

METABOLISMUS TOXICKÝCH LÁTEK V ORGANISMU

BOHUMIL SOUČEK

Ústav pro fyziologii, pathologii a hygienu práce, Praha

PRIŠLO DO REDAKCIE 18. II. 1952

Téměř všechny látky, které vstupují do organismu jakoukoliv cestou — plicemi, zažívací rourou, kůží, krví — podléhají v organismu rozmanitým chemickým změnám, metabolisují se. Organismus je přeměňuje na látky jiné, jednodušší i složitější. Některé z těchto nových látek si ponechává, buď k získání energie, nebo jako součástky pro výstavbu svých tkání. Látky, které organismus zpracovává za tímto účelem, nazýváme potrava; tomuto metabolismu podléhají látky, které jsou organismu nějakým způsobem příbuzné (bílkoviny, cukry, tuky, a j.).

Jiný je metabolismus látek organismu cizích, které mu žádný užitek nepřinášejí. Tyto látky můžeme rozdělit do dvou skupin:

1. Látky indiferentní, které projdou organismem celkem beze změny, ani mu neprospívají, ani mu neškodí. Takových látek bychom našli jen velmi málo; je to na př. vodík, dusík, vzácné plyny, methan — pokud jejich koncentrace není příliš vysoká.

2. Látky škodlivé, toxické, které vyvolávají poruchy některých funkcí organismu i když do něj vniknou množství velmi malém, miligramech i zlomcích miligramu. Sem patří na př. všechna léčiva a samozřejmě všechny průmyslové jedy.

Metabolismus toxických látek v organismu bývá často nazýván také detoxikace škodlivých látek. Tento název je nesprávný. Někdy totiž jsou metabolity látky původně do organismu vniklé toxicitější, než byla látka původní, na př. fenoly, vzniklé z benzenu. Jindy opět metaboliti odebírá organismu některou důležitou složku, na př. aminokyselinu, aby se její pomocí mohl z organismu vyloučit a tím organismu škodí. Termín metabolismus toxických látek je tudíž širší a oprávněnější než termín detoxikace.

Dále je nutno si uvědomiti, že o metabolismu toxických látek mluvíme hlavně u látek organických. Anorganické sloučeniny mají v organismu obvykle vždy osud jednodušší a jejich přeměna bývá průhlednější.

Látka, která vnikne do organismu, může působit toxicky buď sama — na př. sirouhlik, nebo působí její metabolity — na př. fenoly, vzniklé oxydací benzenu. Někdy působí látka v obou fázích — na př. trichlorethylen a z něj vzniklý trichlorethanol.

Cizí látka, která vstoupí do organismu, podléhá v principu přeměně dvojího druhu:

*) Prednesené v Československo-sovietskom inštitúte v Bratislave v rámci prednáškovej činnosti Spolku chemikov na Slovensku, dňa 7. XII. 1951.

1. Látka je v organismu aktivována, t. j. přeměněna na metabolity, které teprve samy působí toxicky. Na př. benzen a fenoly.

2. Látka je v organismu inaktivována, t. j. detoxikována v pravém slova smyslu, přeměněna na metabolity neaktivní, neškodné. Na př. toluen se přeměňuje na neškodnou kyselinu benzoovou.

Konečný osud všech cizích látek do organismu vniklých, látek původních i jejich metabolitů, je eliminace z organismu ven. Toto vylučování se děje několika cestami:

1. Plicemi, výdechem; je možné jen u látek plyných, jako je na př. benzen, sirouhlík, trichlorethylen a pod.,

2. močí,

3. potem,

4. zažívacím traktem.

