

## TOXICOCINÉTICA: BIOTRANSFORMACIÓN

A lo largo de su evolución, los organismos vivos han estado expuestos de forma continua a un número creciente de sustancias químicas extrañas presentes en su entorno y susceptibles de acceder a su interior de modo accidental (xenobióticos). Para salvaguardarse del libre acceso de estos compuestos, los organismos vivos interponen una serie de barreras de naturaleza física o biológica. No obstante, un número indeterminado de los mismos es capaz de superar dichos mecanismos de protección y contactar con las células y tejidos produciendo efectos de diversa índole. Estos compuestos pueden acceder a nuestro organismo mediante ingestión, inhalación, por vía parenteral o a través de la piel. Como no son utilizados como nutrientes, no se incorporan a las rutas bioquímicas del metabolismo intermediario y no son degradadas a través de estas vías metabólicas. Se trata en general, de compuestos de naturaleza lipofílica por lo que pueden atravesar con relativa facilidad las membranas biológicas, acceder al interior de las células y unirse a estructuras celulares de carácter lipofílico. Al mismo tiempo, su eliminación del organismo es dificultosa, dado que la excreción de compuestos no volátiles se realiza a través de fluidos de naturaleza acuosa, principalmente orina.

Ante esta situación, los organismos vivos han desarrollado sistemas metabólicos alternativos para acelerar la eliminación de estos compuestos. Se trata de una serie de enzimas no integradas en las vías del metabolismo energético o intermediario del organismo y cuyos sustratos son los xenobióticos. Su función es la de convertir los xenobióticos en moléculas más polares, más hidrosolubles y, por lo tanto, más fácilmente excretables. El papel de estas enzimas es clave para la supervivencia celular. De no existir tales vías metabólicas, una vez en el interior del organismo los xenobióticos tenderían a acumularse alterando el equilibrio celular y provocando alteraciones funcionales e incluso la muerte celular.

Al conjunto de procesos enzimáticos a los que se ven sometidos los xenobióticos en el organismo tendientes, en general a su neutralización y eliminación se les conoce como *reacciones de biotransformación o de metabolización de xenobióticos*. Tradicionalmente estos procesos se han agrupado en dos fases o etapas. En la *fase 1* los xenobióticos son modificados mediante reacciones de oxidación, reducción o hidrólisis y convertidos en productos más hidrosolubles gracias a la aparición de nuevos grupos funcionales de carácter polar (hidroxilo, amino, carboxilo). En la *fase 2* los xenobióticos, o los metabolitos generados por las reacciones de la fase 1, se combinan con moléculas endógenas de carácter polar para formar productos de conjugación que son rápidamente excretados.

### **Biotransformaciones en la fase I**

Consisten fundamentalmente en reacciones de oxidación, reducción e hidrólisis, catalizadas por diferentes enzimas que aunque son más abundantes en el hígado, se hallan repartidas por todo el organismo y presentan especial actividad en algunas localizaciones.

- **Reacciones de oxidación:** las más importantes biotransformaciones que experimentan los tóxicos se basan en reacciones de oxidorreducción. Estos procesos bioquímicos oxidativos son catalizados por tres grupos principales de enzimas: *deshidrogenasas* (ej. oxidación de etanol a acetaldehído, y la de metanol a formaldehído), *oxididasas* (catalizan oxidaciones en las que el oxígeno es el aceptor de electrones y resulta reducido a agua, o bien transformado en peróxido de hidrógeno o en radical superóxido), *oxigenasas* catalizan la incorporación de oxígeno al sustrato; entre ellas se encuentran las: *monooxigenasas*, también denominadas *oxididasas de función mixta* porque del oxígeno molecular llevan un átomo para formar agua y otro al sustrato, originando grupos alcohol y epóxido (los epóxidos son muy tóxicos y

