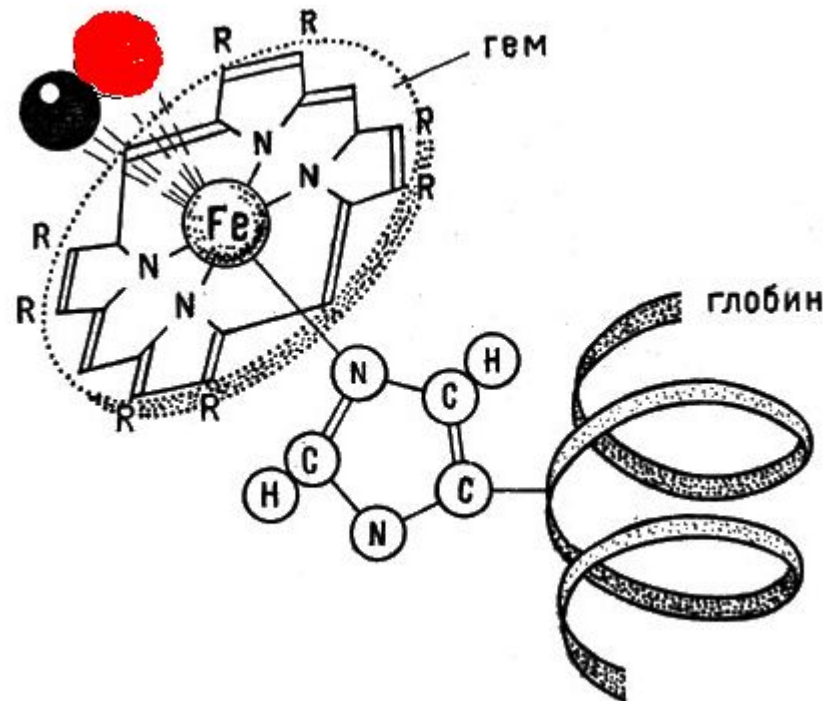


Механизмы токсического действия ядов

МЕХАНИЗМЫ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

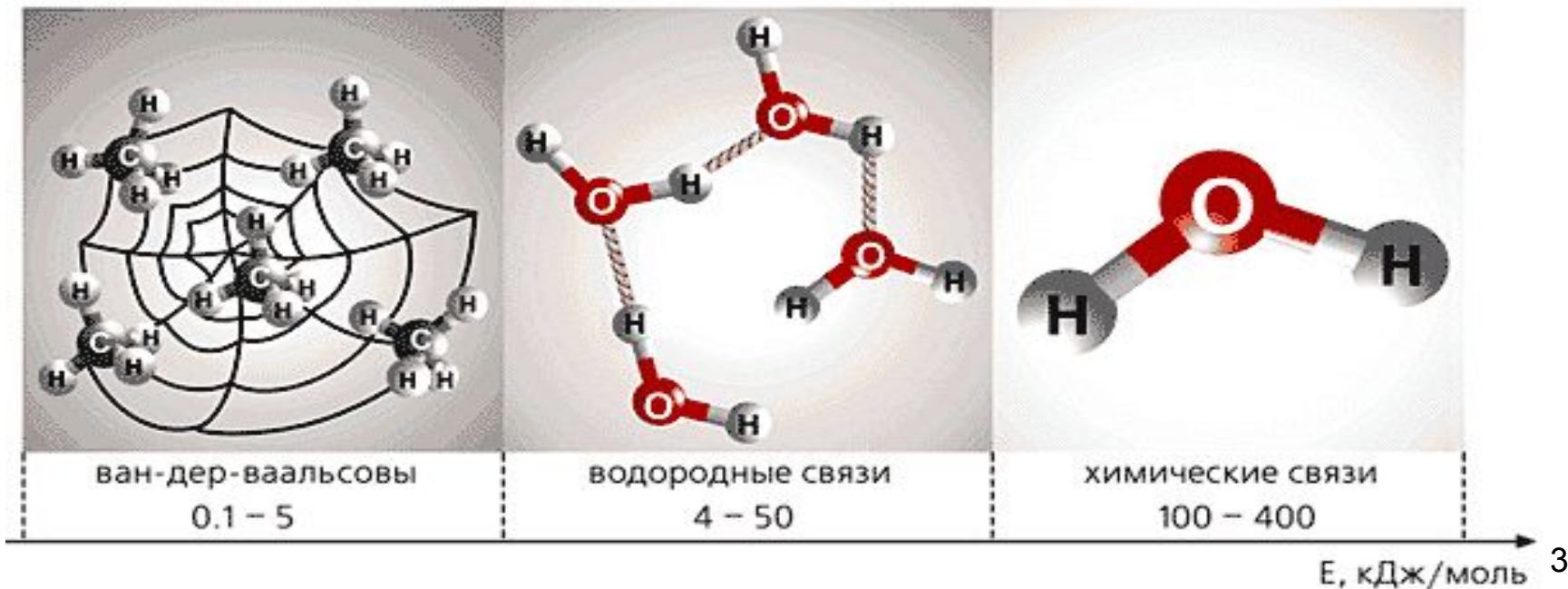
Взаимодействие токсиканта или продуктов его превращения в организме со структурными элементами биосистем, лежащее в основе развивающегося токсического процесса, называется **механизмом токсического действия**.

Структурный компонент биологической системы, с которым вступает в химическое взаимодействие токсикант, называется его **"рецептором"** или **"мишенью"**.



В токсикологии (как и фармакологии) термином **"рецептор"** обозначают любой структурный элемент живой (биологической) системы, с которым вступает в химическое взаимодействие токсикант (лекарство). В таком прочтении это понятие ввел в химеобиологию в начале XX века Пауль Эрлих (1913).

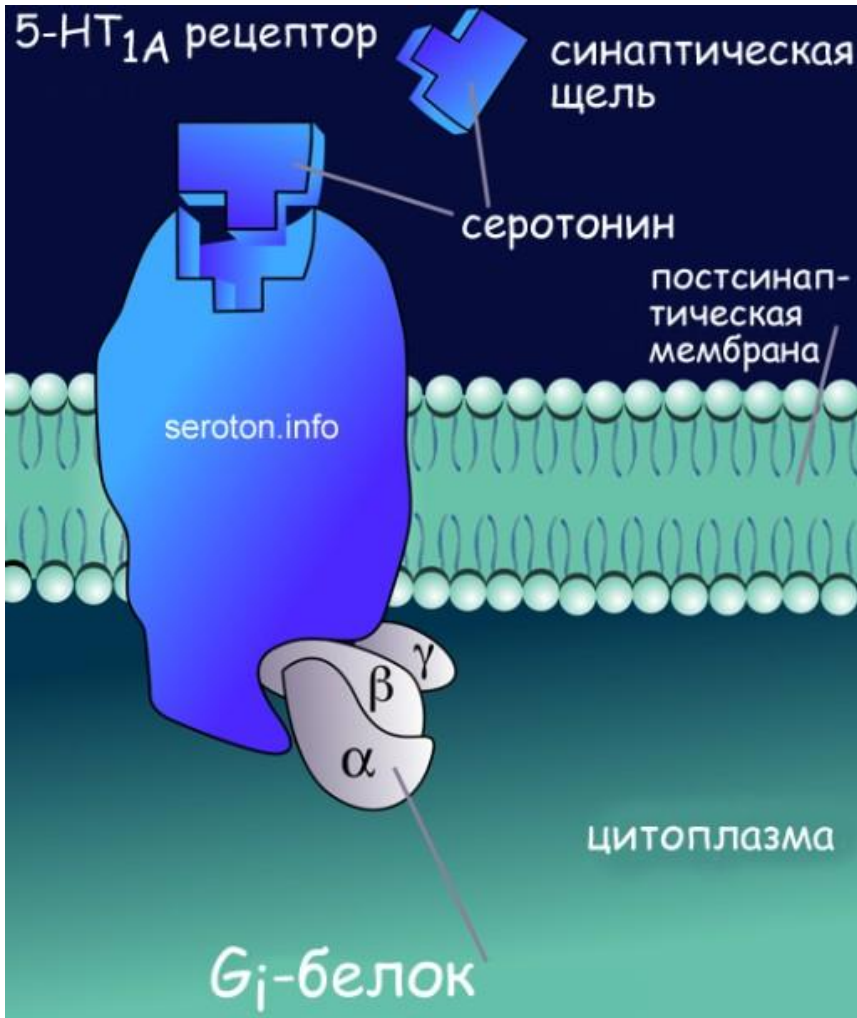
Спектр энергетических характеристик рецептор-лигандного взаимодействия необыкновенно широк: от формирования слабых, легко разрушающихся связей, до образования необратимых комплексов.



I. Виды рецепторов в токсикологии

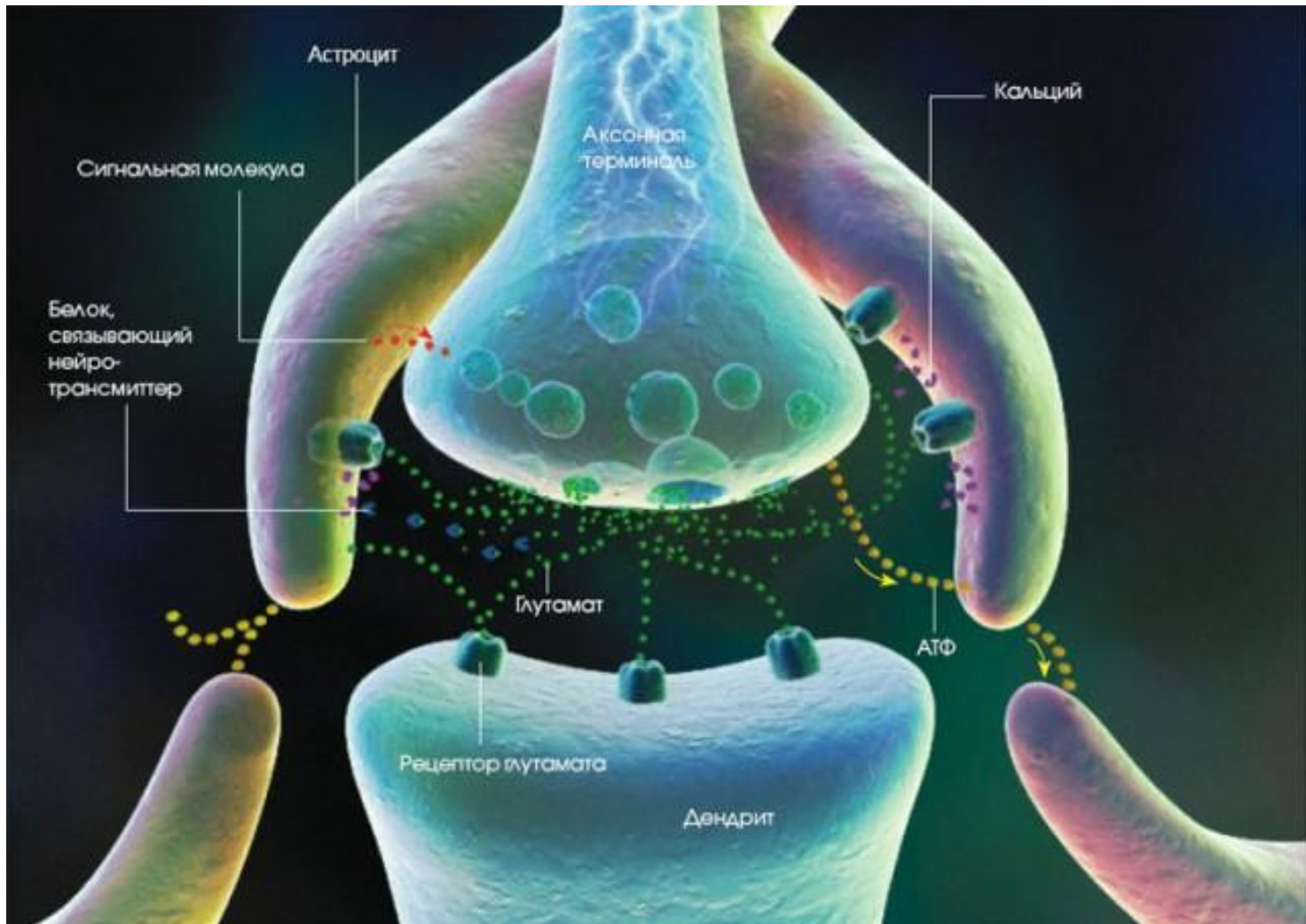
1. **Общие рецепторы** - это участки относительно специфического связывания на биосубстрате ксенобиотиков (или эндогенных молекул), при условии, что процесс связывания подчиняется закону действующих масс. В качестве рецепторов могут выступать целые молекулы белков, нуклеиновых кислот, полисахаридов, липидов или их фрагменты.



