A mutációk kialakulásának kockázata bizonyos mértékig behatárolható. Ez attól függ, hogy az adott potenciális rákkeltő milyen mértékben metabolizálódik a szervezetben, milyen intenzitású és mennyire teljes a lebontása, kiválasztása. Ezeket a folyamatokat különböző gének kontrollálják, mégpedig egyéni és populációs szinten, a gének ún. *polimorfizmusai* alapján.

A környezeti karcinogéneket metabolizáló enzimek számos polimorfizmusa rizikófaktorként jelenik meg a humán karcinogenezisben. A testidegen anyagok szervezetben történő metabolikus átalakításában számos enzim vesz részt. Az

enzimaktivitások eredményeképpen a testidegen anyagok sokoldalú kémiai átalakulásban vehetnek részt. A keletkező metabolitok spontán vagy további enzimkatalizált reakciókban reaktív származékokká alakulhatnak, melyek képesek kémiaailag módosítani a szervezet makromolekuláit, többek között a DNS-t. A szervezetbe kerülő testidegen anyagok lehetséges átalakulásait a VIII-5. ábra mutatja be.

VIII-5. ábra: A szervezetbe kerülő testidegen anyagok lehetséges átalakulásai



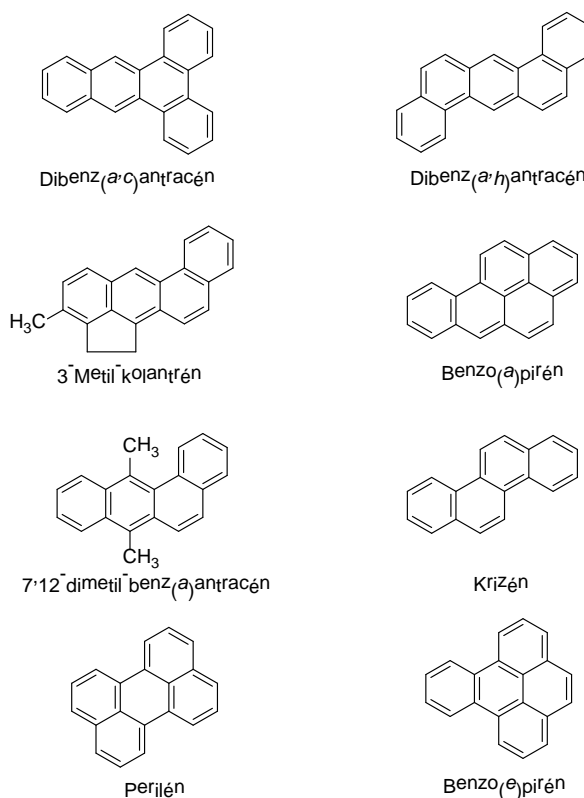
A testidegen anyagok metabolizmusában (Fázis I és Fázis II reakciók) számos géncsalád által kódolt enzim vesz részt. Ezek genetikailag kódolt (polimorfizmus) vagy szomatikus mutáció által megváltozott aktivitása befolyással bírhat a reaktív metabolitok képződésre. Példaként megemlíthetjük, hogy ha egy polimorfizmus, amely a rák kialakulásának kockázatát 50%-kal emeli és a populációban 50%-ban van jelen, 25%-ban lesz felelős valamennyi rákos eset kialakulásáért. A génpolimorfizmusok szerepének tisztázása és a szóba jöhető géncsaládok további megismerése a daganatetiológiai kutatások egyik legígéretesebb része, a kémiai karcinogenezis mechanizmusainak, és a kockázatbecslés pontosításának szempontjából.

VIII.5 A kémiai karcinogének különböző csoportjaiba tartozó testidegen anyagok szerkezete és metabolikus aktiválása

VIII.5.1 Policiklusos aromás szénhidrogének

A policiklusos aromás szénhidrogének (PAH) közé több mint 100 különböző vegyület tartozik. E vegyületek összekapcsolódó aromás gyűrűkből állnak, és nem tartalmaznak heteroatomot. Szerves anyagok – szén, olaj, szemét és egyéb szerves összetevők – tökéletlen égése következtében keletkeznek. Megtalálhatók a kőszénkátrányban, kőolajban, karbolsavban, tetőkátrányban, de néhányat felhasználnak a gyógyszer-, műanyag-, gyomirtószer-, és festékgyártásnál. A bőrre kerülve bőrrákot, a szubkután szövetekbe injektálva szarkómát, különböző szervekbe juttatva lokálisan alakítanak ki malignus daganatokat. Dohányzás során belélegezve többek között gége-, tüdő- és húgyhólyag-, az emésztőrendszerbe jutva nyelőcső- és gyomorrák kialakulását. Néhány policiklusos aromás szénhidrogén képletét a VIII-6. ábra mutatja be.

VIII-6. ábra: Néhány policiklusos aromás szénhidrogén szerkezete



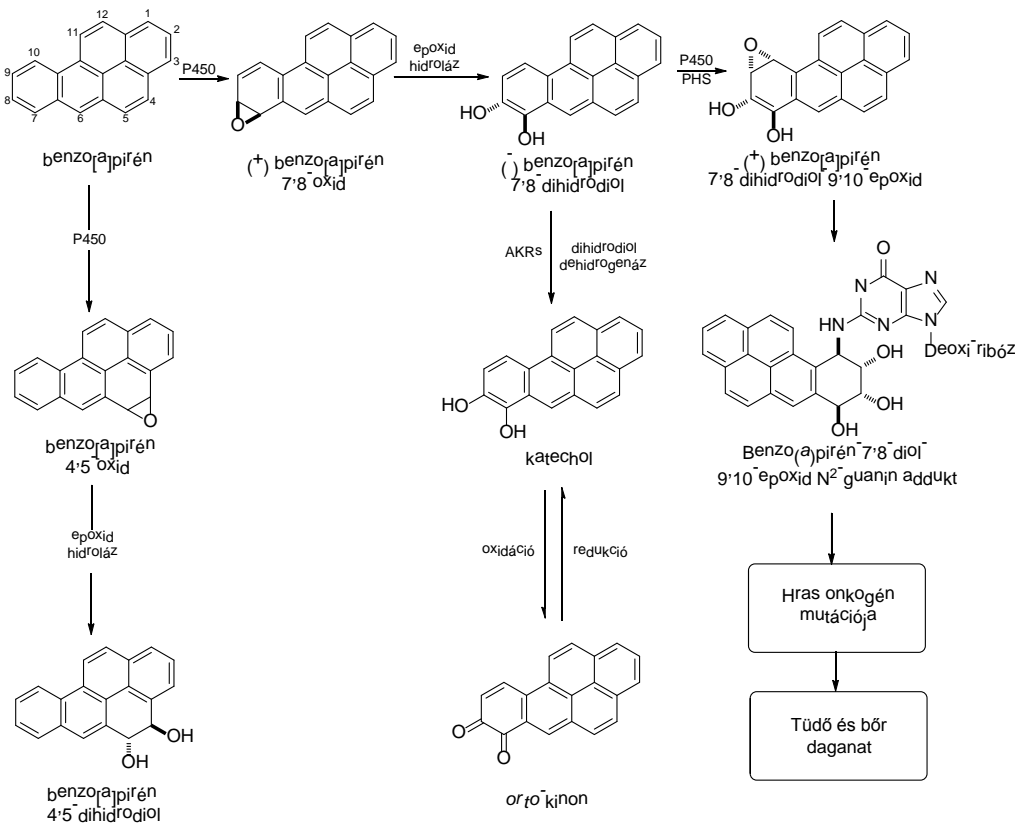
A PAH vegyületek a szervezetbe kerülhetnek szennyezett levegő (fatüzelés, dohányfüst, városi levegő) belélegzésével és a szennyezett táplálékkal vagy ivóvízzel. A dohányfüsttel szennyezett beltérekben is rendkívül magas PAH koncentráció alakulhat ki. Élelmiszerek közül különösen a füstölt, vagy megsütött ételekből, margarinokból, pörkölt kávéból, kolbászból, gabonákból, többször felhasznált étolajból, lisztből, tengeri ételekből, gyümölcsökből kerülhetnek a szervezetbe.