cancerígenos, por su gran reactividad con proteínas y ADN). El citocromo P-450 es sin duda el miembro más destacado de este grupo de enzimas y el principal responsable del metabolismo oxidativo de los xenobióticos. El P-450 es una hemoproteína que contiene un átomo de hierro en estado reducido por mol y que es capaz de combinarse en su forma reducida con el CO, para dar una banda de absorción característica a 450 nm, de la cual deriva su nombre. No se trata de una única enzima, sino que en realidad es una familia de hemoproteínas presentes en numerosas especies, desde bacterias a mamíferos, y de las que ya se han identificados más de 2000 isoformas diferentes. Todos los P450s conocidos se nombran siguiendo un criterio común y se agrupan en familias y subfamilias en función de la similitud en la secuencia del ADN que los codifica. Las familias 1, 2 y 3 están constituidas por enzimas encargadas de la biotransformación de xenobióticos, mientras que el resto de familias incluyen P-450s que intervienen en la biosíntesis y el metabolismo de compuestos endógenos. Una de las características más significativa de los P-450s que metabolizan xenobióticos es su baja especificidad, lo que permite que sean capaces de metabolizar un número casi ilimitado de sustratos, principalmente a través de reacciones de oxidación, pero también de reducción e hidrólisis. Las oxidaciones catalizadas por el P-450 son reacciones de monooxigenación dependientes de NADPH y para las que utiliza oxígeno molecular. Como consecuencia de estas reacciones el P-450 acelera la eliminación del organismo de gran número de fármacos y compuestos tóxicos, pero también es el responsable de la activación de toxinas o precarcinógenos. En el hombre, los P-450s están ampliamente distribuidos por todo el organismo, si bien el hígado es el órgano con mayor expresión de estas enzimas. Su expresión está regulada por factores genéticos, fisiopatológicos (regulación hormonal, enfermedades) o ambientales (factores nutricionales, inducción, inhibición). Por esta causa, sus niveles hepáticos varían extraordinariamente entre los diferentes individuos, lo que justifica las notables diferencias que, en ocasiones, se observan en el metabolismo de fármacos y xenobióticos y, en última instancia, la variabilidad en la respuesta farmacológica o la diferente susceptibilidad a la acción de tóxicos o carcinógenos.

- **Reacciones de reducción:** son catalizadas por reductasas microsómicas y citosólicas y por las bacterias intestinales. Existen nitrorreducciones capaces de llevar sucesivamente grupos nitro a nitroso y a amina. También por reducción se eliminan átomos de halógeno.
- **Reacciones de hidrólisis:** la hidrólisis de numerosos ésteres, amidas y compuestos sustituidos es realizadas por hidrolasas o esterasas.

#### **Biotransformaciones en la fase II:**

Consisten en reacciones de conjugación en las que grupos reactivos (oxhidrilo, amino, carboxilo, epóxido, halogenuro, etc.) del xenobiótico o sus metabolitos (productos de la Fase I) se unen a sustancias endógenas para originar compuestos más fácilmente eliminables por la orina o bilis. Los compuestos endógenos son iones ácidos como el glucuronato, glutatión, sulfato, acetato y aminoácidos. También requieren la participación de enzimas transferasas (glucuroniltransferasas, sulfotransferasas, y sulfuroniltransferasas, glutamiltransferasa, glutatión S-transferasas, etc.).



### Factores que modifican la intensidad de los procesos de biotransformación de sustancias extrañas al organismo por la oxidasa de función mixta P-450 dependiente

Este es uno de los aspectos de más importancia para el médico, el toxicólogo o el farmacólogo, puesto que permite comprender la complejidad y variabilidad de la respuesta biológica frente a sustancias extrañas. En la figura se resumen algunos de los factores que afectan a las biotransformaciones de sustancias extrañas al organismo, mediadas por el sistema P-450 dependiente.

Inhibidores	Embarazo
Inductores	Estrés
Especie	Hipofisectomía
Cepa (raza)	Adrenalectomía
Individuales	Tiroidectomía
Edad	Diabetes
Sexo	Castración
Dieta	Hepatitis
Ayuno	Cirrosis
Hora del día	Ictericia obstructiva
Época del año	Hepatomas

Resulta evidente, que todo factor que modifique el contenido o el tipo de P-450, la actividad de la P-450 reductasa o los niveles de NADPH, tendría efecto sobre la biotransformación de sustancias extrañas al organismo y, por ende, sobre la duración y la intensidad de sus acciones biológicas. Lo particular de este sistema enzimático es que, debido a su falta de especificidad, gran cantidad de sustratos pueden competir por los sitios activos y así alterar sus respectivas biotransformaciones. Existen compuestos como el CCl<sub>4</sub>, la alilisopropilacetamida y otros que *in vivo* destruyen al P-450 y así disminuyen la intensidad de los procesos que éste cataliza. Un efecto similar, puede ser logrado con inhibidores de la síntesis del hemo como el 3-amino-1,2,4-triazol o el cloruro de cobalto. Es posible disminuir el proceso global de hidroxilación de la P-450 reductasa con sustancias como de la cistamina.