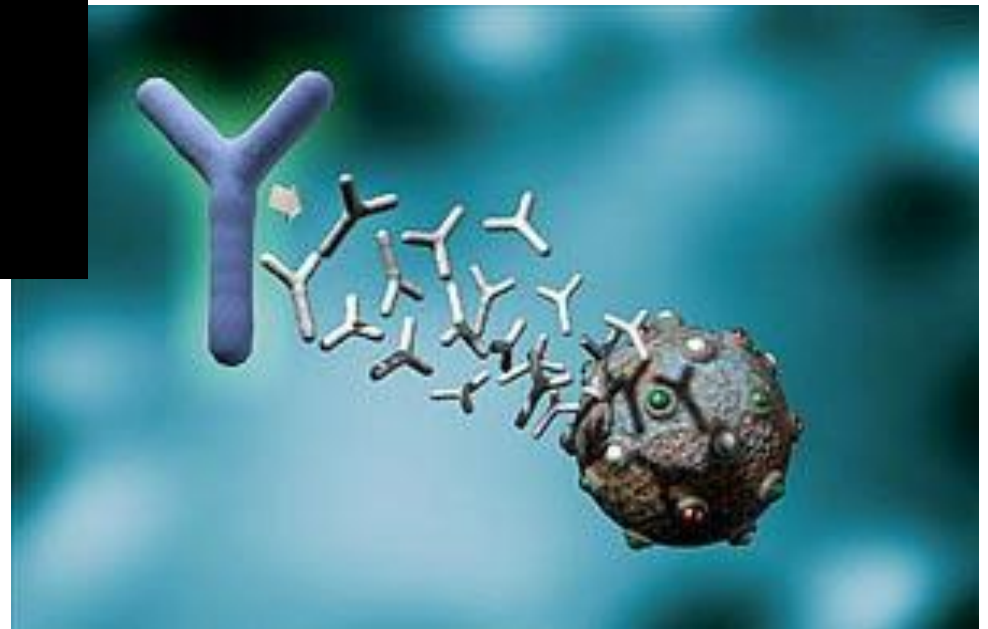
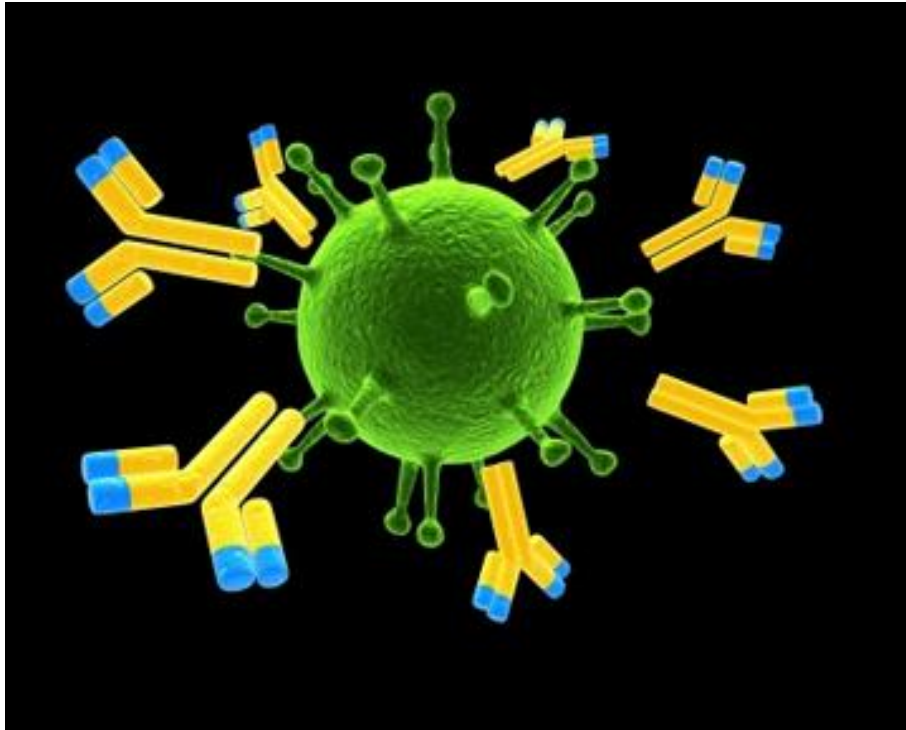


2. Селективные рецепторы - участки биологических систем, обладающие наивысшим сродством к отдельным специальным биорегуляторам. По мере эволюционного усложнения организмов формируются специальные молекулярные комплексы - элементы биологических систем, обладающие высоким сродством к отдельным химическим веществам, выполняющим функции биорегуляторов (гормоны, нейромедиаторы и т.д.), получили название "селективные рецепторы".

3. Постоянные рецепторы - это селективные рецепторы, строение и свойства которых кодируется с помощью специальных генов или постоянных генных комплексов. Рецепторы нейромедиаторов, гормонов и белков переносчиков.

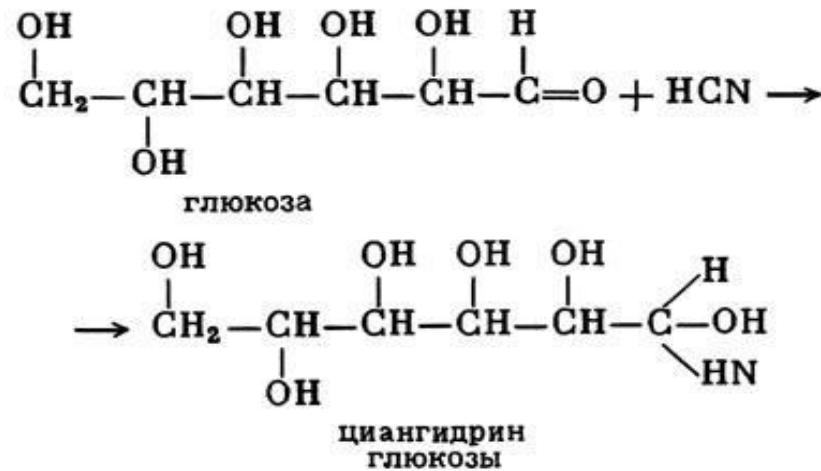


4. Рецепторы с изменяющейся структурой - в основном это антитела.



Рецепторы могут быть "немыми" и активными.

"Немой" рецептор - структурный компонент биологической системы, взаимодействие которого с веществом не приводит к формированию ответной реакции (например, связывание мышьяка белками, входящими в состав волос, ногтей).



Активный рецептор - структурный компонент биологической системы, взаимодействие которого с токсикантом инициирует токсический процесс.

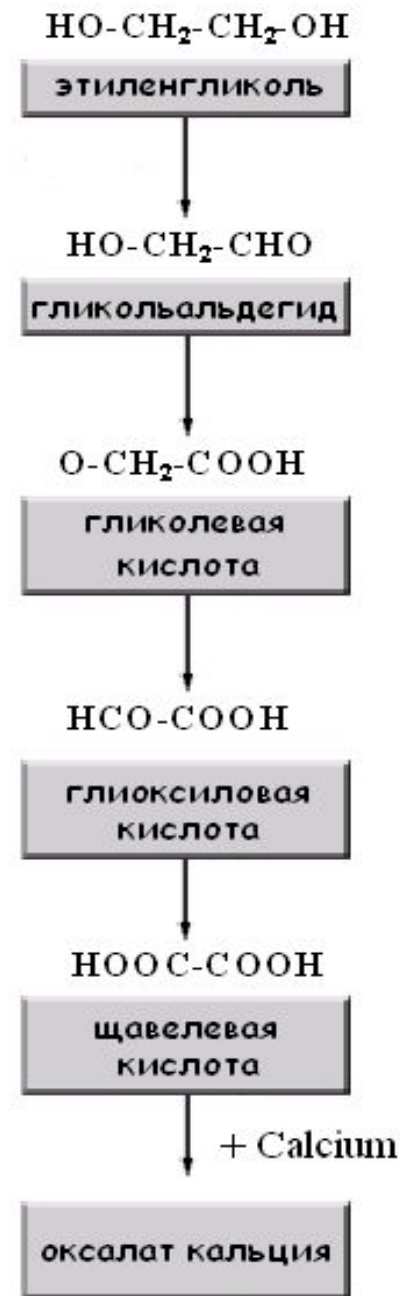
В токсикологии по отношению к рецепторам принимаются постулаты:

- токсическое действие вещества выражено тем сильнее, чем большее количество активных рецепторов (структур-мишеней) вступило во взаимодействие с токсикантом**
- токсичность вещества тем выше, чем меньше его количество связывается с "немыми" рецепторами, чем эффективнее оно действует на активный рецептор (структуру-мишень), чем большее значение имеет рецептор и повреждаемая биологическая система для поддержания гомеостаза целостного организма**
- увеличение концентрации лиганда в биосистеме приводит к расширению спектра типов рецепторов, с которыми он вступает во взаимодействие, а следовательно, изменению его биологической активности**

II. Действие токсикантов на межклеточное пространство и структурные элементы клетки

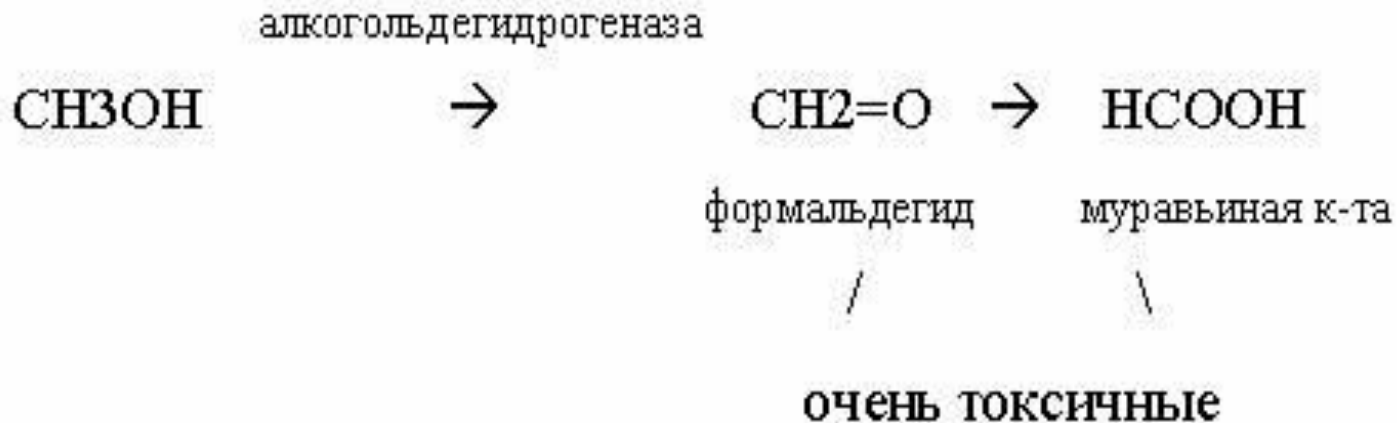
1. Электролитные эффекты.

