

**Merke**

Die Pharmako- resp. Toxikokinetik von Fremdstoffen ist nicht nur stoffspezifisch, sondern auch spezieabhängig.

6

## 6.2 Verteilung

In Tieren werden aufgenommene Stoffe mit dem Blutstrom (oder der Hämolymphe bei niederen Tieren) im Körper verteilt. Auf ihrem Weg passieren sie Bereiche, zu denen sie aufgrund ihrer physikalisch-chemischen Eigenschaften eine besondere Affinität besitzen. Die Verteilung der Fremdstoffe ist von ihrer *Membrangängigkeit* abhängig. **Lipophile Chemikalien** binden an **Serum- oder Plasmaproteine** des Blutes (Albumin, Globulin oder andere Transportproteine) und gelangen in lipidreiche Kompartimente. Metalle lagern sich z. B. an spezifische **Transportproteine** (Kupfer z. B. an Ceruloplasmin), Lipoproteine binden neben Vitaminen und Steroiden auch lipophile Fremdstoffe. Der Stoffaustausch vom Blut in die Organe erfolgt durch *passive Diffusion*. Solange die Fremdstoffe an Plasmaproteine gebunden sind, können sie nicht in die Gewebe diffundieren. Deshalb wirken diese Proteine als *Speicher*. **Hydrophile Stoffe** bauen ihre höchste Konzentration in den wässrigen Anteilen des Blutes und der Zwischenräume auf. Erst später gelangen sie ins weniger durchblutete Fettgewebe. Die Verteilung von Fremdstoffen wird damit durch die Fließgeschwindigkeit der *Körperflüssigkeit* und *Affinität* des Stoffes zu einzelnen Kompartimenten beeinflusst.

Solange Fremdstoffe im Fettgewebe in nicht verfügbarer Form gespeichert werden, haben sie keine toxische Wirkung (es sei denn auf das Fettgewebe). Bei einem plötzlichen Abbau und Zehrung der Fettreserven, eine bei Tieren verbreitete, meist saisonale Erscheinung (Hungerperiode), können toxische Wirkungen auftreten, da der gespeicherte Fremdstoff *freigesetzt* wird. Diese **Schadstoffmobilisierung** wurde z. B. bei Tieren beobachtet, die chronisch mit Organochlor-Pestiziden belastet waren.

Schon während des Transports, vor allem aber in bestimmten Geweben und Organen (Leber), werden Fremdstoffe umgeformt und *metabolisiert*, bevor sie schließlich ausgeschieden werden. Falls der Metabolismus bedeutend ist und damit eine Entgiftung erfolgt, ist die Bioakkumulation in der

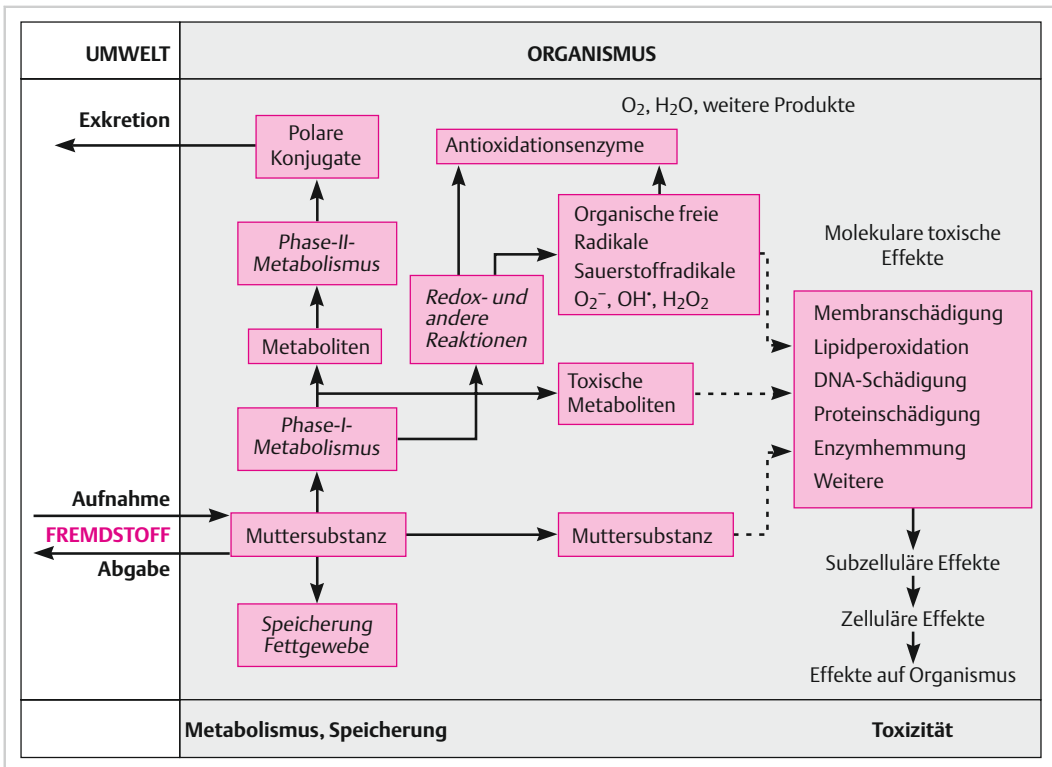
Regel gering: Die Fremdstoffe werden genügend schnell abgebaut und eliminiert. Damit können der *Metabolismus* und die *Ausscheidungsprozesse* der Bioakkumulation und auch der Toxizität *entgegenwirken*.

## 6.3 Stoffwechsel von Umweltchemikalien: Biotransformation und Metabolismus

Für eine effiziente Ausscheidung von Fremdstoffen aus dem Organismus müssen Stoffwechsel-Mechanismen vorhanden sein, die in der Lage sind, nicht oder schlecht ausscheidbare *lipophile* Stoffe in gut ausscheidbare *hydrophile* Stoffe umzuwandeln. *Nur wasserlösliche (polare) Stoffe können den Organismus verlassen*. Bei fettlöslichen (apolaren) Substanzen bestünde die Gefahr, dass sie im Körper verbleiben und sich im Fettgewebe anreichern. Der Organismus besitzt daher biochemische Systeme, die eine Vielzahl von *fettlöslichen Substanzen in wasserlösliche* (hydrophile) Moleküle umwandeln, die leichter ausgeschieden werden als die Muttersubstanz. Bei fehlendem oder geringem Metabolismus werden diese akkumuliert (Kap. 7. S. 197).