Otra característica única de este sistema P-450 dependiente que biotransforma xenobióticos, es la facilidad con que es inducido. Han sido descritas cientos de sustancias químicas que son capaces de estimular la actividad de este sistema enzimático. Algunas de ellas son fármacos (hipnóticos, sedantes, gases anestésicos, estimulantes del SNC, anticonvulsivantes, tranquilizantes, antipsicóticos, hipoglicémicos, alcaloides, hormonas, esteroides, etc.). Otros son tóxicos o compuestos presentes en el ambiente; por ejemplo, plaguicidas, hidrocarburos policíclicos provenientes de procesos de combustión (entre ellos el humo del cigarrillo), herbicidas, aditivos alimentarios, etc.

Algunos de estos compuestos tienen efecto bifásico, actuando como inhibidores en etapas tempranas de la exposición y luego como inductores por exposición repetida. Los inductores aumentan siempre el contenido de P-450 hepático y algunos también la actividad de la P-450 reductasa. No todos los inductores aumentan el contenido de la misma isoenzima del P-450, por ejemplo el 3-metilcolantreno y la tetraclorodibenzodioxina inducen la forma denominada P-448.

El proceso de inducción involucra tanto un aumento de la síntesis como una disminución de la degradación proteica. La proporción en que cada uno de estos factores participa en la inducción varía con cada compuesto. Estos procesos suelen ir acompañados de efectos en el *turnover*

(recambio) del RNA y de los fosfolípidos y a su vez por proliferación del retículo endoplásmico liso de las células epiteliales hepáticas. Las diferencias existentes para biotransformar xenobióticos entre las distintas especies son tanto cualitativas como cuantitativas. Las cualitativas conciernen fundamentalmente a las reacciones de conjugación de la Fase II. Las diferencias existentes en los procesos de Fase I son usualmente cuantitativas, o sea, en el contenido de P-450 y de P-450 reductasa. Otro tanto sucede con las variaciones observadas de una cepa a otra de una misma especie. Ellas suelen ser de dos a tres veces de diferencia para el caso de ratas o ratones, pero ha llegado a ser de hasta veinte veces en el caso de cepas de conejo.

Las diferencias individuales pueden ser muy grandes y, como era de esperar, fácilmente observables en el hombre. Ellas han sido verificadas para el metabolismo de anticoagulantes como el warfarin y el dicumarol, así como para fármacos como la fenilbutazona, la antipirina o la difenilhidantoína. Estas variaciones también se deben a factores cuantitativos. El sexo también puede ser variable para la biotransformación de xenobióticos, por lo menos así ocurre en la rata. No se ha observado una diferencia equivalente en otras especies. La rata macho tiene mayor capacidad para la biotransformación y ello parece deberse a una mayor afinidad a los sustratos por su P-450.

La edad es otra variable importante. Gran cantidad de estudios evidenciaron que los fetos y recién nacidos de distintas especies animales tienen menor capacidad para biotransformar xenobióticos y que ella aumenta rápidamente después del nacimiento. Esto parece deberse a una diferencia en los contenidos de P-450 y P-450 reductasa. Relativamente el feto humano tiene más capacidad metabólica para xenobióticos que el equivalente de los animales, siendo su P-450 un 60-70% y su P-450 reductasa un 30% del de los adultos. Existe también un decaimiento en los contenidos de P-450 y P-450 reductasa en la vejez.

El desbalance hormonal influye profundamente sobre la capacidad para biotransformar xenobióticos, tal como lo revela la experimentación animal. Tal es el caso de animales con alteraciones hormonales (adrenalectomizados, tiroidectomizados, hipofisectomizados) o con diabetes inducida químicamente (aloxánica). En ellos, el metabolismo de muchos sustratos está muy disminuido. En la rata, estos efectos dependen del sexo.

Las hormonas modulan, ya sea el contenido de P-450 o la actividad de la P-450 reductasa o la afinidad del P-450 por su sustrato. Visto este importante rol hormonal, no es de extrañar que la capacidad para metabolizar xenobióticos cambie con la hora del día, debido al ritmo circadiano existente en los niveles de corticosterona o que se vea afectada por el estrés, el embarazo o el ayuno.

La capacidad para biotransformar xenobióticos puede alterarse con la dieta, por ejemplo, dietas pobres en proteínas y altas en hidratos de carbono y grasa la disminuyen, en tanto que las dietas ricas en proteínas la aumentan. También resulta fácil comprender que si el hígado es el lugar fundamental para la biotransformación de xenobióticos, que esa capacidad esté resentida en el caso de daño celular hepático producido, ya sea por tóxicos o por virus. En la ictericia obstructiva y en los cánceres hepáticos, también hay disminución de esta actividad. En cambio, esto no ocurre en la cirrosis con los procesos de la Fase I, aunque sí con los de la Fase II.