Cestou vyjmenovanou za 3. a 4. se vylučuje obvykle jen nepatrný zlomek zadržené látky, takže v celkové bilanci metabolismu uvažované látky můžeme obě tyto eliminační cesty zanedbat. Vylučování plicemi je již významnější. Zhruba můžeme odhadnouti, že se takto vyloučí z těla asi 20% původně zadržného množství. Eliminace plicemi přichází v úvahu jen na počátku zadržování toxického plynu, pokud tento koluje v krvi nepřeměněn. Jakmile se přemění na pevné metabolity, vylučování plicemi ustane a hlavní vylučovací cestou se stávají ledviny a jimi produkovaná moč.

Vylučování močí je opět několikeré:

1. Látka se vylučuje v původní formě, ve které do organismu vstoupila, tedy nepřeměněná. Takto se odstraní z organismu obvykle jen nepatrné množství látky původně v organismu zadržené.

Podle našich pokusů činí eliminace tímto způsobem vždy jen zlomek procenta ze zadržného množství, obvykle asi 0,05—0,2%. Je to vždy jen ta část látky, která unikne metabolické přeměně:

2. Vylučují se metabolity látky do organismu vniklé. Na př. u benzenu fenoly, u trichlorethylenu kyselina trichloroctová a pod. V tomto případě vylučování je opět dvojitá možnost: metabolity se vylučují samotné, jako na př. kyselina trichloroctová, nebo se metabolity vylučují vázané, konjugované, na př. na kyselinu sírovou, glukuronovou, na glykokol a pod.

Pro posouzení toxicity látky a k utvoření správného obrazu o jejím osudu v organismu je důležité znáti rychlost, se kterou se látka z organismu vylučuje. Ať se jedná o vylučování plynů plicemi, nebo o vylučování rozpuštěných látek močí, je rychlost a vyloučené množství v obou případech závislé na koncentraci uvažované látky v krvi a je řízeno stejnou rovnicí:

$$C = C_0 e^{-kt}$$

Grafickým znázorněním uvedené rovnice je exponenciální křivka. V rovnici značí C pozorovanou koncentraci v čase t , C_0 je kon-

centrace v čase nulovém, t. j. na začátku pozorování, k je rychlostní konstanta charakterisující daný případ vylučování. Uvedená rovnice umožňuje nám vypočítati řadu dalších konstant, které charakterisují uvažovaný případ vylučování, i některé další vztahy. Tak na př. podle

rovnice $P = \frac{0,693}{k}$ můžeme vypočísti dobu P , kterou bychom mohli nazvat

doba polovičního poklesu koncentrace. Je to doba, za kterou určitá koncentrace klesne na polovinu své hodnoty. Tato konstanta je pro posouzení rychlosti vylučování názornější, než rychlostní konstanta k a je pro nás důležitá také proto, že nás orientuje o době, za kterou se pozorovaná koncentrace sníží na hodnotu prakticky nulovou, t. j. na tisícinu původní své hodnoty. Tato doba je dána výrazem $10 P$. Pomocí konstanty k můžeme také vypočísti kvantum vyloučené látky a to buď v celém rozsahu pozorování od začáteční koncentrace C_0 až do nekonečna podle vztahu:

$$S = \frac{C_0}{k}$$

nebo v rozmezí mezi počáteční koncentrací C_0 a koncentrací po uplynutí času t podle vztahu:

$$S_t = \frac{C_0}{k} \left(1 - \frac{1}{e^{kt}}\right)$$

Znalost všech těchto vztahů, které lze z výše uvedené rovnice jednoduše odvoditi, umožnila nám přesný pohled na kvantitativní bilanci látek do organismu vniklých i na způsob vylučování jejich metabolitů.

Organismus detoxikuje cizí látku několika chemickými pochody, z nichž nejdůležitější jsou tyto:

1. Oxydace. Alkoholy se oxydují na aldehydy a dále na karbové kyseliny; methylová skupina se oxyduje na karboxyl; aromatické uhlovodíky se mění na fenoly.

2. Redukce. Aldehydy se redukují na alkoholy, nitroderiváty na aminoderiváty.

3. Methylace. Na př. pyridin se tak převádí na methylpyridin.

4. Tvorba protilátek. Tímto způsobem se zneškodňují cizorodé bílkoviny, vniklé do organismu; praktické použití v imunologii.