A dohányfüst közel négyezer komponenst tartalmaz, ezek közül számos komponens DNS károsító, azaz genotoxikus hatású. A főfüstből, amely a cigaretta

szájhoz közeli végén szippantás közben kiáramló füst, 69 ismert karcinogén vegyületet mutattak ki. A dohányfüstben lévő karcinogén vegyületek között vannak policiklusos aromás szénhidrogének (PAH-ok), heterociklusos szénhidrogének, illékony szénhidrogének, nitrovegyületek, aromás aminok, heterociklusos aminok, N-nitrózaminok, aldehidek, fenolok és szeretlen vegyületek (*Hoffmann* és mtsai., 2001; IARC, 2004). Ezek között a leggyakrabban vizsgált genotoxikus vegyületek a benzo[a]pirén, mely egyúttal a PAH-ok egyik főmodellvegyülete is, az N-nitrózaminok közül az N'-nitrózonornikotin (NNN) és a 4-(N-nitrózometilamino)-1-butanon (NNK), valamint az aromás aminok közül a 4-aminobifenil.

A policiklusos aromás szénhidrogének (pl. benzo[a]pirén, 7,12-dimetilbenzantracén) a ma ismert legpotensebb karcinogéneknek tekinthetők, *in vivo* metabolikus aktivációjuk szükséges. Metabolikus aktivációjukban a citokróm P450A enzimek vesznek részt. A policiklusos aromás szénhidrogének metabolizmusában aktívabban résztvevő CYP1A1 gén főleg a tüdőben expresszálódik, de indukció [pl. 3-metilkolantrén, 2,3,7,8-tetraklódibenzo-p-dioxin (TCDD), cigarettafüst komponensei] hatására a májban is kifejeződik. Gyógyszervegyületeket eddigi ismereteink szerint nem metabolizál. A CYP1A2 alapállapotban a májban is expresszálódik. Legfőbb szubsztrátjaik a policiklusos aromás szénhidrogének és a dohányfüst egyes komponensei. A CYP1A2 ezen kívül részt vesz a fenacetin, teofillin és koffein metabolizmusában is. A benzo[a]pirén CYP1A1 által katalizált metabolikus aktiválódását a VIII-7. ábra mutatja be.

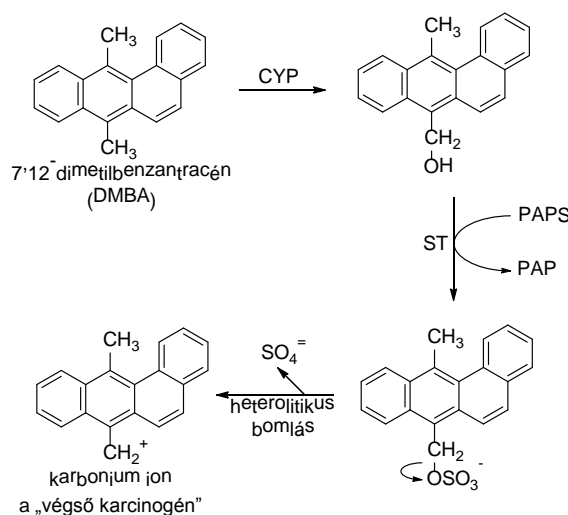
VIII-7. ábra: A benzo[a]pirén metabolikus aktiválása



A nukleinsavakkal szemben reaktivitást nem mutató benzo[a]pirén molekula három egymást követő lépésben alakul át a reakcióképes 7,8-diol-9,10-epoxid-származékká, ami a guanin bázis N2-atomjával kovalens adduktot képez. Néhány esetben a testidegen anyagok peroxidázok által katalizált oxidációjában a peroxid-oxigénatomok egyike közvetlenül a szubsztrát molekulába épül be (lásd III-26. ábra). E reakciók egyik példáját jelenti a benzo [a]pirén aktiváló metabolizmusának harmadik lépése, melyben a bizonyítottan karcinogén hatású 9,10-epoxid-származék képződik (VIII-7. ábra).

Némiképpen más reakcióutat követve aktiválódhat az ugyancsak a policiklusos aromás szénhidrogének közé tartozó 7,12-dimetilbenzantracén (VIII-8. ábra). A vegyület metabolizmusában a CYP1A1 izoenzim mellett részt vesz a CYP1B1 enzim is, melynek fő metabolitjai szintén a policiklusos aromás szénhidrogének. A CYP1B1 enzim a tüdőben, az emlőben, a vesében és a hólyagban. Rekombináns CYP1B1 dimetilbenzantracénnel szemben a CYP1A1 enzimmél nagyobb aktivitást mutatott.

VIII-8. ábra: A 7,12-dimetilbenzantracén metabolikus aktiválásának mechanizmusa.

