

МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ МЕХАНИЗМОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ *IN VITRO*

Манджиева А.А., Лукина П.А.,
Вечкитов Р.С., Аветисова И.В.

ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России – ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, направление подготовки «Биология», Волгоград, e-mail: aushenka@mail.ru

Представлен анализ научных статей, посвященных методам изучения механизмов биотрансформации лекарственных препаратов на моделях *in vitro* и *in vivo*. Проведен поиск литературного материала, посвященного изучению биотрансформации ксенобиотиков в живом организме. Рассмотрены основные химические процессы, которые определяют направления метаболических трансформаций. Предложены методы оценки метаболической стабильности ксенобиотиков *in vitro* на основе клеток или субклеточных фракций, которые служат моделями процессов, протекающих в живом организме.

Биотрансформация играет важную роль в определении фармакокинетических свойств таких параметров как пероральная биодоступность, лекарственное взаимодействие, клиренс и период полувыведения. Выявление биохимических аспектов нарушений метаболизма ксенобиотиков при различных заболеваниях способствует направленному синтезу новых препаратов.

Химическая модификация ксенобиотика путем биотрансформации может изменить его биологические эффекты. Однако в большинстве случаев биотрансформация прекращает фармакологические эффекты лекарства и снижает токсичность ксенобиотиков.

Еще одно важное обстоятельство, перспективное для направленного поиска новых лекарственных средств, — необходимость создания условий, в которых вещество, способное воздействовать прямо или опосредованно на ту или иную рецепторную систему, доставляется в те органы и ткани, где такое взаимодействие может эффективно реализоваться.

Характеристика механизмов биотрансформации ксенобиотиков

Биотрансформация относится к процессу, при котором липофильные, ксенобиотические или эндобиотические химические вещества превращаются в организме в результате ферментативных реакций в более гидрофильные продукты [1].

Метаболизм ксенобиотиков проходит в две фазы. В ходе первой фазы окислительно-восстановительного или гидролитического превращения молекула вещества обогащается полярными функциональными группами, что делает ее реакционноспособной и более растворимой

в воде. В этих окислительных реакциях обычно участвуют монооксигеназа цитохрома P450 (часто сокращенно СУР), НАДФН и кислород [2].

Во второй фазе проходят синтетические процессы конъюгации промежуточных продуктов метаболизма с эндогенными молекулами, в результате чего образуются полярные соединения, которые выводятся из организма с помощью специальных механизмов экскреции [3].

В метаболизме ксенобиотиков принимают участие ферменты почек, легких, кожи, ЖКТ и других тканей, но наиболее интенсивно в этом процессе участвуют ферменты печени [4].

Внутри клетки печени основными субклеточными компонентами, содержащими трансформирующие ферменты, являются микросомы эндоплазматического ретикулума и растворимая фракция цитоплазмы (цитозоль). В митохондриях, ядре и лизосомах содержатся небольшие уровни трансформирующей активности [5].

Очень часто индивидуальные различия в действии лекарственных веществ обусловлены их метаболизмом. Происходит это вследствие изменения активности ферментов, трансформирующих лекарственные вещества, что, в основном, бывает связано с мутацией генов, контролирующей синтез данных ферментов. [6].

Вариабельность терапевтического и побочного действия лекарств зависит от многих причин и прежде всего:

- количества и чувствительности рецепторов на поверхности клеток к фармакологическим препаратам,
- специфичности рецепторов к препарату,
- генетической потенции (возможностей организма) к производству ферментов I и II фаз и скорости биотрансформации ксенобиотиков.

Контроль за перечисленными параметрами метаболизма крайне сложен и на практике для оценки индивидуальных возможностей биотрансформации лекарств используют тесты по определению концентрации препарата в крови, периода полувыведения препарата и скорости экскреции препарата.

Методы оценки метаболической стабильности *in vitro*

Оптимальными методами оценки метаболической стабильности являются тестовые системы *in vitro* на основе клеток или субклеточных фракций, которые служат моделями процессов, протекающих в живом организме. Тест-системы позволяют достаточно точно определить метаболиты органических соединений, не требуя при этом использования большого количества лабораторных животных [7].

При метаболическом фенотипировании, проводя соответствующие биохимические реакции, исследуют, какие ферменты или изоферменты метаболизируют соединение. Для этого анализа используются отдельные рекомбинант-

ные изоферменты цитохрома (СYP) человека. Их получают путем клонирования кДНК генов СYP человека и трансфекции с использованием бакуловируса в клетки насекомых в культуре или клонирования в бактерии [7].

Для оценки окисления фазы I метаболизирующим материалом чаще всего являются микросомы печени. Они содержат ферменты, которые связаны с мембраной эндоплазматического ретикулума в клетках. Микросомы печени содержат СYP и другие метаболизирующие ферменты, которые являются главными ферментами фазы I и играют немаловажную роль в клиренсе лекарств.

Для совокупного анализа стабильности веществ в реакциях I и II фаз метаболизма используют фракцию печени S9 – надосадочную жидкость, полученную центрифугированием гомогената печени. Преимущество данного препарата заключается в том, что в своем составе он содержит также микросомальные ферменты, такие как сульфотрансфераза, алкогольдегидрогеназа и N-ацетилтрансфераза. Это особенно полезно для соединений, имеющих группы, которые склонны к метаболическим реакциям, катализируемым данными ферментами [8].