**Fremdstoffmetabolisierende Enzyme** mit *breitem Substratspektrum* treten besonders bei höheren Organismen auf. Über die Biotransformation von Fremdstoffen bestehen gute Kenntnisse bei Säugern, Kenntnislücken bestehen jedoch insbesondere bei niederen Tieren und Pflanzen. Die Biotransformation führt selten zum vollständigen Abbau der Substanz, d. h. zu CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub>O (außer bei Bakterien), sondern zu modifizierten, meist weniger aktiven Molekülen, die ausgeschieden werden. Fremdstoffe werden i. d. R. durch Biotransformation *entgiftet*. Hingegen gibt es auch den umgekehrten Fall, dass durch den Stoffwechsel erst toxische Stoffe entstehen (**Bioaktivierung**).  
 ► Abb. 6.7 fasst die Stoffwechselprozesse im Tier im Zusammenhang mit der Toxizität zusammen.  
 ► Abb. 6.8 zeigt am Beispiel von Phenol die im Fisch gebildeten Metaboliten. Die Aufgabe und das **Ziel** des Fremdstoffwechsels sind damit:

1. Verbesserung der Wasserlöslichkeit zum Zwecke der Ausscheidung: Lipophile Verbindungen werden in hydrophile umgewandelt
2. Entgiftung und Inaktivierung von Fremdstoffen.



**Abb. 6.7 Schicksal von Fremdstoffen im Tier im Zusammenhang mit der Toxizität.** Sie werden nach der Aufnahme in Phase-I- und Phase-II-Reaktionen metabolisiert und eliminiert. Jedoch können lipophile Stoffe auch gespeichert werden. Umweltchemikalien können aber auch zu toxischen Metaboliten aktiviert werden. Im Weiteren ist die Bildung von Radikalen und reaktiven Metaboliten möglich. Diese Prozesse können zu molekularen toxischen Reaktionen führen.

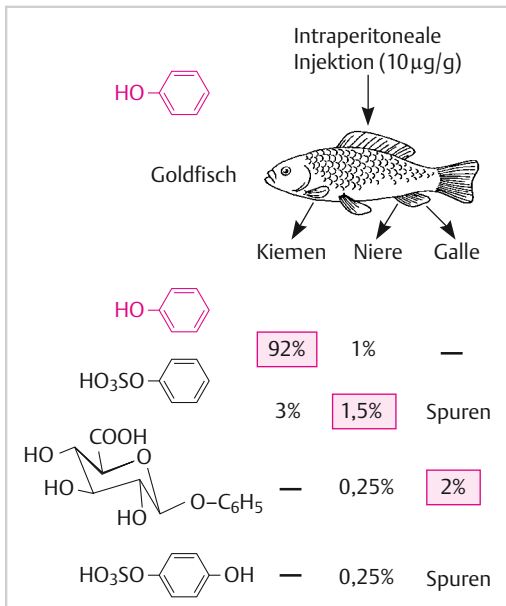
### Merke

Unter dem Fremdstoffwechsel (Biotransformation) verstehen wir die metabolische Umwandlung von (lipophilen) Fremdstoffen zu wasserlöslichen Produkten, in der Regel mit Hilfe von Enzymen. Dies geht meist mit einer **Entgiftung** einher. Die Biotransformation ist in der Regel notwendige Voraussetzung für die Ausscheidung aus dem Körper.

Bei Mensch und Wirbeltier findet die Biotransformation überwiegend in der **Leber** statt, bei Invertebraten (Mollusken, Krebsen und Spinnen) in der **Mitteldarmdrüse (Hepatopankreas)**, die dieselbe Funktion hat. Jedoch sind auch andere Gewebe zu Biotransformationsreaktionen befähigt, vor allem **Niere** und **Lunge**, wenn auch meist in geringerem Maß. Die Biotransformationsaktivität ist

von verschiedenen Faktoren wie *genetische Prädisposition, Ernährung, Geschlecht, Jahreszeit* etc. abhängig. Diese Faktoren sind denn auch für die inter-individuellen Unterschiede mitverantwortlich und erklären oft auch die Unterschiede in der Empfindlichkeit auf Fremdstoffe (Kap. 6.3.5, S. 188).

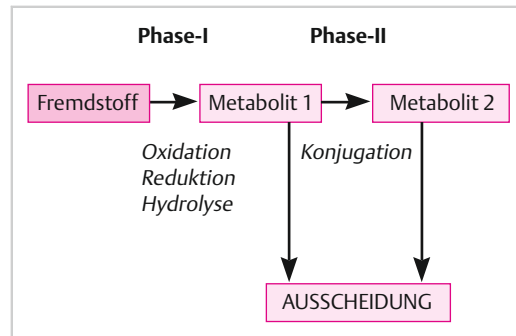
Die Vielzahl der Biotransformationsreaktionen können in zwei Klassen oder Phasen eingeteilt werden, die meist chronologisch von Fremdstoffen durchlaufen werden. In einer ersten Phase (**Phase-I-Reaktion**) werden Fremdstoffe umgebaut und entgiftet, um dann in einer zweiten Phase (Phase-II-Reaktion) so verändert zu werden, dass die Metaboliten über eine Konjugationsreaktion wasserlöslich gemacht und ausgeschieden werden (► Abb. 6.9). Phase-I-Reaktionen verlaufen meist im *endoplasmatischen Reticulum*, Phase-II-Reaktionen finden hingegen im *Cytosol* der Zelle statt. Bei den **Phase-II-Reaktionen** handelt es sich um Kon-



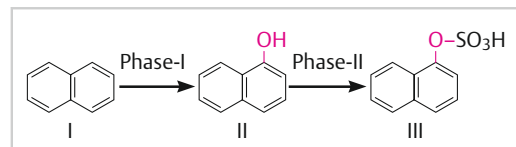
**Abb. 6.8** Im Fisch ausgeschiedene Metaboliten von Phenol nach intraperitonealer Injektion (in die Bauchhöhle). Neben Phenol werden sulfatierte und glucuronierte Metaboliten ausgeschieden (nach Nagel 1981).

**jugationsreaktionen:** die in der Phase-I gebildeten Metaboliten werden mit einem Molekül verbunden (synthetische Reaktion). Dies ermöglicht eine bessere Ausscheidung, weil die Moleküle polarer geworden sind. Das Zusammenwirken der beiden Phasen lässt sich bei der Biotransformation von Naphthalin beispielhaft verfolgen (► Abb. 6.10).