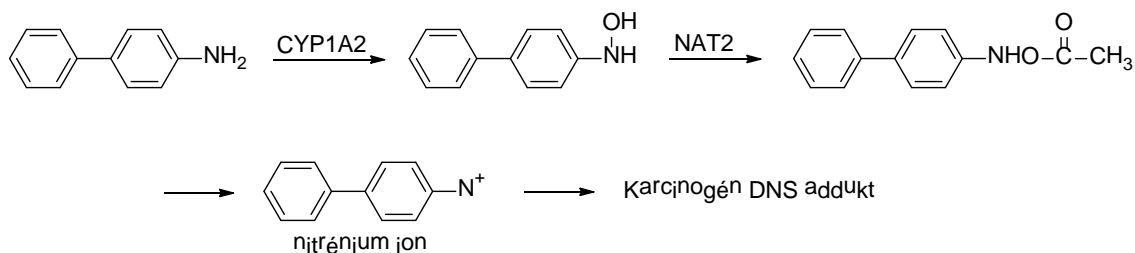


A 7,12-dimetilbenzantracén CYP enzimek által katalizált reakciójában keletkező benzilalkohol származék szulfotranszferáz-katalizált reakcióban szulfátésztert képez. A szulfátészterek nukleofil reagensekkel (pl. nukleinsavak N-atomjai) – az átmeneti termékként képződő benzilkationon keresztül – kovalens adduktokat képez.

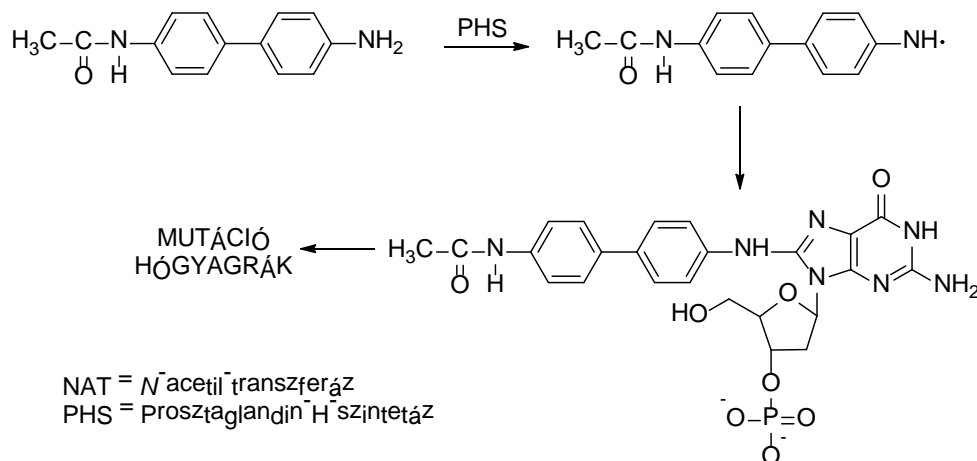
VIII.5.2 Aromás aminok

Az *aromás aminok* (pl. 2-naftilamin, *o*-toluidin, 4-aminobifenil, benzidin, stb) anilinfestékek, növényvédő szerek, és egyes műanyagok gyártása során szennyező rákkeltők. Máj-, hólyagtumorok kialakulásáért felelősek. Daganatkeltő hatásuk metabolikus aktiválásukhoz kötött.

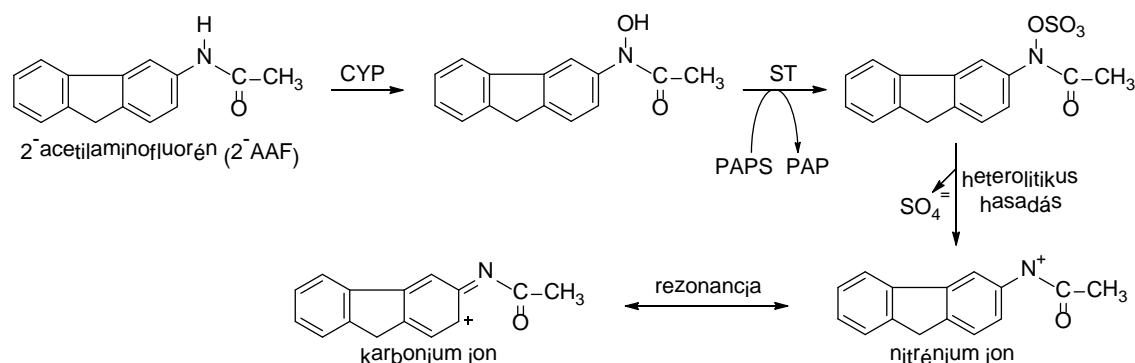
A *4-aminobifenil* aktiválásának első lépésében az aromás amino CYP1A2 katalizált reakciójában N-szubsztituált hidroxilamin képződik. A képződő hidroxilamin-származék tovább metabolizálódik és N-acetiltranszferáz(NAT)-katalizált reakcióban ecetsav észterévé alakul. A hidroxilamin-O-acetát elektrofil szénatomja nukleofil reaktánsok jelenlétében a megfelelő nitrénium-kationná alakul, ami igen erős elektrofil tulajdonságú reaktív metabolit és a nukleinsav bázisokkal adduktot képez (VIII-9. ábra).

VIII-9. ábra: A 4-aminobifenil aktiválásának molekuláris mechanizmusa.

Némiképpen más mechanizmus alapján képződik reaktív metabolit a kísérleti állatokban, több szervben is karcinogénnek bizonyult *benzidin* (4,4'-diaminobifenil), illetve a vegyület N-acetilszármazékának (*N-acetilbenzidin*) metabolizmusa során. A benzidin N-acetiltranszferáz(NAT1)-katalizált reakciója az N-acetilszármazékot eredményezi, ami a prosztaglandin-H-szintetáz (PHS) enzim által katalizált peroxid-kooxidációs reakcióban N-centrumú gyököt eredményez. A keletkező reaktív gyök a guanin C8 atomjával adduktot képez (VIII-10. ábra).

VIII-10. ábra: Az N-acetilbenzidin aktiválásának molekuláris mechanizmusa.

Az *acetilaminofluorén* – a szintén prokarcinogén 2-aminofluorén N-acetilszármazéka – patkányokban orális bevitelt követően daganatot okoz az emlőben, a májban, valamint a hallójáratban. Reaktív metabolittá történő konvertálásának első lépése a savamid nitrogén CYP1A enzimek által katalizált hidroxilációja, melyet a metabolit szulfát-konjugációja követ. A szulfát-konjugátum nukleofil reagensekkel történő reakciójában reakcióképes nitreniumion képződik. A nitreniumion két rezonancia határszerkezettel jellemezhető a pozitív töltésű reakciócentrum N-, illetve C3-atomokon történő lokalizációjával (VIII-11. ábra). Hasonlóképpen viselkedik az elsődlegesen képződő N-hidroxilszármazék acetylált és glükuronidszármazékai is.

VIII-11. ábra: A 2-acetilaminofluorén aktiválásának molekuláris mechanizmusa.