Нарушение электролитного состава наблюдается при отравлении веществами, способными связывать ионы. Так, при интоксикациях фторидами (F⁻), некоторыми комплексообразователями (Na₂ЭДТА и др.), этиленгликолем, метаболизирующим с образованием щавелевой кислоты, происходит связывание ионов кальция в крови и межклеточной жидкости, развивается острая гипокальциемия, сопровождающаяся нарушениями нервной деятельности, мышечного тонуса, свертывающей системы крови и т.д. Нарушение ионного баланса, в ряде случаев, может быть устранено введением в организм растворов электролитов.



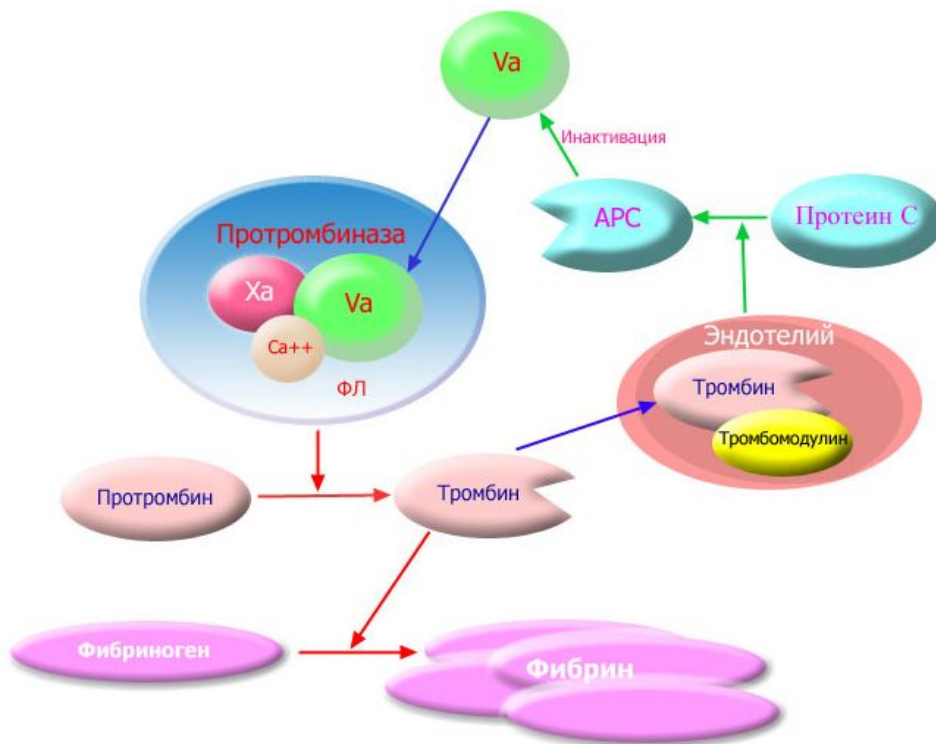
2. pH-эффекты.

Интоксикация рядом веществ, не смотря на высокую буферную емкость межклеточной жидкости, может сопровождаться существенным нарушением кислотно-основных свойств внутренней среды организма. Так, отравление метанолом приводит к накоплению в организме муравьиной кислоты, вызывающей тяжелый ацидоз.

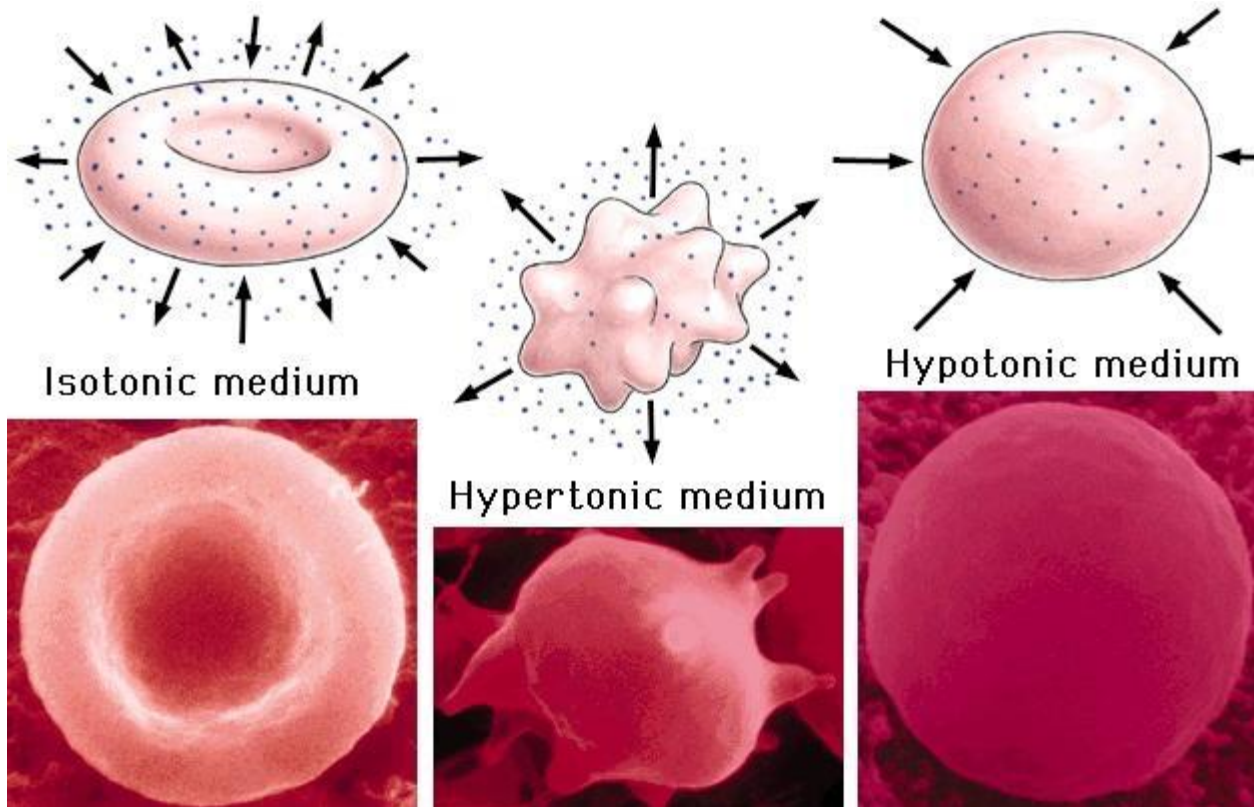


3. Связывание и инактивация структурных элементов межклеточной жидкости и плазмы крови.

В плазме крови содержатся структурные элементы, обладающие высокой биологической активностью, способные стать мишенью действия токсикантов. К их числу относятся, например, факторы свертывающей системы крови, гидролитические ферменты (эстеразы), разрушающие ксенобиотики и т.д. Например, угнетение активности карбоксилэстераз плазмы крови, разрушающих фосфорорганические соединения (ФОС), приводит к существенному повышению токсичности последних.

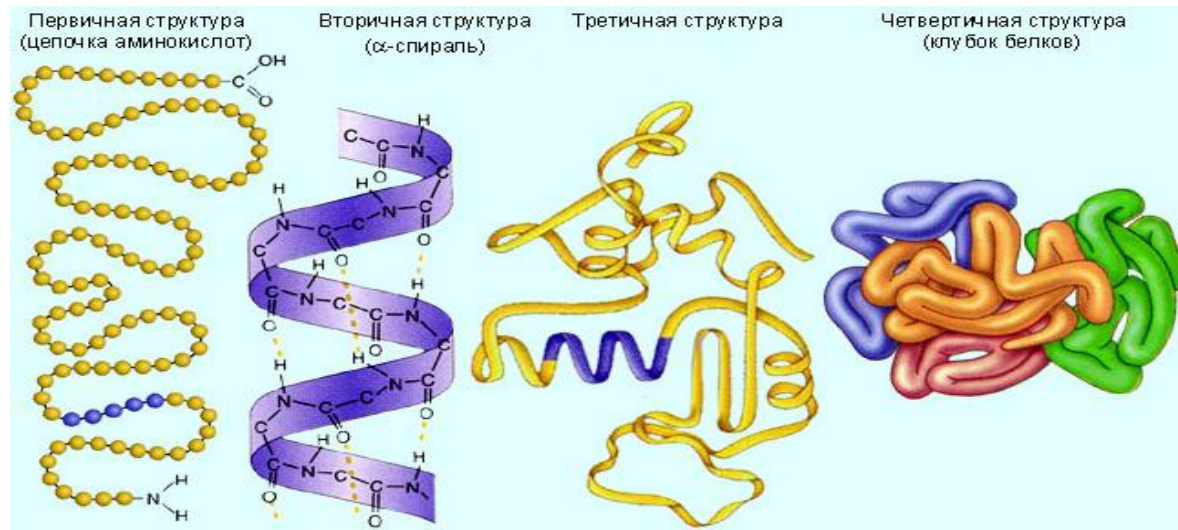


4. Нарушение осмотического давления. Существенные нарушения осмотического давления крови и интерстициальной жидкости при интоксикациях, как правило, носят вторичный характер (нарушение функций печени, почек, токсический отек легких). Развивающийся эффект пагубным образом сказывается на функциональном состоянии клеток, органов и тканей всего организма.



III. Действие ядов на белки.

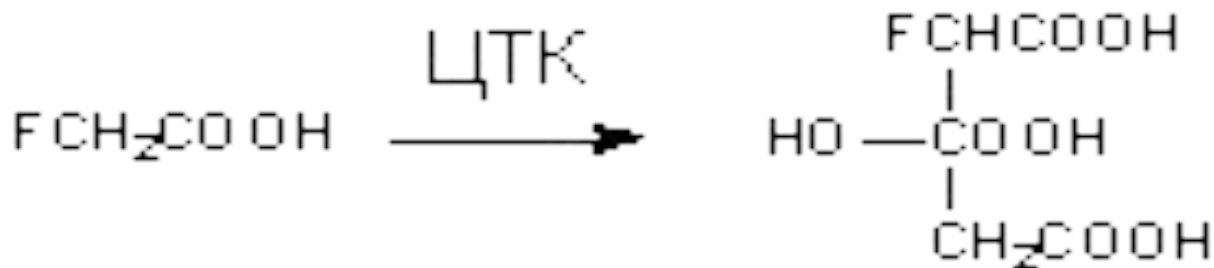
Денатурация. К числу веществ, денатурирующих белки, относятся крепкие щелочи, кислоты, окислители, ионы тяжелых металлов. В основе денатурации лежит повреждение внутрибелковых связей, поддерживающих вторичную, третичную структуру протеина. При этом наиболее часто токсиканты взаимодействуют с COOH- , NH- , OH- , SH- группами аминокислот, образующих белки. Многочисленные токсиканты, связывающиеся с SH- группами, называются тиоловыми ядами. К числу тиоловых ядов прежде всего следует отнести тяжелые металлы, такие как ртуть, мышьяк, сурьма, таллий, органические соединения этих металлов (метилртуть, люизит и т.д.). Другие металлы более активно взаимодействуют с карбоксильными группами (свинец, кадмий, никель, медь, марганец, кобальт).



Действие токсикантов на ферменты.