Der Metabolismus eines Fremdstoffes ist abhängig vom jeweiligen Spektrum und der Aktivität fremdstoffmetabolisierender **Enzyme**. Biotransformationsreaktionen werden generell von Enzymen katalysiert, die eine **breite Substratspezifität** besitzen, d. h. sie reagieren mit einer ganzen Reihe von verschiedenen Molekülen (dies im Gegensatz zum normalen Stoffwechsel, wo Enzyme mit hoher Substratspezifität auftreten). Solche Enzyme wandeln nur Fremdstoffe um. Es gibt aber auch Enzyme wie z. B. die Alkoholdehydrogenase, die Fremdstoffe als Alternative zu endogenen Substanzen umwandeln. Neben der Möglichkeit, viele verschiedene Substrate umzusetzen, haben fremdstoffmetabolisierende Enzyme auch **geringe Um-**



**Abb. 6.9** Fremdstoffmetabolismus verläuft in zwei Phasen. Metaboliten der Phase-I oder Phase-II können über entsprechende Organe ausgeschieden werden.



**Abb. 6.10** Biotransformation des Erdölinhaltsstoffes Naphthalin in Flundern. In der Phase-I-Reaktion wird Naphthalin (I) durch eine Cytochrom P<sub>450</sub>-abhängige Monooxygenase zu 1-Hydroxynaphthalin (II) oxidiert. In der Phase-II-Reaktion wird der Metabolit durch eine Sulfatase zu 1-Naphthylsulfat (III) umgewandelt und schließlich ausgeschieden.

**satzgeschwindigkeiten**, welche um Größenordnungen niedriger sind als die anderer Enzyme. Die geringen Enzymaktivitäten werden aber durch **hohe Enzymkonzentrationen** wettgemacht. Weiter ist wichtig, dass Speziesunterschiede auf einem unterschiedlichen Fremdstoffmetabolismus beruhen können (Zusatzinfos 6.1, S. 169 und Zusatzinfo 6.6, S. 189).

Oft sind im Fremdstoffwechsel Isoenzyme von Enzymen beteiligt, die eine Bedeutung im normalen Zellmetabolismus haben. So haben bestimmte Formen von Cytochrom P<sub>450</sub>-abhängigen Monooxygenasen (CYP) wichtige **endogene** Funktionen wie die Oxidation von Testosteron oder Prostaglandinen. Diese Stoffwechsel-Enzyme besitzen eine **hohe Selektivität**, ganz im Gegensatz zu den CYP-Formen, die am Fremdstoffwechsel beteiligt sind und viele Substrate umsetzen (breite Substratspezifität).

## Zusatzinfo

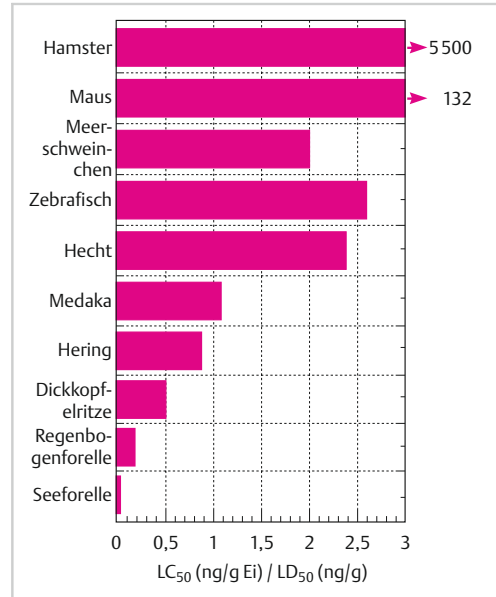
**6.1 Toxikokinetik sowie Speziesunterschiede in Metabolismus und Toxizität von Polychlor-dibenzo-1,4-dioxinen (PCDD) und -furanen (PCDF)**

PCDD und PCDF (S. 14) sind stark lipophil. Insbesondere das Seveso-Gift (S. 16), 2,3,7,8-Tetrachlordibenzo-1,4-dioxin (TCDD), ist *extrem stabil* gegenüber dem Abbau in Umwelt und Organismus. Daher führt PCDD und PCDF zu starker Akkumulation in der Nahrungskette. Die Sorption an Partikel, Boden und Sediment reduziert jedoch ihre **Bioverfügbarkeit**. Tetrachlor- bis Hexachlor-Kongenerne sind zu 25 – 50% aus dem Boden verfügbar, wohingegen die lipophileren, höher chlorierten Kongenerne nur zu etwa 10% verfügbar sind.

Der Mensch nimmt 90 – 95% der Dioxine und Furanen über die Nahrung auf. Die **Verteilung** im Körper, Metabolismus und Elimination sind stark speziesabhängig. Die **Speziesunterschiede** (auch in der Toxizität) beruhen unter anderem auf der unterschiedlichen Bindung an den Ah-Rezeptor und weiteren Faktoren. Leber und Fettgewebe sind die Hauptspeicherorte. Die **Biotransformation** ist wie jene von PCB stark vom Muster der Chlor-Substituenten abhängig. In der Regel sind nur die 2,3,7,8-substituierten Kongenerne im Körper extrem persistent, bei Krebstieren und Meerschweinchen gilt dies jedoch auch für weitere Kongenerne. Der geringe Metabolismus ist mit der *hohen Toxizität* korreliert, welche auf der *Bindung an den Ah-Rezeptor* beruht. Die Biotransformation ist durch Oxidationen und reduktive Dechlorierungen gekennzeichnet. Verschiedene Kongenerne, insbesondere die 2,3,7,8-substituierten, bewirken eine starke und langanhaltende Induktion von hepatischen P<sub>450</sub>-Enzymen (CYP1A1 und CYP1A2) und Phase-II-Enzymen (UDP-Glucuronyltransferase, DT-Diaphorase, Glutathiontransferase).

Der Metabolismus der 2,3,7,8-Tetrachlor-Derivate ist beim Meerschweinchen extrem langsam, was wahrscheinlich auf der geringen Aktivität und Induzierbarkeit von CYP-Enzymen beruht. Die Halbwertszeiten liegen bei Säugern zwischen einigen bis 100 Tagen, beim Menschen hingegen bei 8 – 10 Jahren! Höher chlorierte Kongenerne werden noch schlechter ausgeschieden. Die **Elimination** ist damit beim *Menschen* extrem langsam. Hingegen

wurde bei der Vergiftung von V. Juschtschenko, also bei hohen Konzentrationen, eine schnellere Elimination beobachtet.