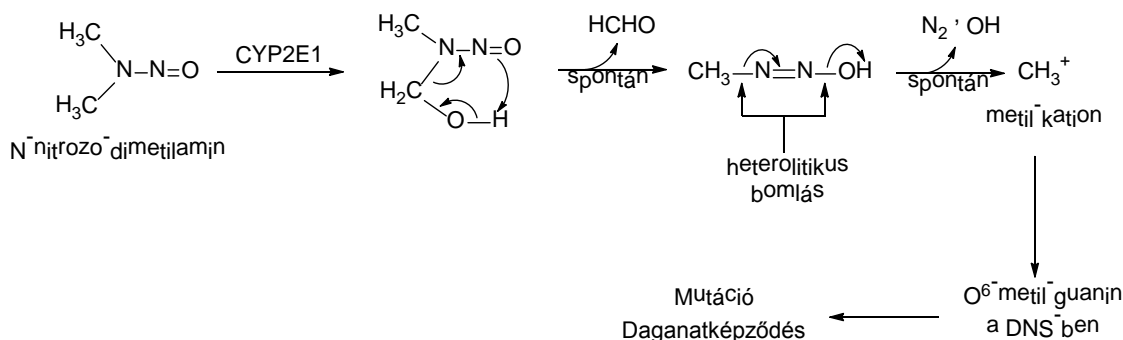
VIII.5.3 Nitrózaminok

A nitrózaminok igen erős, széles spektrumú kémiai karcinogének. Számos élelmiszerben előfordulnak, illetve a főzés közben keletkezhetnek. Az IARC állásfoglalása szerint összességében a nitrózaminok egyes vegyületei emberben bizonyítottan rákkeltőek, a többi vegyületet emberben valószínűleg illetve feltételezhetően rákkeltő kategóriába sorolta be.

Élelmiszerek közül a nátrium-nitrittel (mely nitrozáló reagens) tartósított termékek (húsok) tartalmazhatnak N-nitroso-vegyületeket. Az összes kezelt hús közül a szalonnában szinte mindig kimutathatók a nitrózaminok, elsősorban a nitroso-pirrolidin, de kisebb mértékben a nitroso-dimetilamin is. A különböző aminok, aminosavak és a fehérjék az élelmiszerekben nitrit jelenlétében nitrozaminná alakulhatnak magas hőmérséklet (sütés) hatására, így például pácolt/tartósított bacon sütésekor jó eséllyel keletkeznek.

A dohányfüstben lévő karcinogén anyagok között is megtalálható nitrózaminok. Ezek közül a leggyakrabban vizsgált vegyületek az N'-nitroso-nornikotin (NNN) és a 4-(metilnitrosoamino)-1-(3-piridil)-1-butanon (NNK). Az NNN és az NNK az IARC besorolás szerint emberben bizonyítottan rákkeltő vegyületek. Az NNN állatkísérletekben ivóvízhez adagolva nyelőcső karcinómát, papillómát, orrüregi- és légcsődaganatokat okoztak hörcsögökben, mindkét nem esetében. Élelemhez adagolva tüdőadenómát, légcsővi papillómát, orrüregi tumorokat indukált.

Az N-nitrozodimetilamin metabolikus aktiválásának mechanizmusát a VIII-12. ábra mutatja be. A metabolikus transzformáció első lépése a metil szénatom CYP2E1 enzim által katalizált hidroxilációja, melynek eredményeképpen képződő N,O-félacetál spontán bomlásának eredményeképpen formaldehid és N-nitrozometilamin képződik. Az instabil N-nitrozometilamin spontán reakcióban tovább bomlik és a reakció reaktív metilkation (CH_3^+) képződését eredményezi, ami a guanin bázis O^6 -atomját metilezi.

VIII-12. ábra: Az N-nitrozodimetilamin metabolikus aktiválásának mechanizmusa**VIII.5.4 Aflatoxinok**

Az aflatoxinok a természetben előforduló, rágcsálókra és emberekre egyaránt veszélyes rákkeltő (karcinogén) mikotoxinok (gombamérgek).

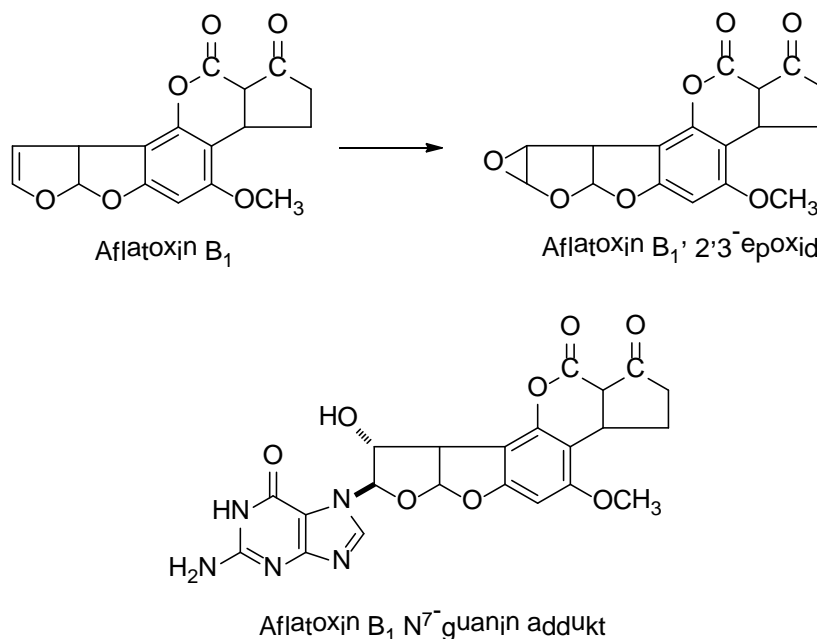
A mikotoxinok különböző penészgombák által termelt másodlagos anyagcseretermékek, amelyek a környezeti hatásokkal szemben igen rezisztensek. A szervezetben belül különféle szervekben akumulálódhatnak (vese, máj), valamint a sejtekre mérgező hatással vannak.

A magasabb rendű élőlényekre gyakorolt farmakológiai hatásaik alapján a mikotoxinokat az alábbi csoportokba sorolhatjuk:

- Rákkeltő (karcinogén) hatású mikotoxinok,
- Fejlődési rendellenességet okozó (teratogén) hatású mikotoxinok,
- Immunszuppresszív hatású mikotoxinok,
- Emésztési zavarokat, ételmérgezéseket okozó mikotoxinok,
- Idegrendszeri ártalmakat okozó mikotoxinok,
- Ösztrogén mimetikus hatású mikotoxinok és
- Dermatotoxikus hatású mikotoxinok

Az aflatoxinok az *Aspergillus flavus* penészgomba által termelt mikotoxinok. Az *Aspergillus flavus* egy gyakran előforduló penészgomba, amely magas páratartalom és magas hőmérséklet mellett terjed leginkább, és főként a földimogyorót és bizonyos gabonaféléket támadja meg. Az aflatoxinok legveszélyesebb, kis dózisokhoz kötött, hatása karcinogén és teratogén hatása. Legalább 13 különböző aflatoxint találhatunk a természetben, melyek közül az *aflatoxin B₁* számít a legmérgezőbbnek.