При охвате более широкого диапазона метаболизирующих ферментов для оценки микросомальных и экстрамикросомальных (например, цитозольных, митохондриальных) метаболических реакций используют гепатоциты. Эти клетки печени содержат совокупность всех метаболизирующих ферментов. Однако они значительно дороже вышеперечисленных методов. К тому же гепатоциты следует использовать в течение нескольких часов, после этого их активность уменьшится [9].

Перспективным альтернативным методом подобных исследований, лишенным вышеозначенных недостатков, является представление животной клетки как единой биологической системы посредством стехиометрической модели метаболической сети клетки *in silico*. На сегодня уже созданы для применения модели метаболизма различных клеток, в том числе и гепатоцитов [10, с. 86-94].

Заключение

Исследования механизмов биотрансформации используются для раскрытия токсического действия веществ, совершенствования методов диагностики, профилактики и лечения развивающихся вследствие такого воздействия заболеваний.

Так как в настоящее время известны ферментативные реакции превращения большинства классов органических соединений, то принципы метаболизма ксенобиотиков и ферменты, принимающие участие в этих процессах, с успехом используются для синтеза органических веществ.

Таким образом, особенно актуален систематический анализ процессов метаболизма различных ксенобиотиков в филогенетическом и онтогенетическом аспектах и метаболизма лекарственных веществ в органах и тканях человека и животных.

Список литературы

1. Вергейчик Т.Х. Токсикологическая химия: учеб. / Т.Х. Вергейчик. В 31. М., 2013. 432 с.
2. Граник В.Г. Биотрансформация лекарственных препаратов, принадлежащих к ряду азотсодержащих гетероциклов – Известия Академии наук. Серия химическая. 2010. № 1.
3. Kumar G.N., Surapaneni S. Role of drug metabolism in drug discovery and development. *Med Res Rev.* 2001 Sep;21(5):397-411. DOI: 10.1002/med.1016.
4. Рембовский В.Р., Могиленкова Л.А. Процессы детоксикации при воздействии химических веществ на организм. СПб.: Изд-во Политехнического у-та, 2017. 384 с.
5. Curtis D. Klaassen; John B. Watkins – Casarett & Doull's Essentials of Toxicology, Third Edition – McGraw-Hill Education, 2015.
6. Фармацевтическая биохимия: Учебно-методическое пособие для студентов, обучающихся по специальности «Фармация»/ составители: Ю.Н. Боринский, Д.В. Лещенко. Тверь: ТГМА, 2015. 98 с.
7. Efficiency in drug discovery: liver s9 fraction assay as a screen for metabolic stability / Samantha J. Richardson, April Bai, Ashutosh A. Kulkarni and Mehran F. Moghaddam // *J. Drug Metabolism Letters.* 2016. Vol. 10, iss. 2. DOI: 10.2174/1872312810666160223121836.
8. Metabolic hydrolysis of aromatic amides in selected rat, minipig, and human in vitro systems / Bradshaw PR1, Wilson ID1 [et al.] // *Sci. Rep.* – Feb. 5, 2018. Vol. 8 (1). P. 2405. DOI: 10.1038/s41598-018-20464-4.
9. Xenobiotic-metabolizing enzymes in the skin of rat, mouse, pig, guinea pig, man, and in human skin models / F. Oesch, E. Fabian, K. Guth, R. Landsiedel // *Arch Toxicol.* 2014. Vol. 88 (12). P. 2135–2190. DOI: 10.1007/s00204-014-1382-8.
10. Тутаяев К.Ю., Стрыгин А.В., Букатин М.В., Толкачев Б.Е., Морковин Е.И., Колобродова Н.А., Стрыгина А.О., Кузнецова О.Ю., Срослова Г.А., Доценко А.М., Лисина О.А., Кнышова Л.П. Стехиометрические модели метаболизма животной клетки: понятие и применение в биомедицинских исследованиях // *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины.* 2020. Т. 10. № 2. С. 86-94.

ЭПИДИМИОЛОГИЯ И ЖИЗНЕННЫЙ ЦИКЛ ВИРУСА ЛИХОРАДКИ ЗАПАДНОГО НИЛА

Мельник С.В., Звада Е.А., Салова В.В.

ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России – ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский» университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, направление подготовки «Биология», Волгоград, e-mail: melnik_s1996@mail.ru

Вирус Западного Нила является одной из причин вспышек болезней людей и животных на всех континентах, кроме Антарктиды. Патогенез лихорадки Западного Нила широко исследуется на естественных хозяевах, а также на модельных животных, включая грызунов, зайцеобразных, птиц и рептилий. В то же время, отсутствие специфического противовирусного лечения, эффективных и безопасных вакцин способствует сохранению болезни и регулярно возникновению вспышек как в эндемичных, так и в неэндемичных районах.

Вирус Западного Нила (ВЗН) – это развивающийся нейротропный флавивирус, который