Fisch- und Säugetierarten zeichnen sich durch **ausgeprägte Empfindlichkeitsunterschiede** gegenüber TCDD aus (Abbildung, nach Hahn, 2006). Allgemein sind z. B. *Fische* gegenüber PCDD sehr empfindlich. Frühstadien von Seeforellen reagieren am empfindlichsten auf TCDD mit einem LC<sub>50</sub>-Wert von 47 – 80 pg/g pro Ei. Wichtiges **Zielorgan** beim *Fischembryo* ist das **Herz-Kreislaufsystem**. Forellenlarven zeigen ausgeprägte Effekte mit Ödemen, Hämorrhagien und Deformationen des Schädels, welche auch auf Entwicklungseffekte hinweisen. Zudem wird in den Epithelien von Blutgefäßen CYP1A induziert. Fische haben einen zweiten AhR, auf dem die Entwicklungseffekte beruhen. Die molekulare Basis für die Speziesunterschiede liegt in Unterschieden in der Toxikokinetik, im Metabolismus und der Bindung an den AhR.

6.3.1 Phase-I-Reaktionen

Die Phase-I-Reaktionen umfassen vor allem *Oxidationen*, *Reduktionen* und *Hydrolysen*, die in der Regel enzymatisch erfolgen. Die Reaktionsprodukte (Metaboliten) werden meist in der Phase-II enzymatisch konjugiert. Wichtigste Aufgabe der Phase-I-Reaktionen, die vor allem in der Leber, aber auch in extrahepatischen Organen und Geweben (z.B. Niere, Lunge) auftreten, ist die *Einführung* bzw. *Freisetzung* funktioneller Gruppen wie -OH, -SH, -NH<sub>2</sub> und -COOH (► Abb. 6.11). In extrahepatischen Geweben läuft die Oxidation wesentlich langsamer ab. Die erhaltenen funktionellen Gruppen erlauben den Phase-II-Enzymen, endogene Moleküle zu koppeln, damit sie als wasserlösliche Konjugate ausgeschieden werden können. Beispielsweise wird *Benzol* in der Phase-I zu Phenol oxidiert und nach Reaktion mit einem Zucker-Derivat (Glucuronsäure) als wasserlöslicher Ester (Phenylglucuronid) ausgeschieden (► Abb. 6.24, S. 187).

Die wichtigsten Fremdstoff-metabolisierenden Enzyme der Phase-I sind im **endoplasmatischen Reticulum (ER)** der tierischen Zelle lokalisiert (mikrosomale Enzyme). *Mikrosomen* sind winzige Membranvesikel, die hauptsächlich aus Membran-

fragmenten des endoplasmatischen Reticulums bestehen und bei der Homogenisation und schrittweisen Zentrifugation von Geweben (Leber) als Zellfraktion (bei 100 000 g) entstehen.

**Oxidationen** sind die wichtigsten Phase-I-Reaktionen (► Abb. 6.11). Sie werden durch *Cytochrom P<sub>450</sub>-abhängige Monooxygenasen* (CYP), *flavin-abhängige Monooxygenasen* (FMO) sowie durch *Peroxidasen* (Prostaglandinsynthase) katalysiert. Die größte Bedeutung im gesamten Stoffwechsel haben membrangebundene CYP, die hauptsächlich in der *Leber* von Vertebraten und leberähnlichen Geweben bei Invertebraten (Hepatopankreas), aber auch in anderen Organen auftreten. Oxidationen werden aber auch durch Enzyme in Mitochondrien und im Cytosol der Zelle katalysiert.

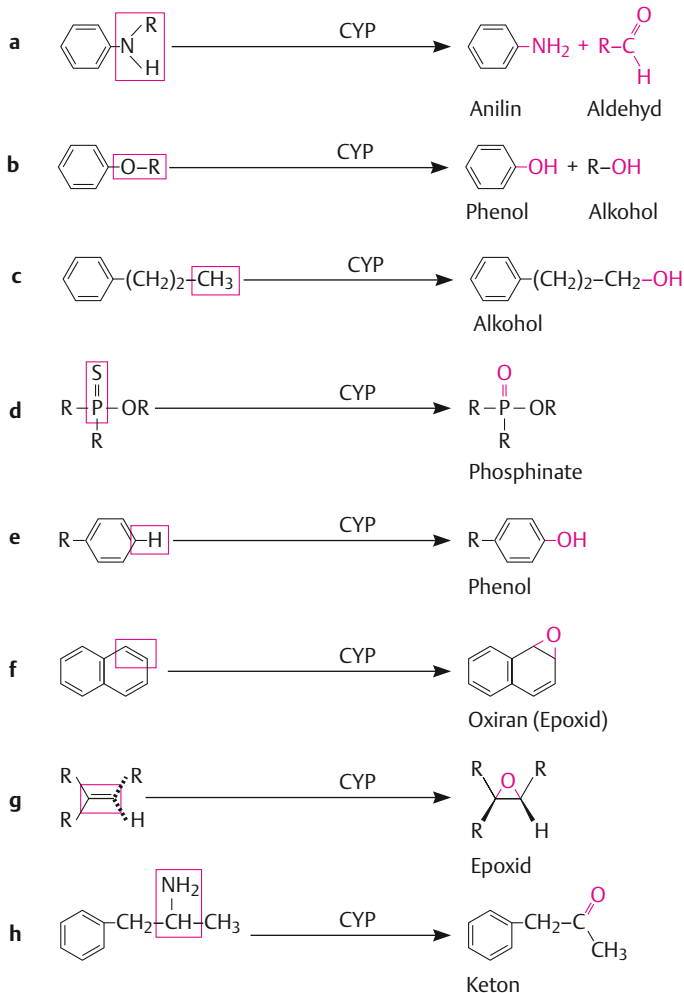
6.3.2 Cytochrom P<sub>450</sub>-abhängige Monooxygenasen (CYP)

Die bei praktisch allen Organismen gefundenen Cytochrom P<sub>450</sub>-abhängigen Monooxygenasen spielen eine *entscheidende Rolle im Fremdstoff-*