Metabolizációjuk (lebomlásuk) során az aflatoxinokból reaktív epoxidegyületek keletkeznek, amelyek ún. végső („ultimate”) karcinogének; elsősorban ezek felelősek hepatokarcinogén okozó hatásukért. Az aflatoxin-B₁ CYP3A4-katalizált reakcióban exo 2,3-epoxidszármazékká oxidálódik és a keletkező epoxid nagy affinitással kötődik a nukleinsavak guanin bázisának N7 atomjához. Az aflatoxin B₁ metabolikus aktiválásának mechanizmusát a VIII-13. ábra mutatja be.

VIII-13. ábra: Az aflatoxin B₁ metabolikus aktiválásának mechanizmusa**VIII.5.5 Szerkezetükben egymással együtt nem csoportosítható vegyületek, közöttük:****VIII.5.5.1 Szervetlen vegyületek: pl. arzén, berillium, kadmium, króm, nikkell, stb. vegyületei.**

A fémionok elsősorban oxidatív károsodást okozva rákkeltőek, de epigenetikus változásokat is okozhatnak a DNS-metiláció fokozásával, redox-potenciál megváltoztatásával (króm), keresztkötéseket létrehozva a DNS és a fehérjék között, vagy receptor kötődéssel, de a DNS hibajavító („*repair*”) mechanizmusa is károsodást szenvedhet.

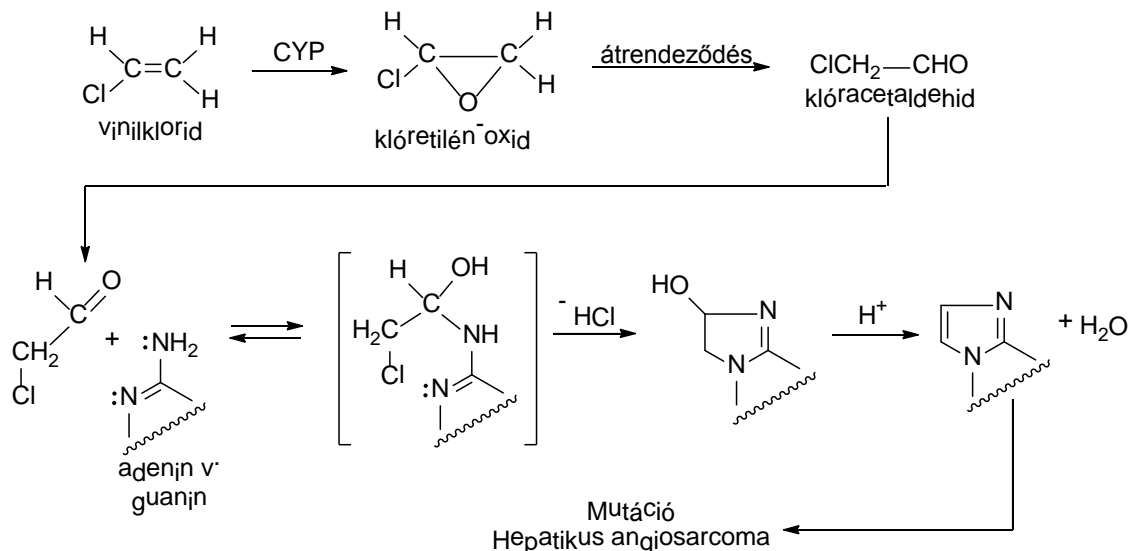
VIII.5.5.2 Szerves szintetikus vegyületek: pl. etilénoxid, vinilklorid, mustárgáz-származékok, egyes növényvédő szerek, egyes gyógyszerek, stb.**VIII.5.5.1. Etilénoxid**

Az etilén-oxid a többi epoxidvegyülethez hasonlóan direkt módon alkilező anyag. Nagy reaktivitásának köszönhetően a sejtek makromolekuláival – nukleinsavakkal és fehérjékkel – adduktokat képez. Az etilénoxid alkilezni képes egyes fehérjék (pl. hemoglobin) aminosav oldalláncait, valamint a DNS bázisait (purinbázisok) és foszfát csoportjait. A módosulás elsősorban az N-7-guanin N7 nitrogénatomján következik be N-7-alkil(hidroxietyl)guanin képződésével. Emellett a módosult bázisokra specifikus N-glikozilázok működése is hozzájárul a purin bázis hiányos helyek számának emelkedéséhez.

VIII.5.5.2 Vinilklorid

A vinilklorid, a poli-vinilklorid (PVC) monomerje, először állatokban bizonyult karcinogénnek. Később kimutatták, hogy emberben ritkán a májban előforduló hemangioszarkóma gyakoribb kialakulásáért felelős. A vinilklorid prokarcinogén tulajdonságú vegyület, melynek CYP enzimek által katalizált metabolikus aktiválását a VIII-14. ábra mutatja be.

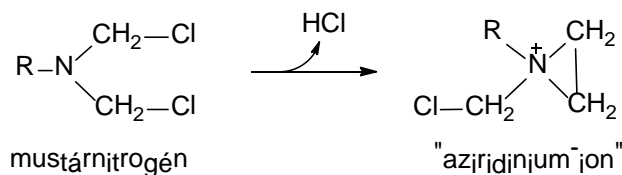
VIII-14. ábra: A vinilklorid metabolikus átalakulásának molekuláris mechanizmusa



A vinilklorid reaktív metabolitja a klóracetaldehid, ami az elsődlegesen CYP enzimek által katalizált reakcióban képződő epoxid (klórszubsztituált etilénoxid) spontán átrendeződési reakciójában keletkezik.