5. Reakce kondensační.

6. Vazba na kyselinu sírovou, glukuronovou, glykokol případně i jinak.

Často je některý z těchto pochodů provázen vznikem nebo zánikem dvojně vazby, často i přestavbou celé molekuly. Tak na př. u aromatických látek dochází k rozštěpení benzenového kruhu. Obyčejně se též látka detoxikuje několika způsoby souběžně.

Vlivy a osudy látky v organismu se studují nejčastěji na pokusných zvířatech, na myších, krysách, morčatech, králících, psech, opicích. Výsledky z těchto pokusů je možné přenášet na člověka jen s opatrností, poněvadž zvířata někdy metabolisují jinak, než člověk. Pokusy mají význam jen orientační. Pravý obraz o osudu látky v organismu lidském získáme přirozeně jen pokusy, prováděnými na lidech.

Při svých pokusech užíváme různých dávek toxické látky a dávky aplikujeme různým způsobem. Buď dáváme dávku jednorázovou, na př. v injekci, nebo necháme pokusný objekt vdechnouti jednu určitě velikou dávku toxického plynu. Nebo užíváme dávek prolongovaných, t. j. necháme vdechovati po delší dobu, několik hodin, často i opěťovaně po několik dní za sebou.

Velikost aplikované dávky se řídí pokusným objektem a účelem pokusu. Při pokusech se zvířaty užíváme relativně vyšších dávek, než při pokusech s lidmi.

Dávky veliké, která vede k usmrcení pokusného zvířete, užíváme tam, kde sledujeme toxicitu zkoušeného preparátu. Po usmrcení zvířete analyzujeme jednotlivé orgány a sledujeme rozložení toxické látky, příp. její affinitu k jednotlivým tkáním.

Malých dávek užíváme v pokusech na lidech a sledujeme při nich hlavně způsob a rychlost přeměny a vylučování látky samé nebo jejích metabolitů.

V pokusech, které jsme prováděli v ústavu pracovního lékařství v Praze, zabývali jsme se otázkami vstřebávání a přeměny benzenu, toluenu, sirouhlíku a trichlorethylenu u člověka. Tyto látky jsme volili ke svým výzkumům v první řadě proto, že jsou značně toxické a hojně používané v průmyslu. Je tudíž důležité znáti jejich osud v organismu co nejpodrobněji, abychom získali předpoklady k účinné obraně proti nim.

Při provádění pokusu s kteroukoliv toxickou plynnou látkou sledujeme její chování v organismu ve dvou fázích:

1. Ve fázi sycení organismu toxickým plynem. v saturaci; probíhá při vdechování noxy.

2. Ve fázi, ve které se organismus zbavuje zadržené látky, příp. jejích metabolitů; nazýváme ji desaturací. Probíhá po skončení vdechování toxické látky.

V saturaci si všímáme hlavně toho, jak probíhá zadržování toxického plynu v organismu. Podle svých pokusů víme, že část vdechnutého plynu se vydechne, část se přeměňuje na látky jiné, metabolisuje se, a části se nasycuje organismus. Kdybychom vdechovali plyn, který se v organismu nepřeměňuje (na př. radon), nasýtil by se jím organismus za určitou dobu, jejíž délka je odvislá od rozpustnosti plynu ve tkáních. Při vdechování látky málo rozpustné nastalo by nasycení organismu brzy (v několika minutách), a naopak, při vdechování látky značně rozpustné trvalo by sycení delší dobu (několik hodin). Vdechujeme-li