En resumen, el conocimiento de la química biológica de los procesos de biotransformación de xenobióticos, nos proporcionará una comprensión racional de los procesos que dan origen y permiten el tratamiento de las enfermedades.

## Formación de especies químicas reactivas durante la biotransformación de tóxicos

Frecuentemente sucede, como resultado del proceso de biotransformación de una sustancia tóxica, que los productos (metabolitos) de esas reacciones químicas son más activos (ej. tóxicos) que el compuesto original que se absorbió. Se conocen una gran cantidad de sustancias que en realidad deben su toxicidad (aguda o crónica) a los productos (relacionados directamente con su estructura química o no) que generan durante su biotransformación. Estas especies químicas tienen como característica común una mayor reactividad hacia moléculas blanco, existentes en las células, lo que provoca interacciones deletéreas, responsables primarias de una cascada de eventos que se expresarán finalmente como un cuadro de intoxicación. Los efectos tóxicos entonces no son más que una consecuencia de esas reacciones químicas indeseables.

Desde el punto de vista estrictamente químico, un factor común a estas especies reactivas es su marcada *electrofilicidad*, consecuencia de su propia deficiencia en electrones. Esta naturaleza electrofílica es la fuerza impulsora para su reactividad hacia sitios moleculares ricos en electrones, existentes en abundancia en muchas macromoléculas celulares. En efecto, en las moléculas cíclicas para la vida celular, como enzimas, otras proteínas, ácidos nucleicos, etc., predominan los sitios nucleofílicos (o ricos en electrones) como lo son átomos de nitrógeno, de azufre y de oxígeno. Es la abundancia de este tipo de lugares vulnerables lo que hace que aquellos metabolitos de naturaleza electrofílica tengan una relevancia mayor en la toxicidad de una sustancia.

La reactividad de estas especies está determinada por su estabilidad química. Un parámetro para evaluarla es la vida media, que no es más que una expresión del tiempo que demora en disminuir su concentración a la mitad, en un medio determinado. Este tiempo será inversamente proporcional a su estabilidad y reactividad. Una consecuencia muy importante, porque afecta a la magnitud del daño primario en un proceso tóxico, es que la probabilidad de interactuar con blancos celulares distantes decrece con la reactividad. Una especie muy reactiva (de vida media pequeña, ej. un radical libre) no puede viajar muy lejos sin chocar antes con alguna molécula blanco que le ofrezca compensar esa deficiencia electrónica que posee. Por el contrario, una especie más estable puede, eventualmente, salir de la célula donde se formó y viajar por el torrente sanguíneo para ejercer su acción deletérea en un sitio distante al de su generación. No olvidemos sin embargo que, en última instancia es el medio biológico en particular lo que condicionará la ocurrencia de una reacción química irreversible con este tipo de especies, y más aún, lo que determinará la magnitud de sus consecuencias.

Podemos clasificar a los metabolitos reactivos en función de su estabilidad química (vida media) como:

1. *De vida ultracorta*: estas especies nunca llegan a viajar en forma libre mucho más allá del sitio (generalmente uno enzimático) donde se generaron. Muchas veces es la propia enzima la primera molécula afectada, dando lugar a un "suicidio enzimático" (la generación es especies reactivas de ese tipo se inhibe por destrucción de la capacidad de biotransformación involucrada). Son ejemplos de este tipo los radicales libres y los iones positivos (ej. carbono).
2. *De vida corta*: En este caso las probabilidades para interactuar están restringidas a la célula donde se producen. Su reactividad no les permitiría viajar a células vecinas ni mucho más lejos. Los epóxidos son un buen ejemplo de este tipo.
3. *De vida larga*: Su estabilidad química les otorga una vida media suficientemente larga como para salir al torrente sanguíneo y llegar a órganos y tejidos distantes, donde eventualmente pueden reaccionar. Los aldehídos pueden verse en esta categoría.

**Bibliografía**

- CASCALES ANGOSTO, M. y GOMEZ LECHON, M. 2004. Monografía Nº XIV: "Citocromo P-450". Instituto de España. Real Academia Nacional de Farmacia.
- CASTRO, G. *et al.* 2003. Apuntes del curso: "Conceptos Fundamentales de Toxicología I" CEITOX-CITEFA-CONICET.
- REPETTO, M. 1997. "Toxicología Fundamental". Ed. Diaz de Santos. Págs.405.