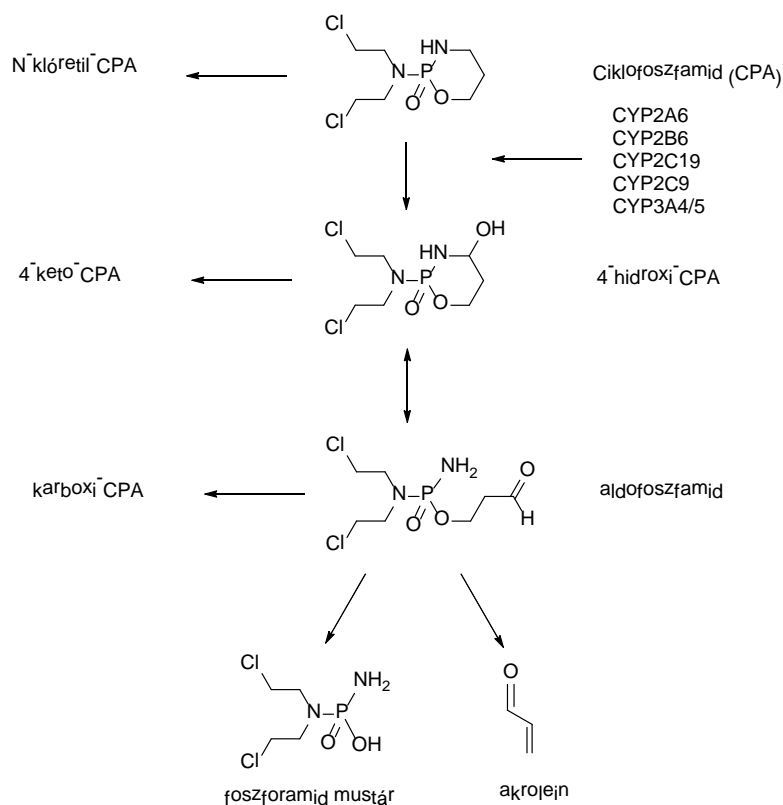
VIII.5.5.3 Mustárnitrogének

A daganatellenes hatású gyógyszerek legrégebbi, a mai napig egyik legjelentősebb csoportját azok a vegyületek alkotják, melyek a DNS-t felépítő heterociklusos bázisokkal kovalens kötést hoznak létre. Már a múlt század első harmadában megfigyelték, hogy az alkilezőszerek kromoszóma-károsodást okoznak. A harmincas évek végén kimutatták, hogy a harci gáznak kifejlesztett β,β -diklórdietilszulfid (*mustárgáz*) sejtproliferáció gátló hatású. Daganatellenes szerként azonban a vegyület nem jöhetett számításba a daganat- és egészséges sejtek közötti igen kis szelektivitása miatt. További kutatások azt igazolták, hogy a kénatom NH-ra történő cseréje a szelektivitást igen jelentős mértékben megnöveli. A β,β -diklórdietilamin (VIII-15. ábra, R = H) azzal az előnnyel is rendelkezik, hogy az NH-csoport hidrogén atomja legkülönbözőbb csoportokkal helyettesíthető, így tetszőleges számú származék készíthető el. Elsőként az N-metil- β,β -diklórdietilamint (VIII-15. ábra, R = CH₃) vezették be a gyógyászatba. A vegyületek végző reaktív formája a β -klóretil-szubsztituensnek a nukleofil N-atommal lejátszódó reakciójában képződő aziridínium kation (VIII-15. ábra)

VIII-15. ábra: A mustárnitrogének aktiválásának molekuláris mechanizmusa**VIII.5.5.4 Ciklofoszfamid**

A ciklofoszfamid az oxazafosforinok csoportjába tartozó citosztatikum, kémiai szerkezete alapján a mustárnitrogénekhez tartozik. A vegyület mind férfiakban, mind nőkben genetikai rendellenességet okozhat. Alkalmazása során a dózistól függően különböző fokú mielosuppressio, leukocytopenia, thrombocytopenia és anaemia léphet fel. Mint általában a citosztatikus kezeléseknél, a ciklofoszfamid alkalmazásánál is fennáll a veszély, hogy utóhatásként másodlagos tumorok keletkeznek. Fokozza a húgyúti rák, valamint az esetenként akut leukémia kialakulásáig fajuló mielodysplasiás elváltozások kockázatát.

A bioaktiváció az alapja a ciklofoszfamid tumorelles és karcinogén hatásainak is. A ciklofoszfamid aktiválásának molekuláris mechanizmusát a VIII-16. ábra mutatja be.

VIII-16. ábra: A ciklofoszfamid metabolikus aktiválásának molekuláris mechanizmusa

A vegyület bár tartalmazza a β,β -diklórdietilamino molekularészt, az intakt molekula gyakorlatilag hatástalan. Hatásának alapja, hogy, a májban, elsősorban a CYP2B6, 2C9 és 3A4 enzimek által katalizált reakciókban 4-hidroxiciklofoszfamiddá oxidálódik. A keletkező 4-hidroxiciklofoszfamid és a nyíltláncú aldofoszfamid tautomer

egyensúlyt képez és képes a májsejtekből kidiffundálva más szervek, szövetek sejtjeibe is eljutni. Az aldofoszfamid – nukleofil reaktánsok által katalizált reakcióban – akroleinre és foszforamid-mustárra hidrolizál. A foszforamid-mustár – a mustárnitrogének aktiválása molekuláris mechanizmusának megfelelően – a megfelelő aziridínium-ionná alakul. A ciklofoszfamid citosztikus hatása alkiláló metabolitjai és a DNS kölcsönhatásán alapszik. Az alkilálás a DNS-láncok töredezését és összekapcsolódását valamint a DNS-proteinekben keresztkötések kialakulását okozza. Megemlítendő, hogy a ciklofoszfamid-terápia leggyakoribb dózis-függő mellékhatása a vérzéses hólyaggyulladás kialakulásáért az akrolein metabolit tehető felelőssé.

VIII.5.5.3 Szerves természetes vegyületek: pl. egyes gombák hidrazinjai, egyes növényi alkaloidák, stb.

VIII.5.5.3.1 Gombák hidrazinjai

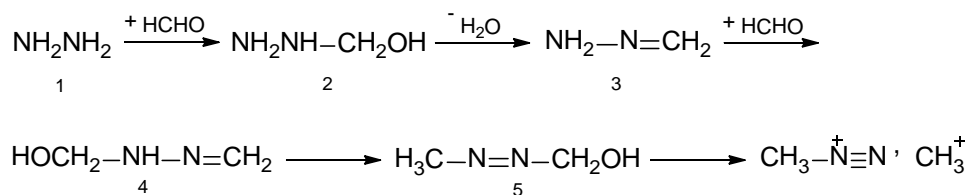
A nyersen fogyasztható gombák száma meglehetősen kevés. Még a kevés, nyersen is biztonságosan fogyasztható gombák, mint pl. a csiperkefélék családjához tartozó *Agaricus bisporus* is rendelkezik nemkívánt mellékhatásokkal. A csiperkefélék és más ehető gombákban különböző hidrazinszármazékok találhatók, melyek potenciális karcinogén származékok. A vegyületek legnagyobb része hőre bomlik, így a megfelelő főzési technológiák eredményeképpen illékony metabolitokká alakulnak. A toxikus hidrazinokban leggazdagabb redős papsapbagomba (*Gyromitra esculenta*) latin neve bár ehetőt jelent, különösen nyersen fogyasztva, súlyos mérgezést okoz.