plyn, který je v organismu schopen metabolické přeměny, jako je na př. benzen, sirouhlik, trichlorethylen a pod., probíhají současně vedle sebe dva pochody: sycení organismu a metabolismus. Rychlost obou těchto dějů je různá podle použitého plynu. Na př. v případě sycení sirouhlikiem trvá nasycení organismu dospělého člověka asi 5 hodin, u trichlorethylenu asi 3 hodiny. Množství plynu, které se do organismu přivádí nad toto množství nutné k nasycení těla, podléhá metabolismu. Ze svých pokusů jsme mohli odvodit, jaká množství sirouhliku a trichlorethylenu se metabolisují v každé časové jednotce po nasycení organismu těmito látkami a mohli jsme ukázat, že je určitý vztah mezi množstvím látky, přeměněné za jednotky doby a mezi množstvím látky, které do organismu vstupuje z atmosféry. Tento poměr, nazvaný „metabolisační koeficient“, je, zdá se, charakteristický pro určitou látku a pro určitý organismus. U sirouhliku je tento koeficient v průměru 2,4, u benzenu 3,2, u toluenu a trichlorethylenu 5,4. Individuelní odchylky nejsou veliké. Nízký metabolisační koeficient značí, že organismus metabolisuje podávanou látku málo, koeficient vysoký naopak ukazuje na mohutnou metabolisační schopnost organismu. Domníváme se, že pomocí těchto koeficientů bude možno charakterisovat jednak jednotlivé toxické látky, pravděpodobně i co do stupně jejich toxicity na určité organismy, jednak i schopnosti různých organismů tyto přeměňovat na látky jiné.

Po skončení vdechování nastává desaturace, t. j. organismus se zbavuje onoho množství zadržené cizí látky, kterým se nasytil v saturaci, t. j. které se rozpustilo ve tkáních. Hlavní desaturační cesty jsou — jak již bylo shora vzpomenuto — výdech plicemi a vylučování močí.

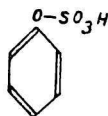
Benzen

Fáze saturační. Z vdechnutého benzenu si člověk zadrží během pětihodinového vdechování prům. 46%; ostatek vydechne zpět do ovzduší.

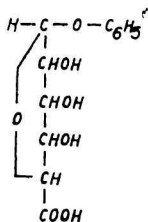
Fáze desaturační. Ze zadržného benzenu vydechne člověk prům. 16% v době 5—9 hodin. Současně se vylučuje benzen volný močí, ale v množství zcela nepatrném, asi 0,1%; vylučování trvá 25—80 hodin. Ostatek, prům. 84%, se tudíž v organismu metabolisuje a jednotlivé metabolity se vylučují močí z organismu ven.



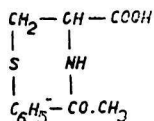
I. Kyselina mukonová



II. Kyselina fenylsírová



III. Kyselina fenylglukuronová



IV. Kyselina fenylmerkapturová
(vylučuje se jako acetylderivát)

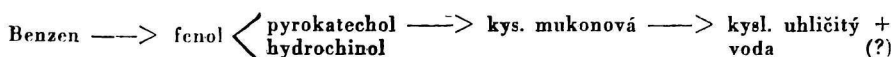
Jedním z hlavních metabolitů benzenu je fenol. Průměrně 29% zadržného benzenu se takto přemění. Asi 3% se metabolisují na pyrokatechol a jen asi 1% na hydrochinol. Dalším metabolitem je kyselina mukonová (I), jejíž množství není dosud přesně známo. Její vznik je velmi zajímavý, znamená totiž, že benzenový kruh praská mezi oběma uhlíky, na nichž jsou navázány hydroxylové skupiny pyrokatecholu, a rozvíjí se do alifatického řetězce. Jako další možné metabolity se předpokládá kyslíčník uhlíčitý a voda, které vznikají pravděpodobně úplnou oxidací některého z vyjmenovaných metabolitů, snad z kyseliny mukonové.

Všechny z uvažovaných metabolitů se vylučují močí jednak volně, jednak vázané. Fenol se vylučuje jako kyselina fenylsírová (II), fenylglukuronová (III) a fenylmerkapturová (IV). Posléze jmenovaný způsob vylučování fenolu představuje zásah do metabolismu sírných aminokyselin a tudíž zásah pravděpodobně velmi významný, kterým se organismus ochuzuje o aminokyselinu, která je důležitá v řadě životních procesů.