Конкурентное ингибирование. В основе взаимодействия лежит конкуренция токсиканта с субстратом за активный центр энзима. При этом реализуются две возможности:

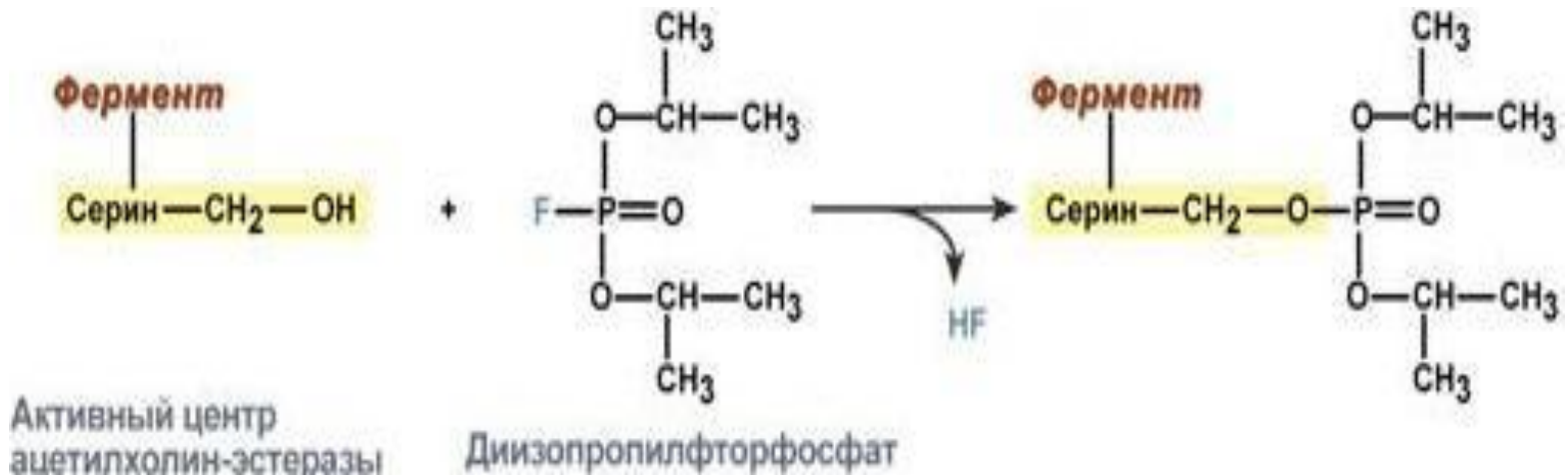
- а) токсикант вступает в превращение вместо субстрата (конкурентные субстраты). Так, некоторые эфиры холина (пропионилхолин, бутирилхолин и др.) гидролизуются ацетилхолинэстеразой вместо ацетилхолина. Конкурентным ингибитором аконитазы, одного из энзимов цикла трикарбоновых кислот, участвующих в превращении лимонной кислоты в аконитовую, является фторлимонная кислота, образующаяся в процессе метаболических превращений опасного токсиканта фторуксусной кислоты



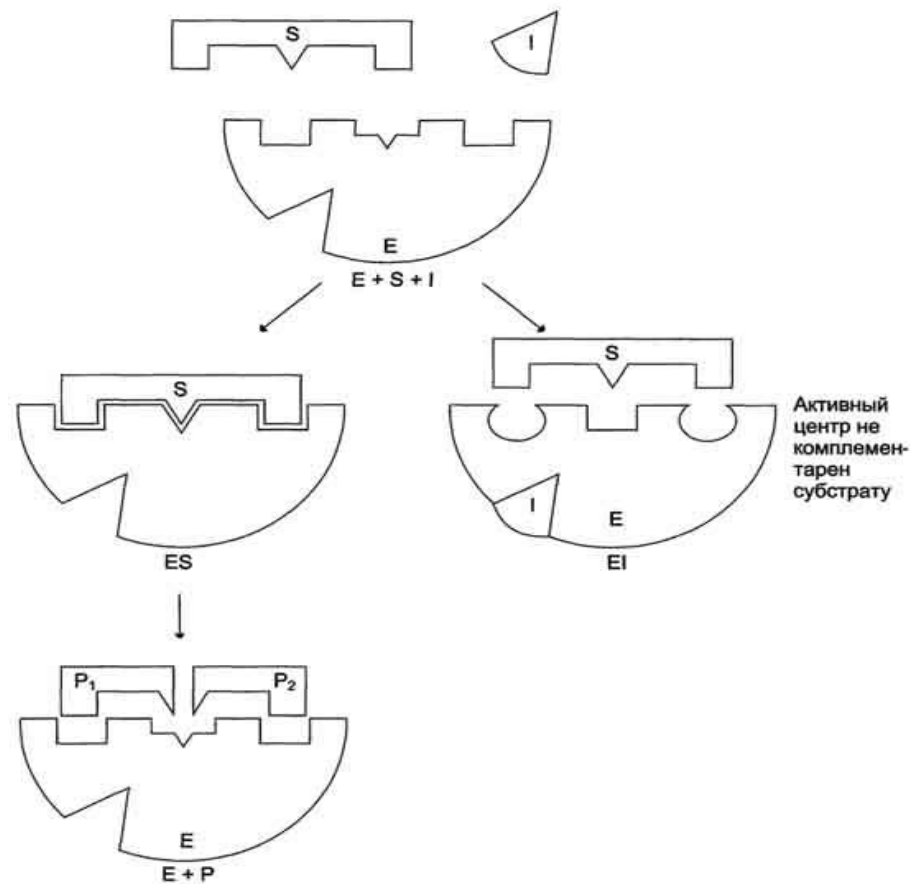
б) взаимодействие токсиканта с активным центром не приводит к его метаболизму (стабильные ингибиторы). Примерами таких токсикантов являются карбаматы - ингибиторы холинэстеразы.

Конкурентный тип ингибирования развивается также при образовании прочных ковалентных связей между токсикантами и активными центрами некоторых ферментов. Этот вид ингибирования приводит к полному прекращению ферментативной активности. Таким способом фосфорорганические соединения взаимодействуют с ацетилхолинэстеразой.

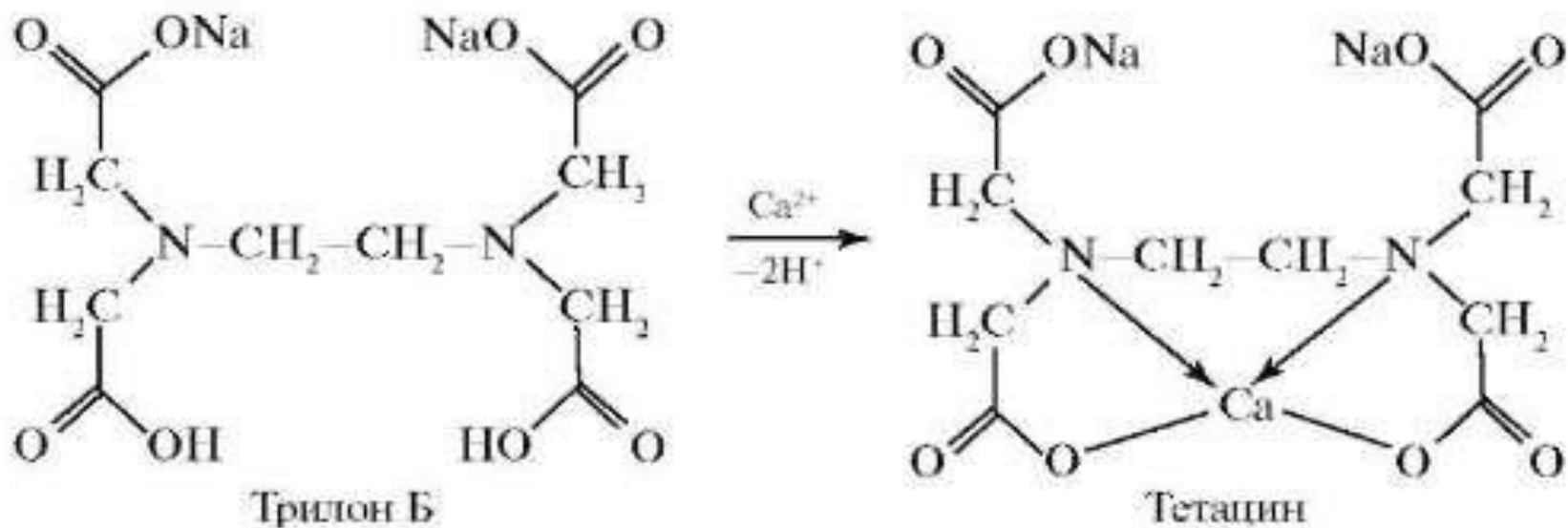
Часто, конкурентные ингибиторы ферментов структурно напоминают их субстраты.



Неконкурентное ингибирование. В данном случае токсикант взаимодействует с добавочным, аллостерическим, центром энзима, изменяя при этом конформацию активного центра и снижая, тем самым, его сродство к субстрату. Таким способом упомянутая выше фторлимонная кислота угнетает активность транслоказы, фермента, обеспечивающего активный транспорт цитрата через мембраны митохондрий, а мышьяк и его соединения - SH-содержащие энзимы.

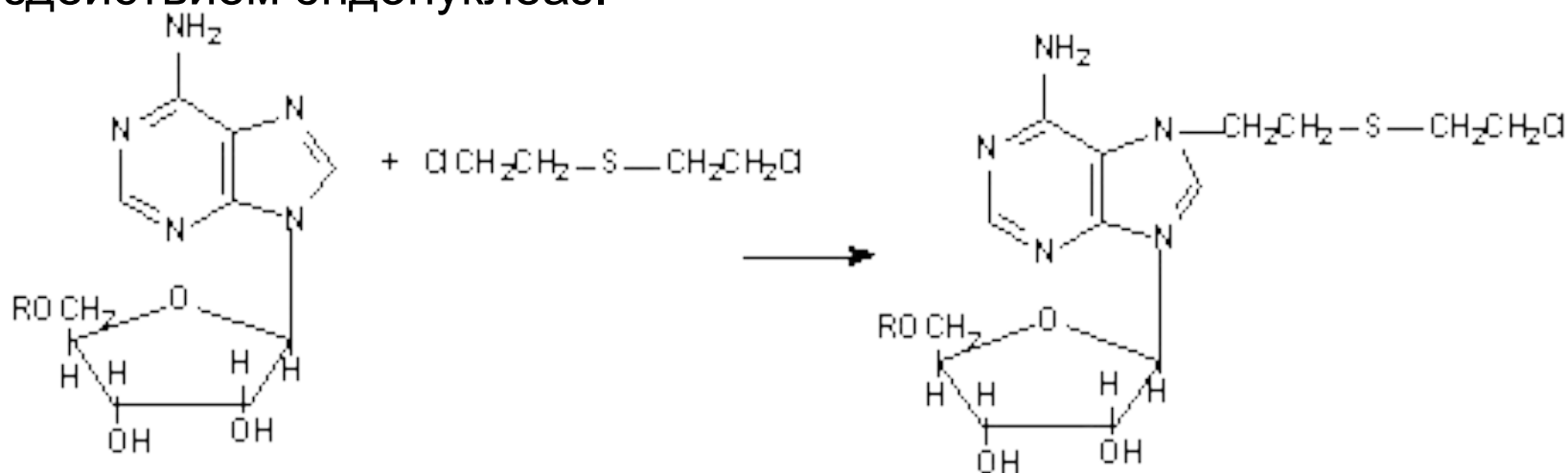


Прочие. Для осуществления ферментативной активности энзимы нуждаются в присутствии в среде ионов металлов: Mg^{2+} , Ca^{2+} , K^{+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} и др. Связывание этих металлов токсикантами приводит к угнетению активности. Таков механизм токсического действия комплексообразователей (ЭДТА, ДТПА, дитизона и др.), салициловой кислоты и др. К числу подобных токсикантов относятся цианиды, сульфиды, монооксид углерода и др.



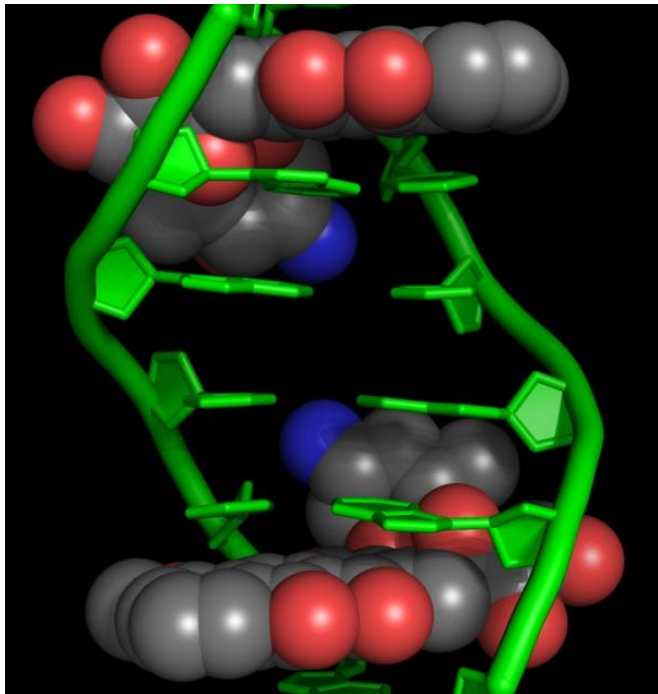
IV. Взаимодействие токсикантов с нуклеиновыми кислотами и липидами.