Tab. 6.2 Fremdstoffmetabolisierende Enzyme und biochemische Reaktionen beim Tier

| Reaktion                    | Organ, Organell | Enzym                               | Fremdstoffe                                                          |
|-----------------------------|-----------------|-------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| <b>Phase-I-Reaktionen</b>   |                 |                                     |                                                                      |
| Oxidation                   | Mikrosomen      | Monoxygenasen Peroxidasen           | viele organische Stoffe                                              |
|                             | Mitochondrien   | Monoaminoxidase                     |                                                                      |
|                             | Cytosol (Leber) | Alkoholdehydrogenase                |                                                                      |
| Reduktion                   | Mikrosomen      | Nitro-, Azo-, Keto-, Halo-Reduktase | Nitro-, Azoverbindungen, Ketone, halogenierte organische Chemikalien |
| Hydrolyse                   | Leber, Niere    | Esterase, Amidase, Epoxidhydrolase  | Ester, Epoxide (Oxirane), Amide                                      |
| <b>Phase-II-Reaktionen</b>  |                 |                                     |                                                                      |
| Glucuronidierung            | Cytosol (Leber) | Glucuronyltransferase               | Phenole, Alkohole, Arylamine                                         |
| Glutathionkonjugation       | Cytosol (Leber) | Transferase, Peptidase              | Arene, organische Halogen-Verbindungen                               |
| Sulfatierung                | Cytosol         | Sulfotransferase                    | Hydroxy- und Amino-Verbindungen                                      |
| Acetylierung                | Cytosol         | Ligase, Transferase                 | Carbonsäuren, Alkylamide                                             |
|                             | Mitochondrien   | Transacylase                        | Hydrazine, Sulfonamide                                               |
|                             | Mikrosomen      |                                     |                                                                      |
| Konjugation mit Aminosäuren | Cytosol (Leber) | N-Acetyltransferase                 | aromatische Carbonsäuren                                             |

## Biotransformation



**Abb. 6.11** Reaktionen, die durch mikrosomale Cytochrom P<sub>450</sub>-abhängige Monooxygenasen (CYP) katalysiert werden.

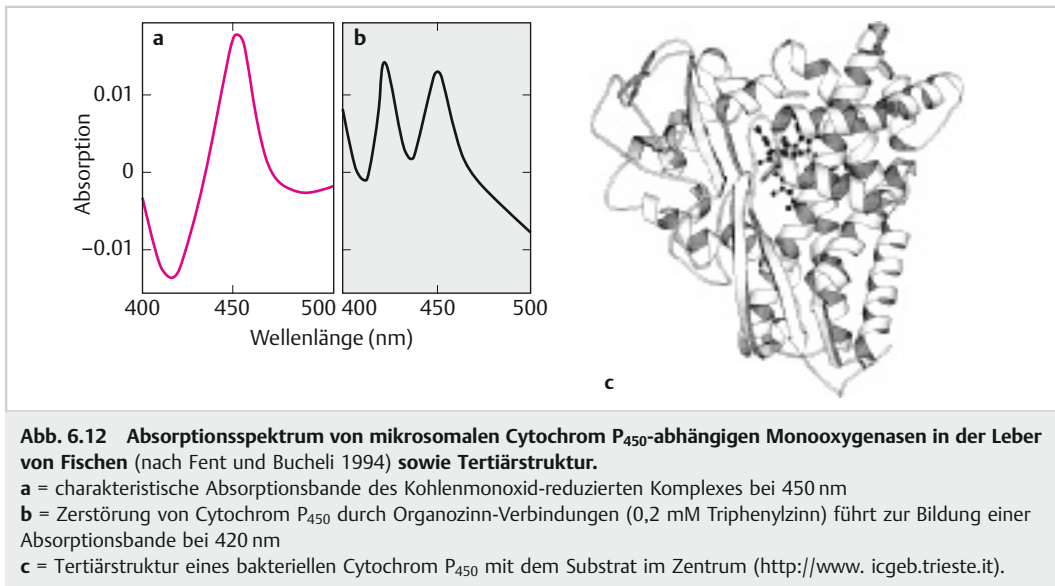
a = N-Dealkylierung  
b = O-Dealkylierung  
c = Alkylketten-Hydroxylierung  
d = S-O-Austausch  
e = aromatische Hydroxylierung  
f, g = Epoxidierung  
h = Deaminierung

*metabolismus* und haben daher in der Ökotoxikologie eine große Bedeutung. Über eine Entgiftung – oder in bestimmten Fällen über eine Aktivierung – kontrollieren sie die Toxizität von Fremdstoffen. Sie katalysieren viele verschiedene Reaktionen (► Abb. 6.11). Cytochrom P<sub>450</sub>-abhängige Monooxygenasen sind auch im *Stoffwechsel endogener Substrate* wichtig. Die Hydroxylierung verschiedener endogener Stoffe wie Corticoidsteroiden (Cholesterin, Vitamin D<sub>3</sub>), Geschlechtshormone (Testosteron), Prostaglandine usw. erfolgt über P<sub>450</sub>-Enzyme.

Die Cytochrom P<sub>450</sub>-abhängigen Monooxygenasen reagieren in ihrer *reduzierten* Form mit Koh-

lenmonoxid zu einem Produkt, das eine charakteristische Absorptionsbande bei 450 nm erzeugt (► Abb. 6.12). Der Enzymname bezieht sich damit auf diese Absorptionsbande (P<sub>450</sub>). Diese Eigenschaft geht bei der Zerstörung z. B. durch Organozinn-Verbindungen verloren: Die Enzyme zeigen wie andere Hämproteine eine Absorptionsbande bei 420 nm.

**Nomenklatur.** Nach internationaler Übereinkunft werden die einzelnen Cytochrome P<sub>450</sub> zunächst mit CYP (für Cytochrom P<sub>450</sub>) bezeichnet und mit einer arabischen Zahl für die Familie, dann mit einem Großbuchstaben für die Unterfamilie und schließlich mit einer weiteren Zahl für



das individuelle Enzym (z. B. CYP1A1) bezeichnet. Alle Familien zusammen bilden eine sog. Superfamilie Cytochrom  $P_{450}$ . Das wichtigste Kriterium für die Zuordnung zu Familien und Unterfamilien ist die Sequenzhomologie der Proteine. Cytochrome  $P_{450}$  mit 40 – 55% Sequenzidentität werden zur gleichen Familie gezählt. Bei > 55% Sequenzidentität gehören sie zur gleichen Unterfamilie.