A papsapbagomba toxikus anyagai az N-metil-N-formilhidrazon, valamint az N'-ethylidene-N-methylformohydrazide (*giromitrin*). Mindkét vegyület könnyen N-metilhidrazinná hidrolizál. Az N-metilhidrazin piridoxál-5-foszfáttal hidrazont képez, ami - a glutaminsav-dekarboxiláz enzimaktivitás csökkentésének eredményeképpen - gátolja a neurotranszmitter gamma-aminovajsav (GABA) szintézisét és így neurológiai problémákat okoz.

A giromitrin a diamin-oxidáz enzim gátlásának eredményeképpen megnöveli a hisztamin-szintet, aminek eredményeként fejfájás, szédülés, hányinger és hasi fájdalmak jelentkeznek.

A gomba rendszeres fogyasztása megnöveli a májdaganatok kialakulásának gyakoriságát, ami az N-metilhidrazin metabolikus aktiválásával kapcsolatos. A hidrazin és a hidrazinszármazékok (pl. metilhidrazin, 1,1-dimetilhidrazin, 1,2-dimetilhidrazin) oxidatív metabolizmusában mind a CYP mind az MNO enzimek részvétele igazolódott. A reaktív intermedierek (metilkation és metildiazónium ion) képződésének egy reakcióútját a VIII-17. ábra mutatja be.

VIII-17. ábra: A hidrazin metabolikus aktiválásának molekuláris mechanizmusa



VIII.5.6 Azbeszt, kvarc, talkum

VIII.5.6.1 Azbeszt

Azbesztnak nevezzük a szálagos szerkezetű természetes szilikátokat (krocidolit, amozit, tremolit, krizotil, antofillit, és aktinolit). A hosszan tartó azbeszt kitettség növeli a tüdőbetegségek kialakulásának kockázatát. Ezt a kockázatot súlyosbítja a dohányzás. Elsősorban a levegőből belélegezve jut szervezetünkbe. Az 5 µm -nél rövidebb szálak a legveszélyesebbek. Az apróbb azbeszt szálak egész mélyre jutnak a tüdőbe, ahol fennakadhatnak. A bekerült lebonthatatlan azbeszt betokozódik és kóros elváltozások kialakulását idézheti elő, több éves lappangási idővel.

A következő három súlyos betegségért tehető felelőssé:

Azbesztózis: súlyos, progresszív, hosszú távú, nem daganatos betegség a tüdőben. Ennek oka, hogy a belélegzett azbesztszálak irritálják a tüdőt és szöveti hegeket okoznak. A szilikózishoz hasonlóan a tüdőben a kötőhártya túlbujánzását jelenti. A hegesedés megnehezíti az oxigén vérbe jutását.

Tüdőrák: Az azbeszttel kapcsolatos legtöbb halálesetért felelős. Azok az emberek, akik bányászak, vagy az azbeszt gyártásában rész vesznek, ill. használják az azbeszt termékeket, azoknál nagyobb valószínűséggel alakul ki tüdőrák, mint a lakosság körében.

Mesothelioma: A rák egy igen ritka formája, amely a tüdő, a mellkas, a has és a szív vékony hártáján fordul elő, és szinte minden esetben kapcsolódik azbeszt kitettséghez.

VIII.5.6.2 Kvarc

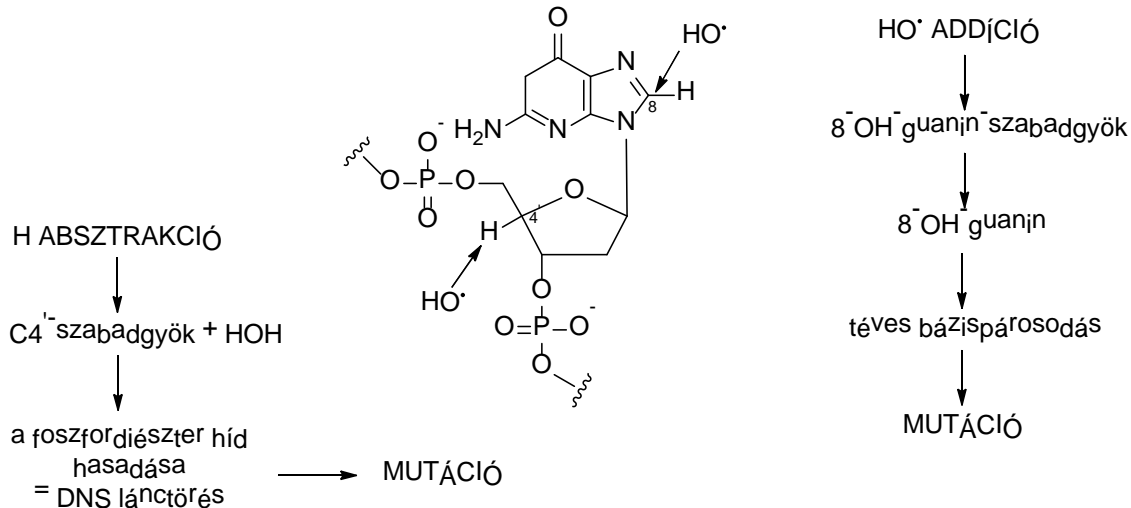
A földkéregnek körülbelül negyedrésze szilíciumból áll. A szilícium egyszerű vegyületei közül rendkívül elterjedt a *szilíciumdioxid* (kvarc) egyrészt, mint homok, másrészt, mint a gránitnak s számos más kőzetnek az alkotórésze. A szilíciumdioxidból, ill. a kovasavakból (H_4SiO_4 , H_2SiO_3) származtatható le a többi szilikátok legnagyobb része is.

A szilikózisos tüdőelváltozás kórokozója a léggéssel a szervezetbe kerülő, kristályos szabad kovasavat (többnyire kvarc) tartalmazó por. A belélegzést követően a szilíciumpor a tüdőbe kerül, ahol ún. makrofágok, bekebelezik. A makrofágokból felszabaduló enzimek a tüdőszövet hegesedését okozzák. A hegesedett részek először apró kerek göbök (egyszerű csomós szilikózis), később azonban hatalmas masszává növekedhetnek (szilikózisos tömeg). Ezek a hegesedett részek nem tudnak oxigént szállítani a vérbe. A tüdő rugalmatlanná válik, és a légzés nagyobb erő kifejtést igényel.