1. Химическая модификация нуклеиновых кислот. К числу веществ, вступающих в химическое взаимодействие с нуклеиновыми кислотами, относятся нитриты, сернистый, азотистый, кислородный иприты, гидразин и его производные, полициклические углеводороды, метаболиты афлатоксинов, соединения мышьяка и многие другие вещества. Эти токсиканты, образуют ковалентные связи с аминогруппами пуриновых и пиримидиновых оснований, входящих в структуру нуклеиновых кислот. Измененные таким образом молекулы ДНК могут подвергаться дальнейшей ферментативной и неферментативной трансформации вплоть до разрушения под воздействием эндонуклеаз.



2. Нарушение конформации нуклеиновых кислот.

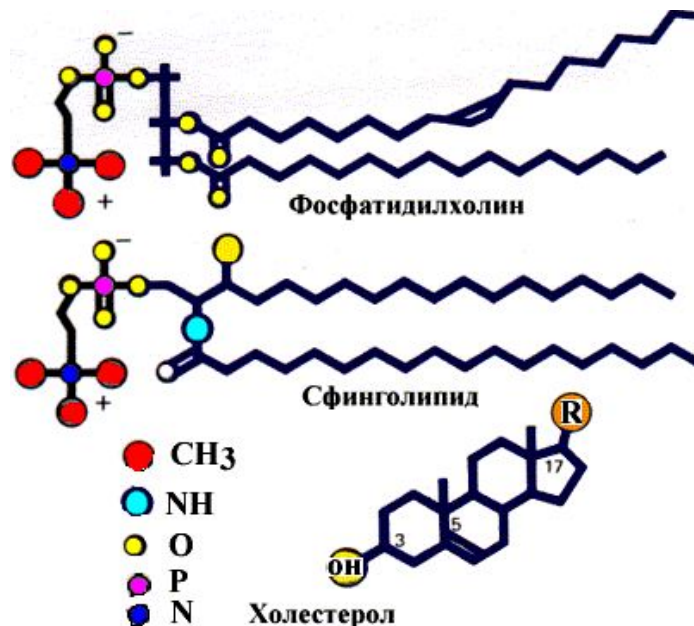
Многие ксенобиотики образуют нековалентные связи с ДНК. При этом меняется конформация макромолекул. Так, известно высокое сродство к нуклеиновым кислотам производных ряда ароматических углеводородов, которые, встраиваясь в молекулу ДНК между соседними парами оснований (интеркаляция), изменяют её структуру. Таков же, вероятно, также механизм действия этидиумбромиды. Антрациклин, хлорахин, актиномицин и некоторые другие антибиотики также изменяют конформацию нуклеиновых кислот, не образуя с ними ковалентных связей.



Интеркаляция молекул доксорубина между цепями ДНК, подавляющая синтез нуклеиновых кислот (иллюстрация Fvasconcellos / Wikimedia).

Взаимодействие токсикантов с липидами

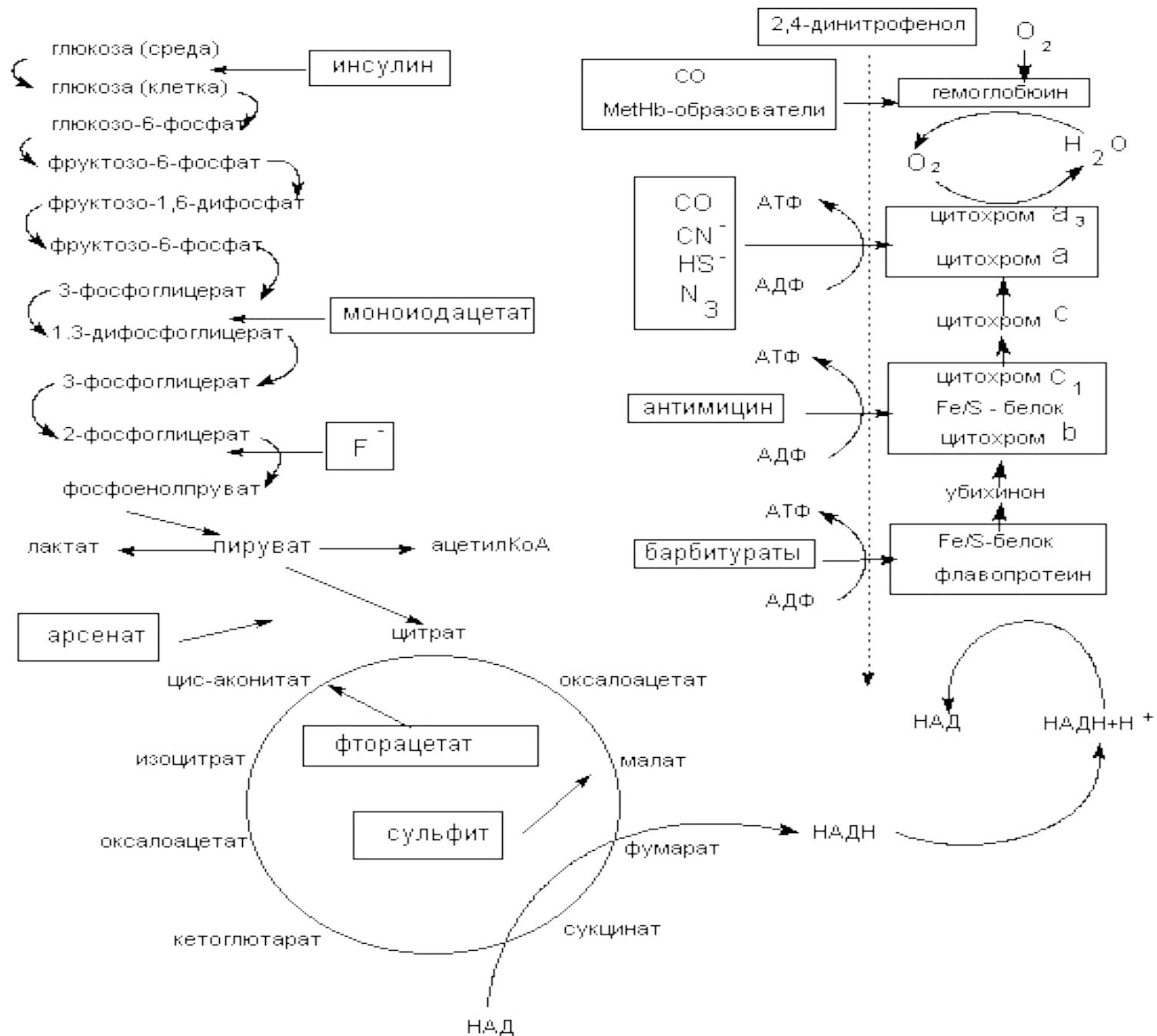
Важнейшая функция липидов - формирование биологических мембран. Вещества, разрушающие, изменяющие структуру липидов, нарушающие взаимодействие между молекулами липидов (гидрофобные связи) повреждают биологические мембраны и поэтому называются мембранотоксикантами. К числу таких относятся многие спирты, предельные и галогенированные углеводороды ("неэлектролиты"), детергенты (поверхностно-активные вещества), а также яды, обладающие фосфолипазной активностью (яды змей и т.д.). Ряд токсикантов оказывает опосредованное мембранотоксическое действие, повышая уровень внутриклеточного Ca^{2+} , активируя эндогенные фосфолипазы, свободнорадикальные процессы в клетках и т.д.



V. МЕХАНИЗМЫ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ

В основе токсического действия веществ лежит повреждение клеток, сопровождающееся их функциональными, либо структурно-функциональными изменениями. К числу важнейших механизмов можно отнести следующие:

- нарушение энергетического обмена;
- нарушение гомеостаза внутриклеточного кальция;
- активация свободно-радикальных процессов в клетке;
- нарушение процессов синтеза белка и клеточного деления;
- повреждение клеточных мембран.



Механизмы действия токсикантов на биоэнергетические процессы

Мышьяк, ртуть, их органические и неорганические соединения, другие тяжелые металлы, иодацетат и проч., могут взаимодействовать с сульфгидрильными группами целого ряда энзимов гликолиза и цикла трикарбоновых кислот и подавлять их активность (сульфгидрильные яды). Достаточно избирательно действуют вещества-аналоги природных субстратов (фторацетат, оксид углерода и т.д.). Они взаимодействуют с активными центрами соответствующих энзимов, угнетая отдельные этапы процесса энергообеспечения клеток.

Ингибирование энзимов цикла трикарбоновых кислот (ТК) является пагубным для клетки. Так, некоторые фторированные спирты и фторкарбоновые кислоты (ингибиторы ферментов цикла ТК), являются чрезвычайно токсичными соединениями, вызывающими смертельное отравление в дозах нескольких миллиграмм на килограмм массы.

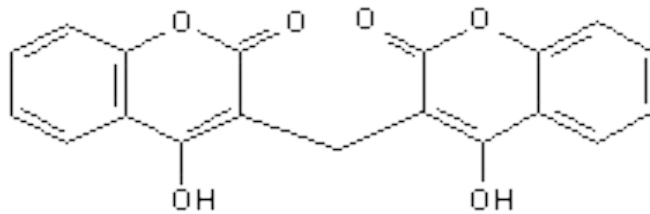
Большое токсикологическое значение имеют вещества, действующие на цепь дыхательных ферментов. Токсиканты, блокирующие элементы цепи дыхательных ферментов (цианиды, сульфиды), могут в течение нескольких минут привести организм к гибели. Первая ступень цепи дыхательных ферментов чувствительна к седативным средствам (барбитураты).

Некоторые вещества способны разобщать процессы биологического окисления и фосфорилирования. Такими свойствами обладают, как правило, липофильные соединения, содержащие фенольную группировку в молекуле и являющиеся слабыми органическими кислотами: 2,4-динитрофенол (ДНФ), хлорфенолы, дикумарол, а также салицилаты, арсенаты, тироксин и др.

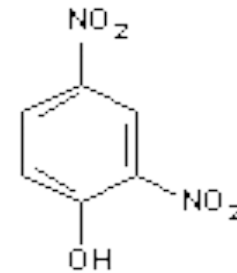
in vitro "разобщители" стимулируют скорость потребления кислорода митохондриями и индуцируют активность АТФазы.

in vivo в результате их действия значительно активируются процесс клеточного дыхания, однако содержание АТФ в клетках при этом снижается. Образующаяся в ходе окисления субстратов энергия рассеивается в форме тепла, температура тела отравленного резко повышается, учащается дыхание, появляются тошнота, обильное выделение пота, развивается острая сердечная недостаточность, кома. Интоксикация развивается бурно и заканчивается быстрой гибелью пострадавшего.

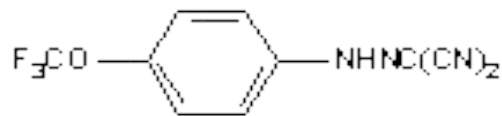
Механизм действия разобщителей до конца не выяснен. Полагают, что они облегчают переход протонов непосредственно через мембрану из митохондрий в цитоплазму. Двигателем же процесса образования АТФ из АДФ и неорганического фосфата как раз и является градиент протонов по обе стороны мембраны митохондрий, не проницаемой для H^+ , поддерживаемый реакциями биологического окисления.