**Charakteristik.** Diese mikrosomalen Enzyme finden sich vor allem im glatten endoplasmatischen Reticulum (ER) fast aller Organe, in großen Konzentrationen jedoch hauptsächlich in der Leber von Tieren. Es sind membrangebundene *Glycoproteine*, die Bindungen mit sehr verschiedenen Substraten eingehen, besitzen ein charakteristisches Absorptionsspektrum und sind Teile eines Elektronentransportsystems. Allen Formen *gemeinsam* ist eine **Hämgruppe** mit einem Eisen-Atom im aktiven Zentrum (► Abb. 6.12) und eine *hydrophobe Aminosäure-Sequenz am N-terminalen Ende*, welche zur Verankerung in der Membran des ER dient. Das Enzym besitzt eine lipophile Bindungsstelle, die die Spezifität der einzelnen Isoenzyme für die jeweiligen Substrate bestimmt. Weiter benötigen sie molekularen Sauerstoff, den reduzierenden Cofaktor NADPH, sowie die Cytochrom  $P_{450}$ -Reduktase (► Abb. 6.13). CYP haben eine Molmasse von ca. 50 000 Da, und bestehen aus 500 Aminosäuren. Im Unterschied zu den vielen CYP-Formen ist von der NADPH-Cytochrom  $P_{450}$ -Reduktase nur eine Form bekannt. Ihre Kon-

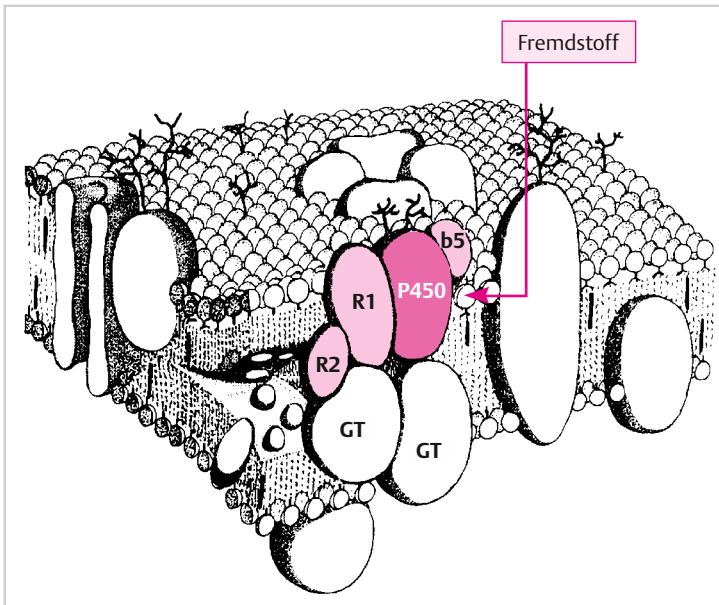
zentration im ER ist nur etwa 10% derjenigen von CYP.

Das Flavoprotein **NADPH-Cytochrom  $P_{450}$ -Reduktase** katalysiert die Oxidation von NADPH (Cofaktor, welcher Elektronen liefert) und überträgt die Reduktionsäquivalente (Elektronen) auf Cytochrom  $P_{450}$ . Beide Enzyme sind gekoppelt und in der Phospholipidmatrix des endoplasmatischen Reticulums eingebettet. Die Phospholipide sind für die Wechselwirkung der beiden Enzyme wichtig.

**Breite Substratspezifität.** Das Monooxygenase-System kann eine große Vielfalt von verschiedenen Reaktionen mit verschiedensten Substraten durchführen (► Abb. 6.11). Diese Fähigkeit basiert auf dem Vorkommen einer Reihe von Isoenzymen. Einige davon katalysieren nur eine bestimmte Reaktion, andere können verschiedene Substrate umsetzen. Die breite Substratspezifität wird aber mit einer *geringeren Enzymaktivität* erkauft, welche auf eine schlechte Substratbindung zurückgeht.

**Reduktasen.** Wie andere fremdstoffmetabolisierende Oxidationsenzyme katalysieren CYP neben ihren oxidativen auch reduktive Reaktionen. Statt auf den Sauerstoff kann ein Elektron im Häm des  $P_{450}$  auch direkt auf das gebundene Substrat übertragen werden (z. B. Reduktion von  $CCl_4$ ).

In einem Organismus existieren damit *zahlreiche Cytochrom  $P_{450}$ -Formen mit verschiedenen Funktionen* (► Tab. 6.3). Beim Menschen sind 57



**Abb. 6.13** Mikrosomales Monooxygenase-System im Endoplasmatischen Retikulum, ein Elektronentransportsystem aus verschiedenen Enzym-Komponenten. Neben dem Hämprotein Cytochrom P<sub>450</sub> sind die Flavoproteine NADPH- und NADH-Cytochrom P<sub>450</sub>-Reduktase (R1 und R2) und das Hämprotein Cytochrom b<sub>5</sub> am System beteiligt. Die Phase-II-Enzyme (Glutathiontransferase, GT, aber auch die UDP-Glucuronyltransferase) stehen in enger Verbindung dazu. Der Fremdstoff bindet an Cytochrom P<sub>450</sub> und wird dort katalysiert; die Flavoproteine liefern die Elektronen.

verschiedene CYP-Gene bekannt. Allgemein gibt es bei Säugern über 100 verschiedene CYP-Formen, beim Nematoden *C. elegans* sind 45 CYP-Gene identifiziert worden. Je nach Sequenzähnlichkeit gliedern sich die über 1000 identifizierten CYP in einzelne Familien, die sich in verschiedene Unterfamilien abgrenzen lassen und welche in unterschiedlichen Organen und Organismen auftreten. Die Familie der CYP-Enzyme besteht damit aus verschiedenen Isoenzymen, die unterschiedliche Aminosäure-Zusammensetzung und Gestalt der Substratbindungsstellen haben. **Zebrafische** haben 94 CYP-Gene, die in 51 Familien eingeteilt und auf verschiedenen Chromosomen lokalisiert sind. Viele dieser Gene sind direkt verwandt mit jenen des Menschen. Große Verwandtschaft (Homologie) zwischen Mensch und Zebrafisch zeigen die Gene, welche für den **Steroidstoffwechsel** zuständig sind. Die Unterschiede sind größer bei den Genen des Fremdstoffmetabolismus. Alle CYP-Gene werden schon früh in der Embryonalentwicklung exprimiert, wobei das Expressionsmuster je nach CYP unterschiedlich ist. Einige davon haben die höchste Expression 3 Stunden nach der Befruchtung, was darauf hinweist, dass sie von der Mutter in die Eier transferiert wurden. Eine embryonale Expression lässt sich aber schon 6–12 Stunden nach der Befruchtung beobachten. In der Embryonalentwicklung werden verschiedene CYP-Gene zeitlich gestaffelt an- und abgeschal-

tet: das Genexpressionsmuster erfolgt analog einer Welle, die zeitlich durch die Embryonalentwicklung läuft.