Jelenlegi ismeretink szerint a tüdőszövetben deponálódó kvarc okozta gyulladásnak fontos szerepe van abban a kórfolyamatban, amely az exponált tüdőben rák kialakulásához vezet. A kvarc által okozott gyulladást *in vivo* valószínűleg a makrofágokból és hámsejtekből felszabaduló citokinek irányítják, oxidatív stresszel kapcsolatos folyamatok útján. Magával a kvarccal kapcsolatos gyökökből és a gyulladási leukocitákból származó oxidatív stressz megfigyelhető a kvarcexponált tüdőben. A kísérletek szerint a kvarc-indukált gyulladással sejtekből származó reaktív oxigén típusok (ROS) képesek mutációkat okozni a tüdőhámsejtekben, ezen kívül 8-OH-dezoxiguanozin-adduktok mutathatók ki exponált tüdőben. Ezek a DNS-változások

valószínűleg kulcsszerepet játszanak a hámszövetekben meginduló karcinogenezis folyamatában. A hidroxilgyökök DNS-károsító és mutagén hatásáért felelős reakciókat és a reakciók által inicializált folyamatokat a VIII-18. ábra mutatja be.

VIII-18. ábra: A hidroxilgyökök DNS-károsító és mutagén hatásainak támadáspontjai



Az aktivált oxigén expozíciója következtében sejtkárosodás alakulhat ki. Különösen elhúzódó gyulladások kapcsán a makrofágok és a fehérvérsejtek tevékenysége során szabadulhatnak fel nagy mennyiségben reaktív oxigénszarmazékok (ROS). A krónikus gyulladások különösen a tüdőben (dohányzás, porártalom, azbeszt, radon), a vastagbélben, gyomorban és a bőrben fokozzák a tumor kialakulásának esélyét.

A reaktív gyökök képesek bázispár-mutációkat vagy pontmutációkat okozni. A reaktív oxigéngyökök DNS-törést okoznak az endonukleázok aktiválásával, amivel megzavarják a kromatin szerveződését. A hisztonok poly-ADP-ribozilációjának fokozásával a kromatin tovább bomlik, így a reaktív oxigénszarmazékok nem csupán a genetikai állományt károsíthatják, hanem a génátíródást a génexpressziót is a citoplazma szintjén. Ezek a biokémiai folyamatok nem közvetlenül a DNS-molekulára hatnak, ezért epigenetikus hatásokról beszélünk. A szabad gyökök szerepet játszanak a sejt fizikai vagy hő hatására kialakuló stresszes állapotában is a stressz-gének indukciója révén. Indukálják a hemoxigenáz, a glutation S-transzferáz és számos foszfor-regulált gént. Az epigenetikus mechanizmus másik lehetséges útja a kalcium-anyagcsere megzavarása, ami a DNS-t körülvevő fehérjék stabilitását csökkenti.

VIII.6 Kérdések, feladatok.

1. Jellemezze a sejtosztódás interfázis szakaszát!
2. Jellemezze a sejtosztódás mitózis szakaszát!
3. Sorolja fel és jellemezze a sejtosztódás ellenőrzőpontjait!
4. Néhány példa felsorolásával, jellemezze a protoonkogéneket!
5. Néhány példa felsorolásával, jellemezze a tumor szupresszor géneket!
6. Jellemezze a környezeti karcinogének három csoportját!
7. Jellemezze a testidegen anyagok humán karcinogén hatásuk alapján történő (IARC) besorolásának négy csoportját.

8. Soroljon fel legalább öt bizonyítottan humán karcinogén gyógyszer hatóanyagot!
9. Néhány példa felsorolásával, sorolja fel a daganatkeltő anyagok hat szerkezeti csoportját!
10. Jellemezze az ultraibolya (UV) sugárzás daganatkeltő tartományát!
11. Soroljon fel legalább három biológiai karcinogént!
12. Néhány példa felsorolásával, sorolja fel a karcinogenezis promóciós szakaszában aktív vegyületek csoportjait.
13. Néhány példa felsorolásával, jellemezze a genotoxikus karcinogéneket!
14. Jellemezze a 7,12-dimetilbenzantracén metabolikus aktiválásán alapuló karcinogén hatását!
15. Jellemezze a 4-aminobifenil metabolikus aktiválásán alapuló karcinogén hatását!
16. Jellemezze az aflatoxin B₁ metabolikus aktiválásán alapuló karcinogén hatását!
17. Jellemezze a vinilklorid metabolikus aktiválásán alapuló karcinogén hatását!
18. Jellemezze a ciklofoszfamid metabolikus aktiválásán alapuló karcinogén hatását!
19. Jellemezze a hidrazin metabolikus aktiválásán alapuló karcinogén hatását!
20. Jellemezze a hidroxilgyökök karcinogén hatásának molekuláris mechanizmusát!

Felhasznált irodalom

Molecular and Biochemical Toxicology. Fourth Edition. (Editors: Robert C. Smart and Ernest Hodgson). John Wiley and Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2008.

Casarett and Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons. Seventh Edition. (Editor: Curtis D. Klaassen). McGraw-Hill Companies, Inc., New York, NY, 2008.

Holland-Frei Cancer Medicine. Eighth Edition. (Editors: Waun Ki Hong, Robert C. Bast, Jr., William N. Hait, Donald W. Kufe, Raphael E. Pollock, Ralph R. Weichselbaum, James F. Holland and Emil Frei III) People's Medical Publishing House-USA, Shelton, CT, 2010.

Kiss István: Toxikológia. Veszprémi Egyetemi Kiadó. Veszprém, 1997.

Gyógyszerészi Kémia (Szerkesztők: Fülöp Ferenc, Noszál Béla, Szász György, Takácsné Novák Krisztina) Semmelweis Kiadó, Budapest, 2010.

PTE AOK Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet, Oktatási anyagok. Gregus Zoltán: Toxikológia. Pécs, 2013.

Népegészségügyi Orvostan (Szerkesztők: Ember István, Kiss István, Cseh Károly), Dialog Campus Kiadó, Budapest, 2013.

Gundy Sarolta: Kémiai és fizikai tényezők szerepe a daganatok kialakulásában. Magyar Onkológia (2006) 50: 5-18.

Perjési Pál: Biotranszformáció és gyógyszertoxicitás II. A troglitazon toxicitás. Gyógyszerészet (2004) 48: 1-8.

Perjési Pál: Biotranszformáció és gyógyszertoxicitás III. A nem-szteroid gyulladáscsökkentő szerek toxicitása. A diclofenac hepatotoxicitás. Gyógyszerészet (2005) 49: 1-9.

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszecsenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.