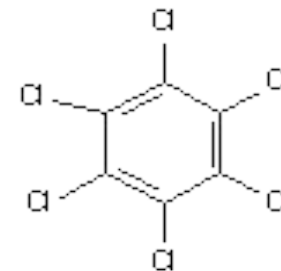
дикумарол



динитрофенол



трифторкарбонилцианид
фенилгидразон

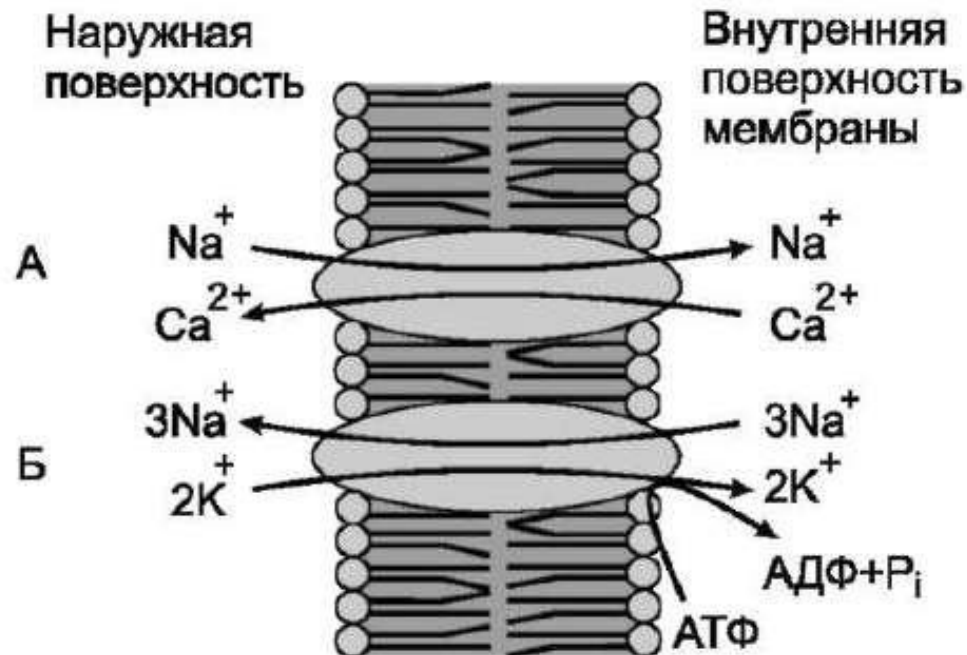


пентахлорфенол

Нарушение гомеостаза внутриклеточного кальция

Цитотоксическое действие самых разных токсикантов (цианидов, четыреххлористого углерода, свинца, метилртути, оловоорганических соединений, алкилирующих агентов, диоксина и т.д.) связано с повышением уровня кальция внутри клеток.

Обычно поступление Ca^{2+} в клетку по градиенту концентрации уравнивается его активным выведением, осуществляемым при участии Ca^{2+} - транспортной АТФазы в печени и эритроцитах и $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обменом в возбудимых тканях. Кроме того, уровень кальция регулируется его секвенированием в клеточных органеллах (ядре, митохондриях, эндоплазматическом ретикулуме), а также связыванием внутриклеточными белками.



Нарушение механизмов поддержания гомеостаза внутриклеточного кальция:

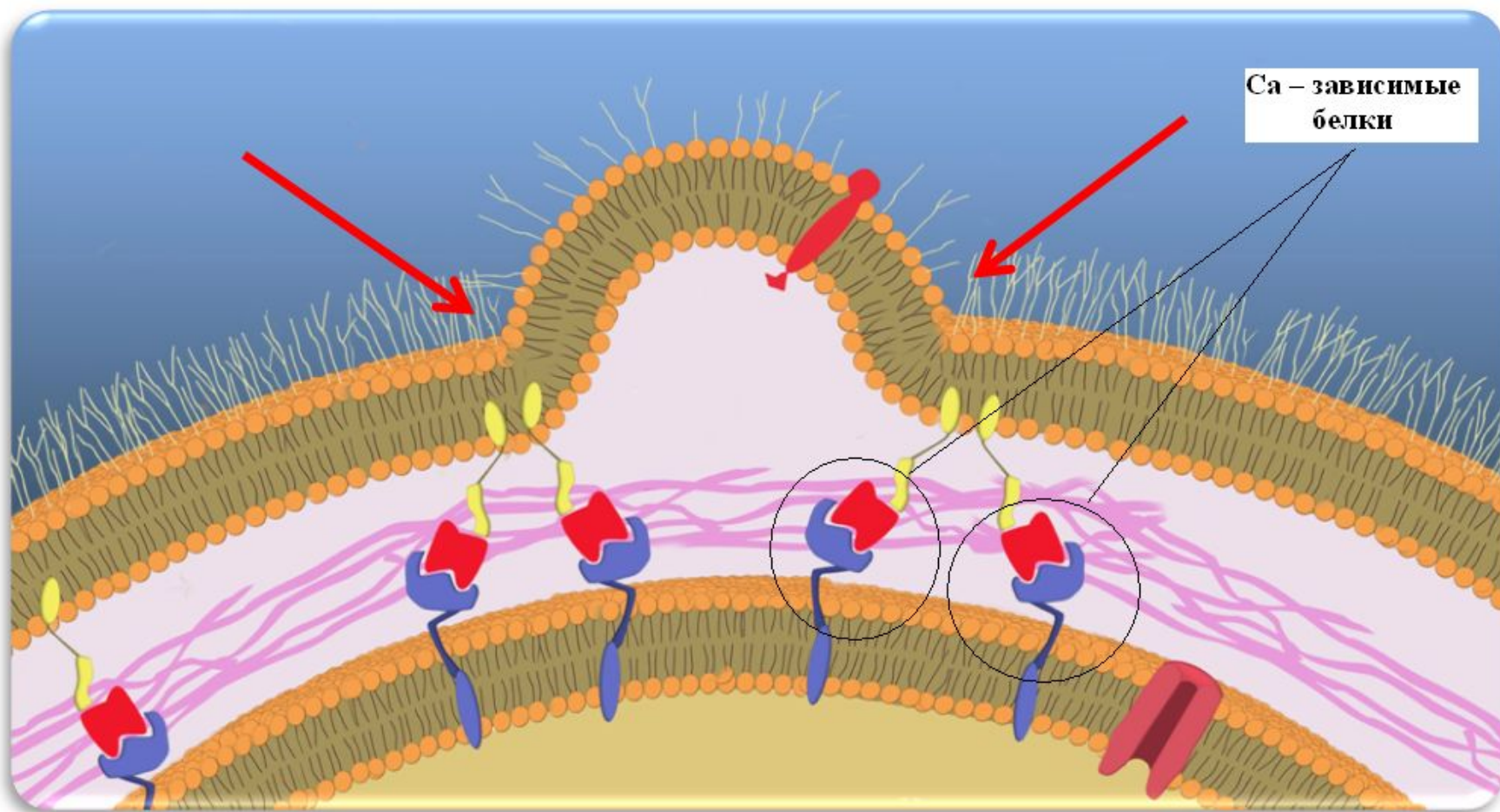
1. повреждения биологических мембран и усиления их проницаемости для ионов;
2. нарушения биоэнергетики клетки, приводящие к истощению запасов макроэрогов;
3. изменения функционального состояния белковых комплексов (в том числе путем действия на соответствующие рецепторы), образующих каналы для Ca^{2+} ;
4. активация фосфолипаз;
5. активация протеаз;
6. активация эндонуклеаз .

Некоторые вещества, нарушающие распределение кальция внутри клетки

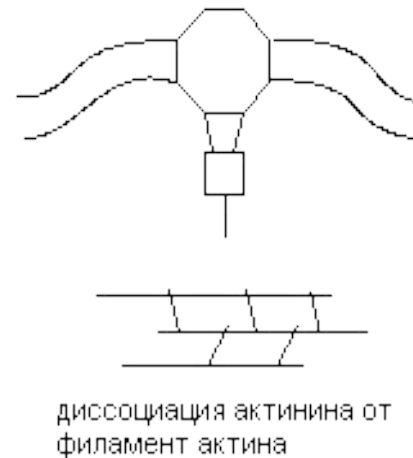
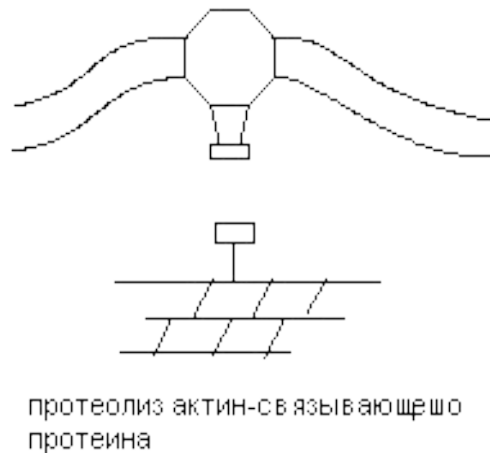
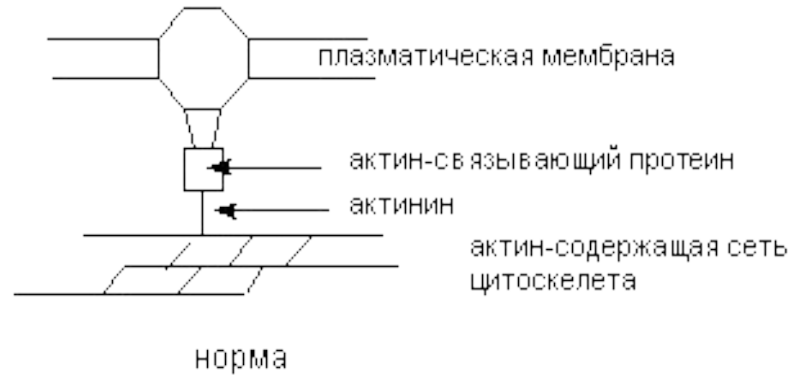
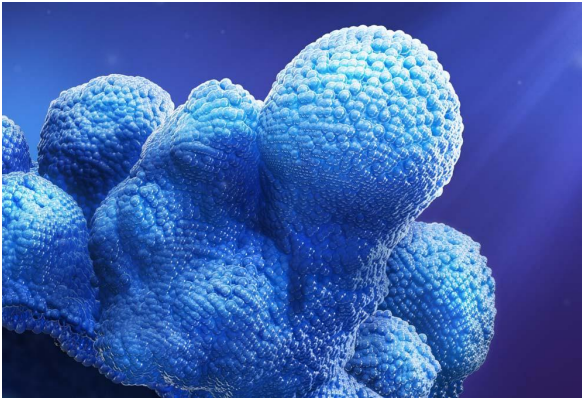
<p>1. Высвобождение кальция из митохондрий:</p> <ul style="list-style-type: none">- динитрофенол- хиноны- перекиси- железо- кадмий	<p>3. Усиление поступление кальция через плазматическую мембрану:</p> <ul style="list-style-type: none">- четыреххлористый углерод- парацетамол
<p>2. Высвобождение кальция из эндоплазматического ретикулума:</p> <ul style="list-style-type: none">- четыреххлористый углерод- бромбензол- хиноны- перекиси- альдегиды	<p>4. Угнетение эффлюкса кальция из клетки:</p> <ul style="list-style-type: none">- хиноны- перекиси- ванадий

Повреждение цитоскелета

При действии разнообразных веществ на изолированные клетки (культура ткани) выявляется отчетливое изменение формы их поверхности: появляются выпячивания цитоплазмы, называемые пузырьками (blebs).



Стойкое увеличение концентрации кальция в цитозоле вызывает отщепление актина микрофиламентов от α -актинина, белка, служащего промежуточным звеном, связывающим микрофиламенты цитоскелета с белками плазматической мембраны. Отщепление цитоскелета от мембраны приводит к ослаблению фиксации последней и её "вскипанию", что и наблюдается при действии на клетки различных токсикантов.