Die **CYP1A-Familie** hat in der Ökotoxikologie eine besondere Bedeutung. *CYP1A1* setzt vor allem kritische Umweltchemikalien wie *PAH*, *PCB*, *polychlorierte Dibenzo-1,4-dioxine* und *-furane* um. Sie werden durch diese auch induziert. Es aktiviert ferner zahlreiche Fremdstoffe zu cancerogenen Metaboliten (Bioaktivierung). *CYP1A2* setzt vor allem *aromatische Amine* um. Beide CYP1A-Formen überlappen sich in ihrer Substrat-Spezifität. Diese Familie hat in Wirbeltieren und Wirbellosen eine große Homologie.

**Vorkommen.** Aufgrund von Gensequenzanalysen gehen wir davon aus, dass P<sub>450</sub>-Gene sehr alt sind und schon vor mehr als 1,5 Milliarden Jahren entstanden sein könnten. Obwohl P<sub>450</sub>-Enzyme bei allen Tieren und Pflanzen bis zu den Bakterien gefunden wurden, scheinen sich solche Enzyme mit breiter Substratspezifität evolutiv erst später entwickelt zu haben. Im Allgemeinen steigt im Laufe der Evolution die Fähigkeit zur Fremdstoffumwandlung. Zudem wurden die Biotransformations-Reaktionen vielseitiger.

Mit abnehmender evolutiver Entwicklung nehmen die relativen **CYP-Gehalte** von Säugern zu Vögeln, Fischen, Amphibien und Reptilien ab. Fische haben 3–35-mal geringere Aktivitäten als Säuger. Die CYP-Menge ist ferner speziesabhängig: So

Tab. 6.3 Diversität von Cytochrom P<sub>450</sub>-Formen (Isoenzymen) bei Säugern

| Form              | Vorkommen               | Substrate und Funktion                                                                               | Prozess                             |
|-------------------|-------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| CYP1A1            | zahlreiche Organe       | PAH, PCB, PCDD, PCDF; Epoxidierung und Hydroxylierung                                                | Entgiftung, chemische Cancerogenese |
| CYP1A2            | Leber                   | aromatische und heterocyclische Amine (Aflatoxin B <sub>1</sub> ), Substratüberlappung mit CYP1A1    | chemische Cancerogenese             |
| CYP2B             | verschiedene Organe     | Barbiturate, Steroide                                                                                | Entgiftung                          |
| CYP2E1            | Leber, Darm, Leukozyten | kleine Moleküle (Ethanol, Benzol, Cl-CH=CH <sub>2</sub> , CHCl <sub>3</sub> , CCl <sub>4</sub> etc.) | Entgiftung, chemische Cancerogenese |
| CYP3A             | Nebenniere              | 6β-Hydroxylierung von Corticosterol                                                                  | Elektrolyt-Homöostase               |
| CYP4A1-A7         | verschiedene Organe     | Hydroxylierung von Fettsäuren, Oxidation von Prostaglandinen                                         | Lipidstoffwechsel                   |
| CYP19 (Aromatase) | Gehirn, Ovar            | Umwandlung von Testosteron in Estradiol                                                              | Geschlechtsbestimmung, Reproduktion |
| CYP27             | Nebenniere              | 25-Hydroxylierung von Vitamin D in die aktive Form                                                   | Calcium-Stoffwechsel                |

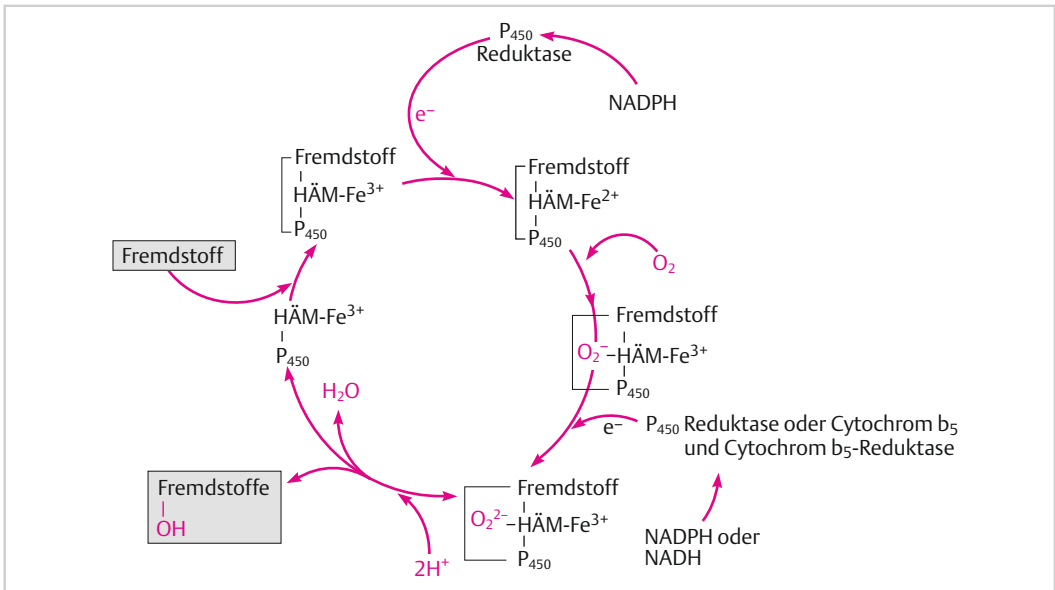
kann die Aktivität zwischen Fischarten bis zu 600-fach variieren. Die Gehalte variieren auch in den Geweben: In den Nieren von Fischen sind nur etwa 20% des P<sub>450</sub>-Gehaltes der Leber enthalten. *Wesentlich geringere CYP-Gehalte* haben niedere Organismen wie Weichtiere (Muscheln, Schnecken), Krebstiere, Cephalopoden, Echinodermen, Polychaeten, Arthropoden und andere **Wirbellose**. Mit fallendem CYP-Gehalt sinken die Möglichkeiten und Effizienz des Fremdstoffmetabolismus. *Daher werden Umweltchemikalien wie Kohlenwasserstoffe und PCB generell bei Wirbellosen langsamer metabolisiert und ausgeschieden.* Insbesondere *Weichtiere* haben nur eine *beschränkte Fähigkeit*, Fremdstoffe zu metabolisieren und zu entgiften. Daher reichern sie sich viel stärker im Körper an als bei den guten Metabolisierern.