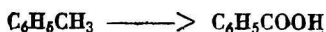
Ostatní difenoly se vylučují jako sírany a glukuronidy.

Není dosud zjištěno, zda oxidací benzenu na fenoly provádí nějaká zvláštní oxydasa, nebo zda ji způsobují oxydasy běžné v organismu přítomné. Rovněž není známo místo, kde se tato oxydace děje, zda jsou to játra nebo zda oxydace probíhá i v buňkách jiných orgánů.

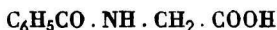
Schematický přehled metabolismu benzenu je tudíž asi tento:



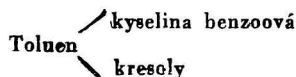
Homolog benzenu, *toluen*, má metabolismus podstatně jednodušší. Jeho kvantitativní osudy v organismu jsou v principu stejné jako u benzenu. V saturaci činí zadržování průměrně asi 50%, v desaturaci se vydechne plicemi průměrně asi 20% ze zadržného množství v době 5–7 hodin, močí se vyloučí asi 0,06% a ostatek, asi 80%, se metabolisuje. Dokázaným metabolitem je kyselina benzoová, která vzniká prostou oxidací methylové skupiny toluenu:



Benzoová kyselina se vylučuje močí vázána na glykokol jako kyselina hippurová, benzoylglykokol:



Je pravděpodobné, že vznikají též jiné metabolity, na př. kresoly, které se vylučují vázány na kyselinu sírovou a glukuronovou. Úplná kvantitativní bilance metabolismu toluenu není dosud známa. Schema přeměny je asi toto:

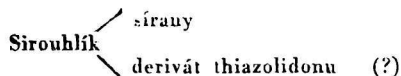


Sirouhlík

Toxickému působení a metabolismu této látky byla věnována až dosud velmi značná práce a hojně času a přesto není dosud bezpečně úplně znám ani mechanismus jeho působení, ani jeho metabolismus. Nápadná jest jeho affinita k nervovému systému, mozku i periferním nervům.

Ze sledování jeho kvantitativní bilance vyplynulo, že v saturaci se zadrží průměrně asi 45% z vdechnutého sirouhlíku. Ze zadrženého se v desaturaci vydechne jen průměrně 6% zpět, močí se vyloučí opět jen nepatrný zlomek, asi 0,5%, takže převážná většina zadrženého, asi 94%, podléhá v organismu přeměně na jiné látky. Pokusy se sirouhlíkem obsahujícím radioaktivní isotop síry S^{35} ukázaly, že asi 30% ze zadrženého sirouhlíku se přemění na síran prostou oxidací, což se projeví stoupanutím anorganických síranů v moči po vdechování sirouhlíku. Osud zbývajících 70% zadrženého sirouhlíku není dosud znám. Zdá se však velmi pravděpodobným, že se tento sirouhlík slučuje s některou aminokyselinou, nebo dipeptidem nebo s amidem některé aminokyseliny na cyklický derivát pětičlenného thiazolidonu. Důkaz tohoto předpokladu není dosud bezpečně proveden.

Schema přeměny je asi takové:

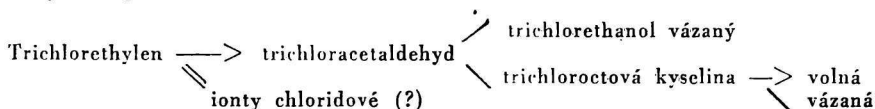


Další z toxických plynů, námi sledovaných, *trichlorethylen*, je látka, která si vynucuje stále větší pozornosti. Je hojně užíván v průmyslu, v poslední době též jako inhalační narkotikum. Podle starších názorů není trichlorethylen příliš toxický. Dnes však se již nepovažuje za látku zcela nevinou. V sovětském svazu uvažují již dokonce o tom, neuzívat ho nadále k odmašťování kovových předmětů a navrhuji užívat místo něj jiné, skutečně neškodné látky, které by odstraňovaly tuk nikoliv rozpouštěním, nýbrž emulgováním, takže by se pak vrstva tuku mohla smýti pouhou vodou.