VI. Активация свободно-радикальных процессов в клетке

Образование свободных радикалов



Радикалы в организме человека



Супероксид
анион-радикал

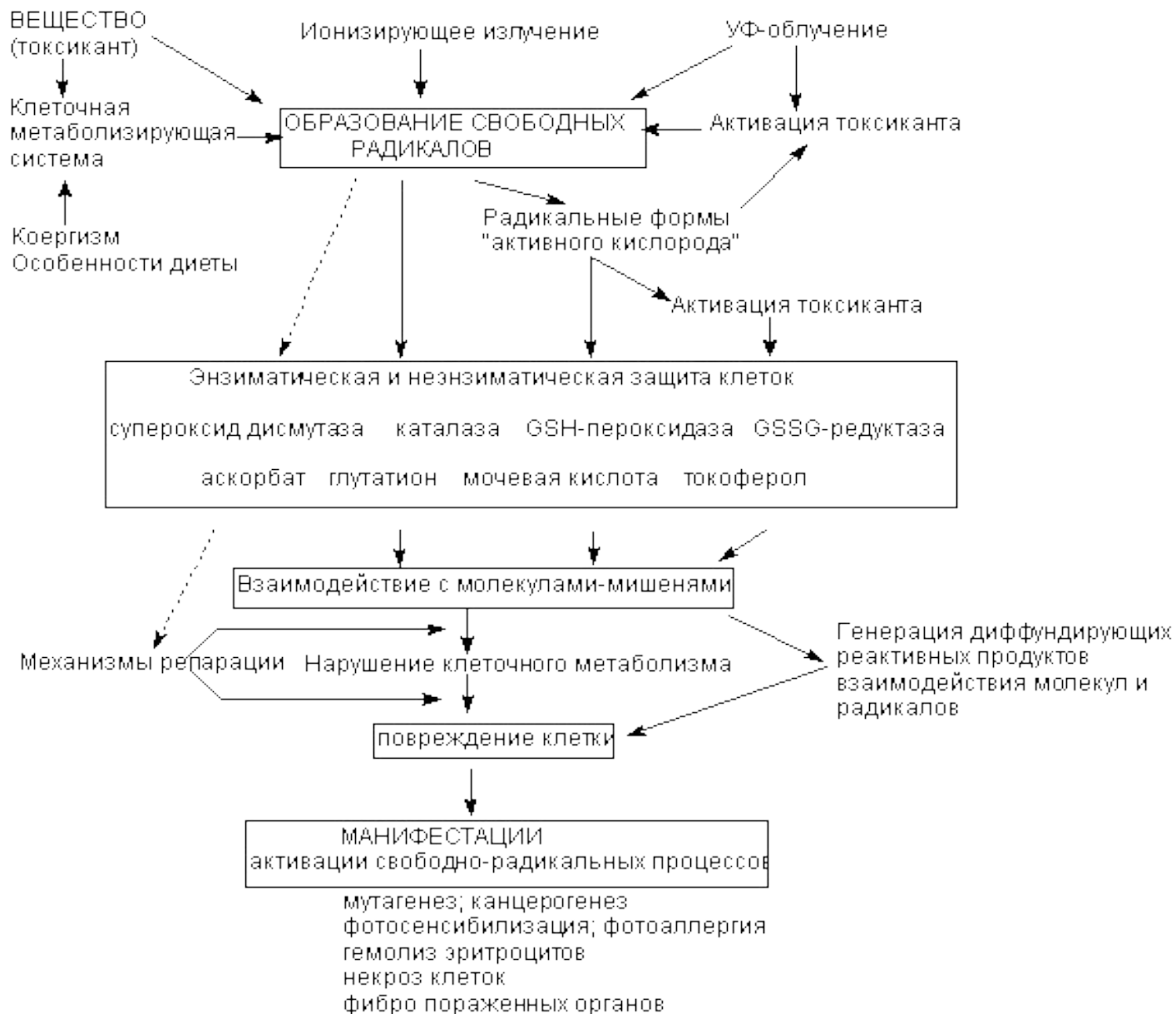


Гидроксил ион



Радикал гидроксила

Примеры простых свободных радикалов



Активация свободно-радикальных процессов в клетках и их последствия

СВОБОДНЫЕ
РАДИКАЛЫ

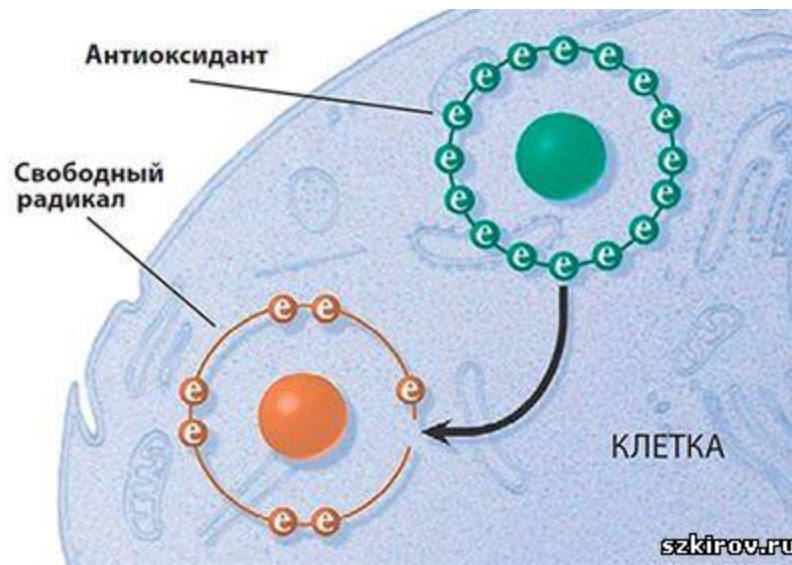


- Связывание с протеинами
- Связывание с ДНК и РНК
- Окисление SH-групп
- Истощение коэнзимов
- Перокидация липидов

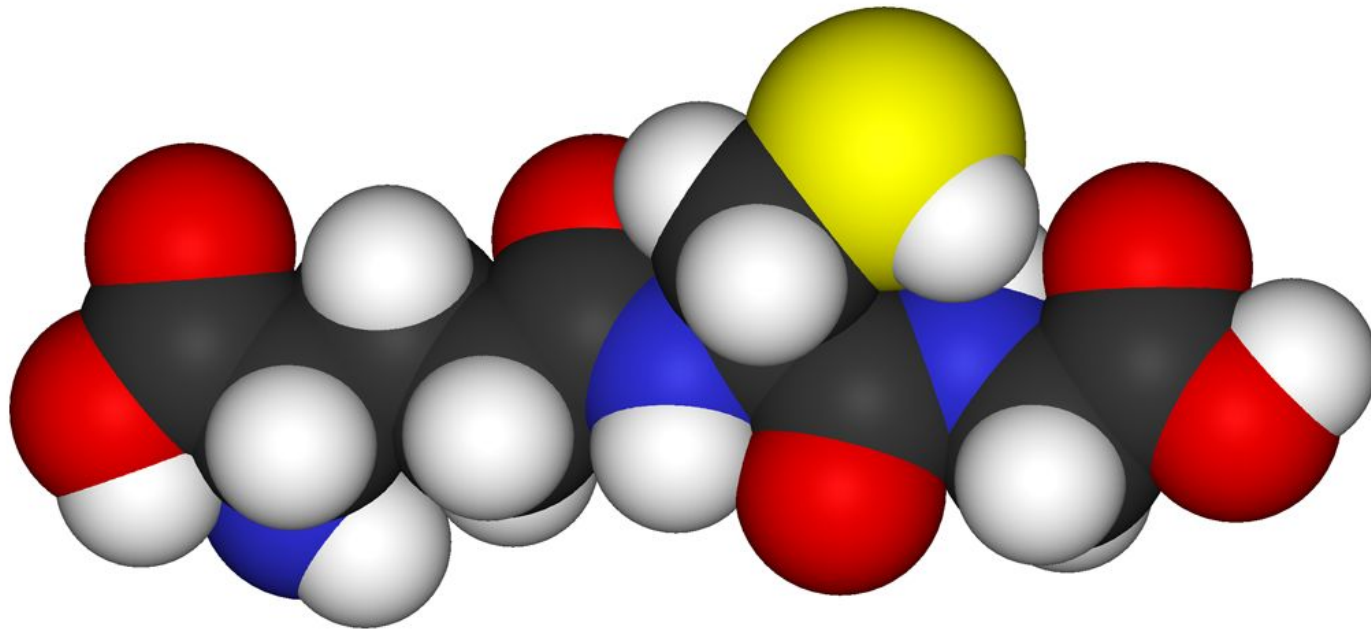
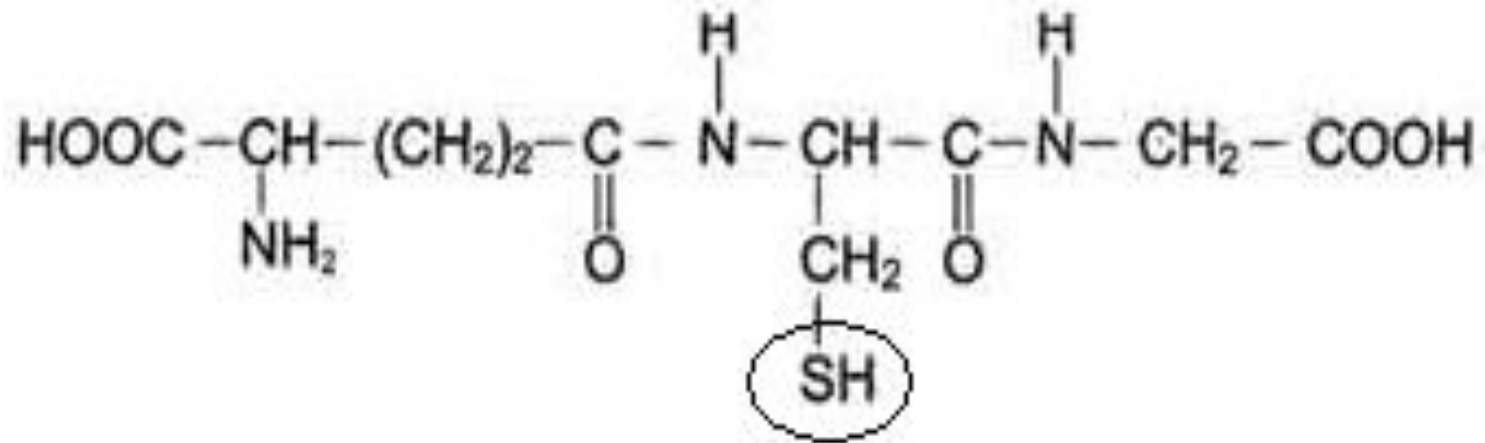
Некоторые токсические эффекты свободных радикалов

VII. Механизмы клеточной антирадикальной защиты

Свободные активные радикалы в норме в клетке образуются постоянно. Так, в процессе метаболизма веществ в гладком эндоплазматическом ретикулуме флавопротеины, а в митохондриях окислительные ферменты цепи дыхательных ферментов, постоянно продуцируют некоторое количество супероксид-иона ($O_2^{\cdot-}$) и перекиси водорода (H_2O_2). Однако содержание в клетке этих и других радикалов жестко контролируется широким спектром биохимических инструментов антирадикальной защиты, включая супероксиддисмутазу, каталазу, GSH-пероксидазу, GSSG-редуктазу, α -токоферол, β -каротин, аскорбиновую кислоту, восстановленный глутатион, мочевую кислоту. Отдельные элементы системы защиты действуют комплексно и потенцируют эффект друг друга. Они локализуются либо в гидрофобных, либо гидрофильных компартментах клеток (например, токоферол - липофилен, глутатион - гидрофилен).