Merke

In der Zusammensetzung und Aktivität von CYP und dadurch im Metabolismus bestehen individuelle und Speziesunterschiede, was sich auf die Toxizität auswirkt (z. B. verschiedene Empfindlichkeit bei genetisch verschiedenen Tierrassen und Klonen). **Metabolismusunterschiede** sind zusammen mit verschiedenen Aufnahme- und Eliminationsraten Ursache für Speziesunterschiede in der Toxizität.

Bei **Säugetieren** scheint die Aktivität von CYP von der Körpergröße abhängig zu sein: Große Tiere haben geringere Aktivitäten als kleinere. In Leber und Darm von Säugern haben sich Cytochrom P<sub>450</sub>-Formen entwickelt, die vor allem *Fremdstoffe* umsetzen. In anderen Geweben, die zumeist geringere Mengen enthalten, liegt ihre Hauptaufgabe im Aufbau und/oder Umbau lipophiler **endogener Substrate**. Dazu gehören *Steroide* (Estradiol, Testosteron, Cortisol), *Fettsäuren*, *Vitamin D<sub>3</sub>*, *Prostaglandine*, *Thyroxin*, *Gallensäuren* und *Bilirubin*. Allgemein werden Gehalt und Aktivität von Cytochrom P<sub>450</sub> durch zahlreiche Faktoren (Alter, Spezies, Geschlecht, Jahreszeit, Temperatur, Umweltchemikalien etc.) beeinflusst: Sie können erhöht (Induktion), oder erniedrigt werden (Hemmung). Zahlreiche Chemikalien beeinflussen den Stoffwechsel auch dadurch, dass sie die Aktivität von Enzymen ändern. Eine wichtige Eigenschaft dieser Enzyme liegt darin, dass CYP durch bestimmte Substrate **induziert** werden, d. h. Gehalt und Aktivität der entsprechenden CYP-Form wird erhöht.

**Enzymatische Reaktion.** Cytochrom P<sub>450</sub>-abhängige Monooxygenasen spalten molekularen Sauerstoff (O<sub>2</sub>) und übertragen nur *eines* der beiden O-Atome auf den Fremdstoff (daher der Name Monooxygenase). Dieses wird entweder in eine C, H-Bindung eingeschoben oder an eine C,C-Doppelbindung addiert (Oxidation). Das andere O-Atom wird zu Wasser reduziert. Aufgrund dieser doppelten Funktion, der Oxidation des Substrats und der Reduktion von Sauerstoff, werden diese Enzyme

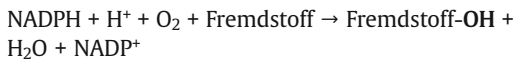


**Abb. 6.14 Das Cytochrom P<sub>450</sub>-abhängige Monooxygenase-System.** Cytochrom P<sub>450</sub> bindet in seiner oxidierten Form den Fremdstoff an einen hydrophoben Bereich (lipophile Bindungsstelle). Darauf wird das Häm als prosthetische Gruppe, in dem das Fe-Atom im katalytisch inaktiven Zustand als Fe<sup>3+</sup> vorliegt, durch die Cytochrom P<sub>450</sub>-Reduktase zum Fe<sup>2+</sup> reduziert (Übertragung eines Elektrons). An das Fe<sup>2+</sup> kann nun Sauerstoff binden (wird anstelle von Sauerstoff CO gebunden, resultiert ein Komplex mit dem charakteristischen Absorptionsmaximum bei 450 nm). Durch den Transfer eines weiteren Elektrons entsteht ein aktivierter Sauerstoff-Eisen-Hämprotein-Komplex. Das zweite Elektron kann von der NADPH-Cytochrom P<sub>450</sub>-Reduktase stammen oder von einer zweiten Elektronenübertragungskette:

NADH > Cytochrom b<sub>5</sub>-Reduktase > Cytochrom b<sub>5</sub> > Cytochrom P<sub>450</sub>.

In vielen Fällen wirkt NADH beschleunigend auf den Gesamtprozess. Protonen (2H<sup>+</sup>) des Mediums reagieren nun mit dem aktivierten Sauerstoff-Eisen-Hämprotein-Komplex unter Bildung von Wasser und dem hydroxylierten Metaboliten (Fremdstoff-OH). Mit der Ablösung des oxidierten Substrates schließt sich der Kreis.

auch als **mischfunktionelle Oxygenasen** (MFO) bezeichnet. Zur Oxidation verbrauchen Monooxygenasen Reduktionsäquivalente.



Die Reaktion erfolgt in verschiedenen Schritten unter Beteiligung verschiedener Komponenten, daher spricht man vom Cytochrom P<sub>450</sub>-abhängigen Monooxygenase-System.

### Merke

Den durch CYP katalysierten Oxidationen gemeinsam ist die Umwandlung von lipophilen in hydrophile Substanzen, meist über die Einführung eines O-Atoms. Dies geht in der Regel mit einer Entgiftung einher, kann aber in bestimmten Fällen auch eine Bioaktivierung bedeuten.

Mechanistisch verläuft die Oxidation des Fremdstoffes über einen **Kreisprozess** (► Abb. 6.14). Er umfasst die Bindung des Substrates an CYP, die Bindung von molekularem Sauerstoff ans Häm und mehrere Elektronenübertragungsschritte.

### Induktion von CYP1A und Genregulation

Werden Organismen an gewisse Fremdstoffe exponiert, steigt ihre Fähigkeit, diese und weitere Fremdstoffe zu metabolisieren. Dies hängt mit der **Erhöhung** der Konzentration von metabolisierenden Enzymen (und damit mit einer Erhöhung des Metabolismus) zusammen und wird **Induktion** genannt. Charakteristisch ist das **schnelle Eintreten**, die **begrenzte Stärke** und die **Reversibilität**, d. h. es tritt keine Induktion bei fehlendem Induktor auf. Bisher sind **mehr als 1000 organische Stoffe** bekannt, die eine Induktion und damit auch eine