Podle našich pokusů zadržuje organismus v saturační fázi asi 56% z nabízeného trichlorethylenu. V desaturaci se vyloučí průměrně 19% plicemi v době 6—47 hodin, asi 0,2% močí v době 1—13 hodin, takže asi 81% podléhá metabolické přeměně. Dosud nejlépe probádaným metabolitem je kyselina trichloroctová. V této formě se vyloučí průměrně 16% zadržného trichlorethylenu. Nápadná je zde dlouhá doba vylučování, 15—30 dní po skončeném vdechování trichlorethylenu. Délka vylučování je v závislosti na množství vdechnutého a zadržného trichlorethylenu, a tudíž také na množství vzniklé kyseliny trichloroctové. Není známa příčina tohoto prodlouženého vylučování. Je možné, že nastává zpětná resorpce kyseliny trichloroctové v tubulech ledvin nebo se kyselina pozvolna uvolňuje z vazby na bílkoviny krevní plasmy, nebo z vazby na červené krvinky.

Vedle volné kyseliny trichloroctové je nutné, aby vznikaly ještě další metabolity, kterých musí být průměrně čtyřikrát více než kyseliny trichloroctové. Není dosud bezpečně známo, které metabolity by to mohly být. V úvahu přicházejí: 1. kyselina trichloroctová vázaná, snad na kyselinu glukuronoovou nebo na glykokol; nebo 2 trichlorethanol, který by se musel vylučovati vázaný opět na některou z jmenovaných kyselin. Skutečně jsme pozorovali, že po hydrolyse moči, v níž je obsažena kyselina trichloroctová, získáme látku, která dává stejná barevné reakce jako kyselina trichloroctová, a to v množství zhruba dvakrát větším než bylo množství kyseliny trichloroctové volné. Látka však není dosud přesně identifikována. 3. Konečně je možný ještě další způsob metabolismu trichlorethylenu, t. j. úplné rozbití jeho molekuly, při čemž by se chlor musel uvolňovati jako chloridové ionty.

Schematické znázornění všech těchto možných přeměn trichlorethylenu je asi toto:



Trichloracetaldehyd je přechodný produkt, který v organismu nezůstává, ale ihned se přeměňuje dále; nelze ho tudíž v organismu dokázat.

Po stránce theoretické je přeměna trichlorethylenu zajímavá tím, že při ní dochází k přestavbě celé molekuly, při které mizí dvojná vazba a jeden atom chloru se přemísťuje na druhý uhlík, k oběma dalším chlorovým atomům:



Tento přesmyk, který v organismu hladce probíhá, se nepodařilo dosud napodobit v pokusu in vitro.

Z á v ě r

Všemi těmito pokusy sledujeme jediný cíl: pozmati co nejdokonaleji všechny změny, jímž látka v organismu podléhá, abychom výsledků

mohli pak prakticky použít v obraně proti škodlivému působení uvažované látky. Budeme-li vědět, které metabolity a v jakém množství z látky vznikají, budeme moci také proti nim zakročit. Jsou-li tyto metabolity neškodné, není třeba se o ně starat; jsou-li toxické, je nutné nalézt způsob, jak je zneškodnit, na př. navázáním na jinou látku. Případně bude možno tuto látku organismu předem podávat, na př. kyselinu glukuronovou nebo glykokol, aby metabolity ji organismu neoděbíraly a tím jej nepoškozovaly. Podle stupně toxicity metabolitů a podle množství, v jakém v organismu vznikají, bude možno také upravit nejvyšší dovolené koncentrace plynných jedů v ovzduší pracovišť.