Роль глутатиона в антиоксидантной защите организма



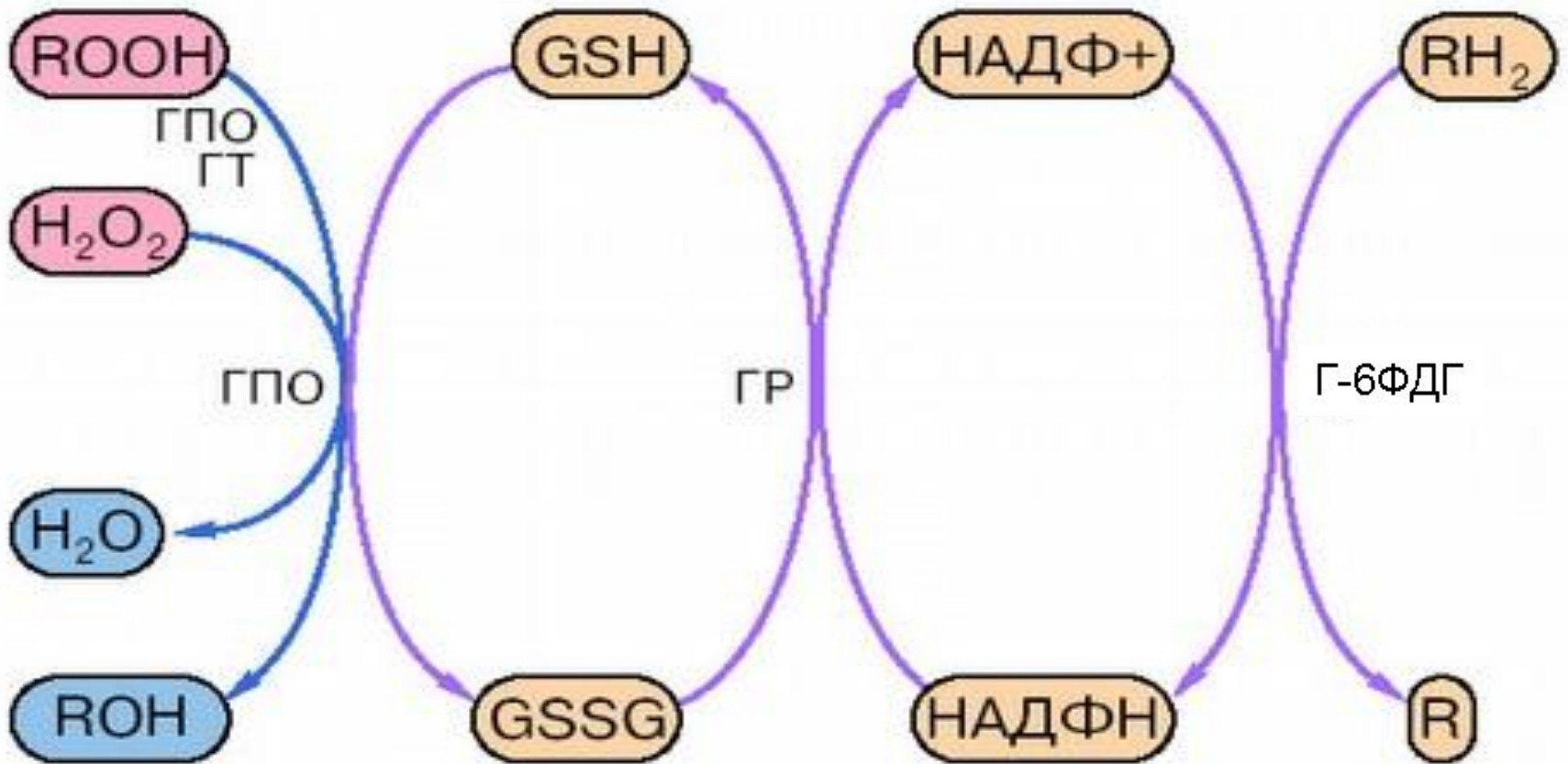
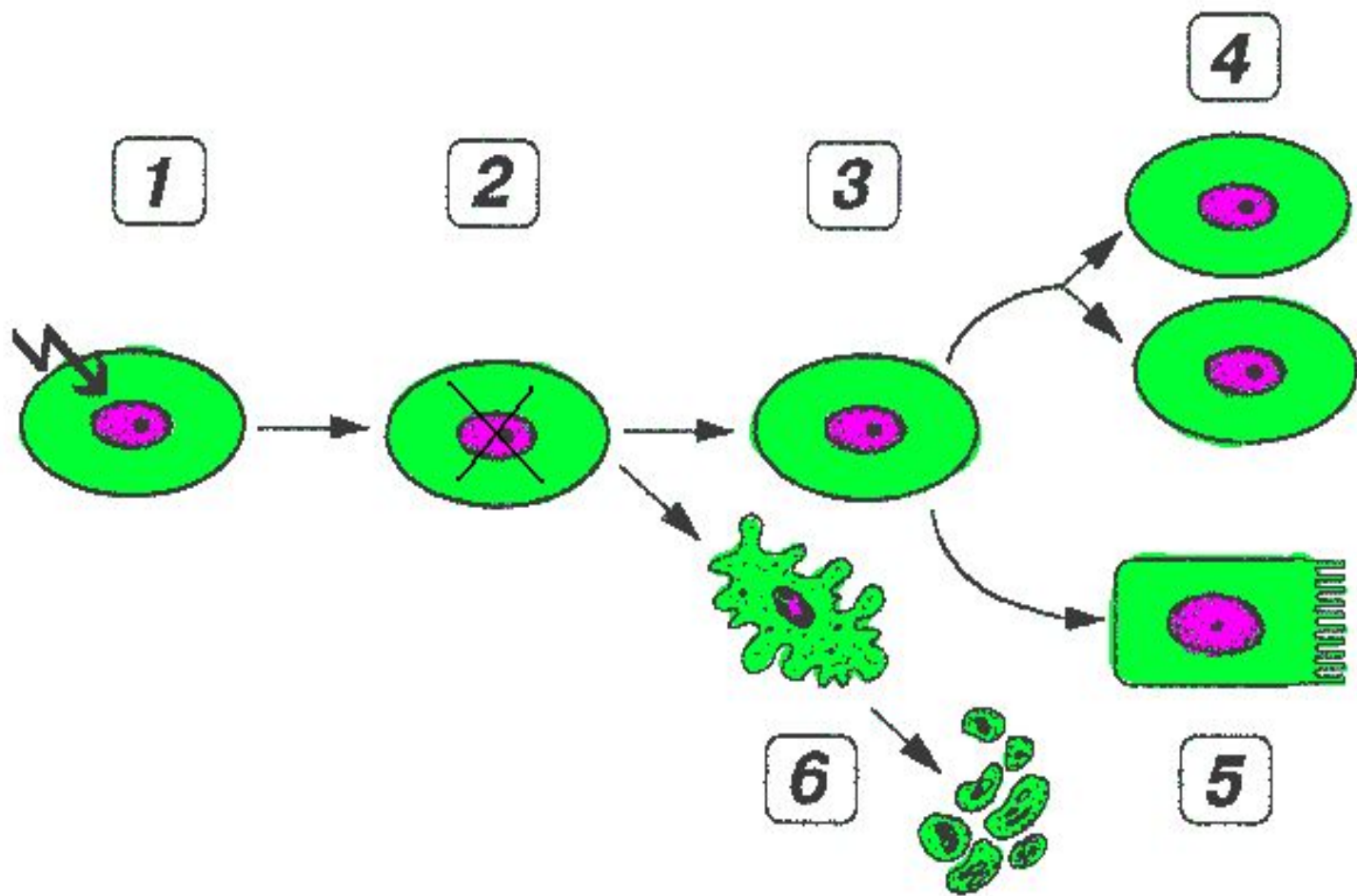


Схема работы глутатионантиоксидантной системы

VIII. Повреждение процессов синтеза белка и клеточного деления

Деление, рост, дифференциация клеток, их мутация и малигнизация - процессы, неразрывно связанные с обменом нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) и синтезом белка. Эти процессы чрезвычайно сложны и включают множество этапов. Действие веществ, нарушающих нуклеиновый обмен и белковый синтез, в этой связи, весьма разнообразно. Подавляющее большинство механизмов токсического повреждения изучено в опытах *in vitro* на изолированных быстро размножающихся клетках, а порой даже на прокариотах. Вот почему среди приводимых в качестве примеров веществ, преобладают цитостатики, антибиотики и красители.



Основные реакции клеток на повреждение ДНК. 1 - повреждение ДНК (стрелка в виде молнии); 2 - остановка клеточного цикла; 3 - восстановление поврежденной ДНК; 4 - деление клеток; 5 - дифференцировка клеток; 6 - апоптоз при неустранимом повреждении ДНК.

Возможные точки приложения повреждающего действия

токсикантов на процессы синтеза белка и нуклеиновых кислот.

1. Синтез ДНК. Репликация - изменение структуры (конформации) ДНК

- нарушение процесса полимеризации ДНК
- нарушение синтеза нуклеотидов
- разрушение ДНК - нарушение процесса репарации ДНК
- нарушение механизмов регуляции синтеза ДНК

2. Синтез РНК. Транскрипция

- нарушение полимеризации РНК
- нарушение процессии РНК
- нарушение синтеза нуклеотидов
- разрушение РНК - нарушение механизмов регуляции синтеза РНК

3. Синтез белка. Трансляция

- нарушение организации и процессии рибосом и полисом
- нарушение полимеризации аминокислот
- нарушение образования аминоацетил-tРНК
- нарушение формирования конформации белка и его третичной и четвертичной структур
- нарушение механизмов регуляции трансляции

Механизмы действия ингибиторов синтеза нуклеиновых кислот и белков

Механизм действия	Примеры
Ковалентное связывание с ДНК	иприт
Индукция однонитевых разрывов	этиленоксид
Интеркаляция	этидиумбромид
Нековалентное связывание с ДНК	актиномицин
Взаимодействие с РНК-полимеразой	α -аманитин
Взаимодействие с ДНК-полимеразой	кодеин
Влияние на синтез нуклеотидов	фаллоидин, арабинозид ЦИТОЗИН-
Нарушение обмена фолиевой кислоты, пиримидина, пурина	аминопурин
Нгнетение образования аминокетил-tРНК	6-флюоротриптофан

Биологические последствия действия токсикантов на нуклеиновый обмен и синтез белка

Токсикологическое значение веществ, вмешивающихся в процесс синтеза белка и клеточное деление, обусловлено их цитостатическим, иммуносупрессорным, мутагенным, тератогенным и канцерогенным действием.

Повреждающее действие химических веществ на ДНК называется генотоксическим. Наиболее чувствительны к генотоксическому действию клетки, способные к делению (эмбриональные, герменативные, костного мозга, эпителия почек, кожи, слизистой желудочно-кишечного тракта и т.д.). Последствия повреждения ДНК зависят от дозы токсиканта. Высокие дозы вызывают цитостатический эффект (гибель пула делящихся клеток), более низкие - канцерогенное, тератогенное, мутагенное действие. В основе канцерогенного, тератогенного, мутагенного действия лежат по сути общие механизмы, однако превращение конкретного вещества в канцероген, тератоген, мутаген зависит от целого ряда условий .

Условия воздействия генотоксиканта, определяющие форму развития токсического процесса: канцерогенеза, мутагенеза, тератогенеза

Токсический процесс	Чувствительная ткань	Оптимальное время воздействия	Продолжительность действия и доза
Канцерогенез	Любая пролиферирующая ткань	Неопределенное; любая стадия митоза	Обычно хроническое, беспороговое
Мутагенез	Герменативные клетки	Все стадии гаметогенеза	Острое и хроническое, беспороговое
Тератогенез	Все зародышевые ткани	Наивысшая - на ранних стадиях дифференциации тканей	Только острое, в дозах выше пороговых

Существует представление, согласно которому проникновение в организм даже единственной молекулы генотоксиканта (в отличие от токсикантов с иным механизмом токсического действия) может привести к пагубным последствиям. Дело в том, что химическое повреждение единичной молекулы ДНК в единичной клетке макроорганизма, при стечении обстоятельств, может стать причиной мутогенеза, тератогенеза, канцерогенеза. Вероятность такого события бесконечно мала, но теоретически возможна. Такой характер действия веществ на биосистемы называется **беспороговым**.

THE END