

**METABOLISMUS A HLAVNÍ MECHANISMY TOXICITY
CIZORODÝCH LÁTEK**

HLAVNÍ MECHANISMY TOXICITY XENOBIOTIK

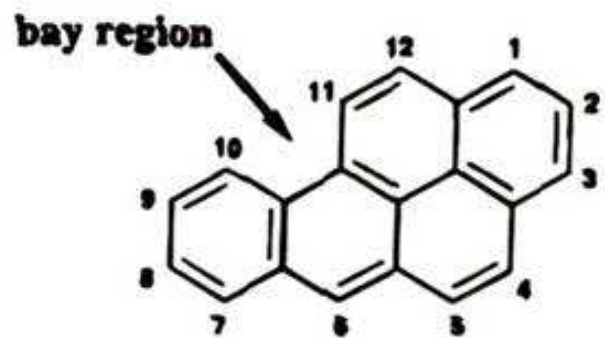
- ☛ „Přímé“ mutageny / genotoxiny; metabolická aktivace promutagenů, adukty s proteiny a DNA, chromosomální aberace
- ☛ AhR-dependentní dioxinová aktivita
- ☛ Další receptor-dependentní mechanismy endokrinní disrupce (např. estrogenita)
- ☛ Oxidativní stres (ROS, redoxní cyklování semichinonů, peroxisomální proliferace, peroxidace lipidů, oxidativní poškození DNA a proteinů), modulace signální transdukce pomocí ROS
- ☛ Inhibice mitochondriálních funkcí (respirace, syntéza ATP, ale také apoptóza)
- ☛ Neurotoxická, imunotoxická, poruchy metabolismu endogenních látek

HLAVNÍ MECHANISMY TOXICITY XENOBIOTIK NA BUNĚČNÉ ÚROVNI (jsou výsledkem molekulárních procesů v buňce a na povrchu buňky)

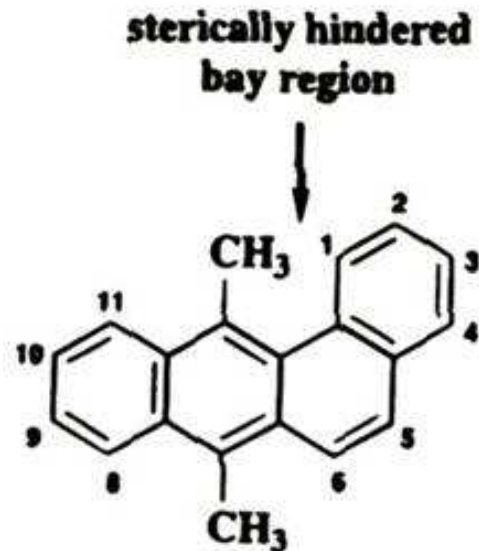
- Modulace buněčného cyklu, zvýšená proliferace buněk, modulace diferenciaci, inhibice apoptózy
- Disrupce mezibuněčných spojení (gap junctions, adherens junctions,...)
 - ↙
 - ↘
- Cytotoxicita, indukce apoptózy
- Přežívání, transformace buněk (komplexní mnohastupňový proces iniciace, promoční mechanismy – de/diferenciaci, angiogeneze, ...)

GENOTOXICITA – METABOLICKÁ AKTIVACE POLYCYKlickÝCH AROMATICKÝCH UHLOVODÍKŮ

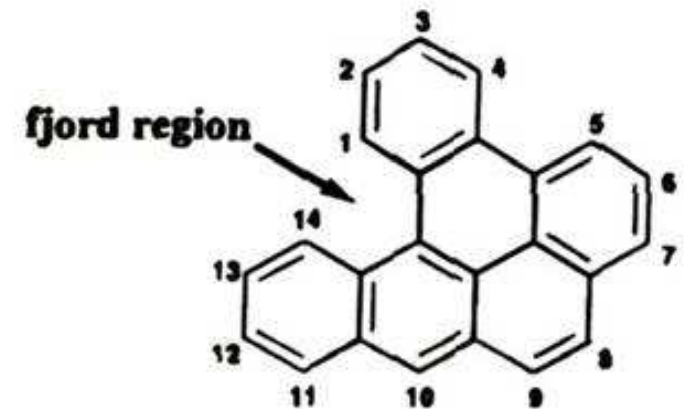
Hlavní enzymy metabolické aktivace PAHs:
CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1



B[a]P

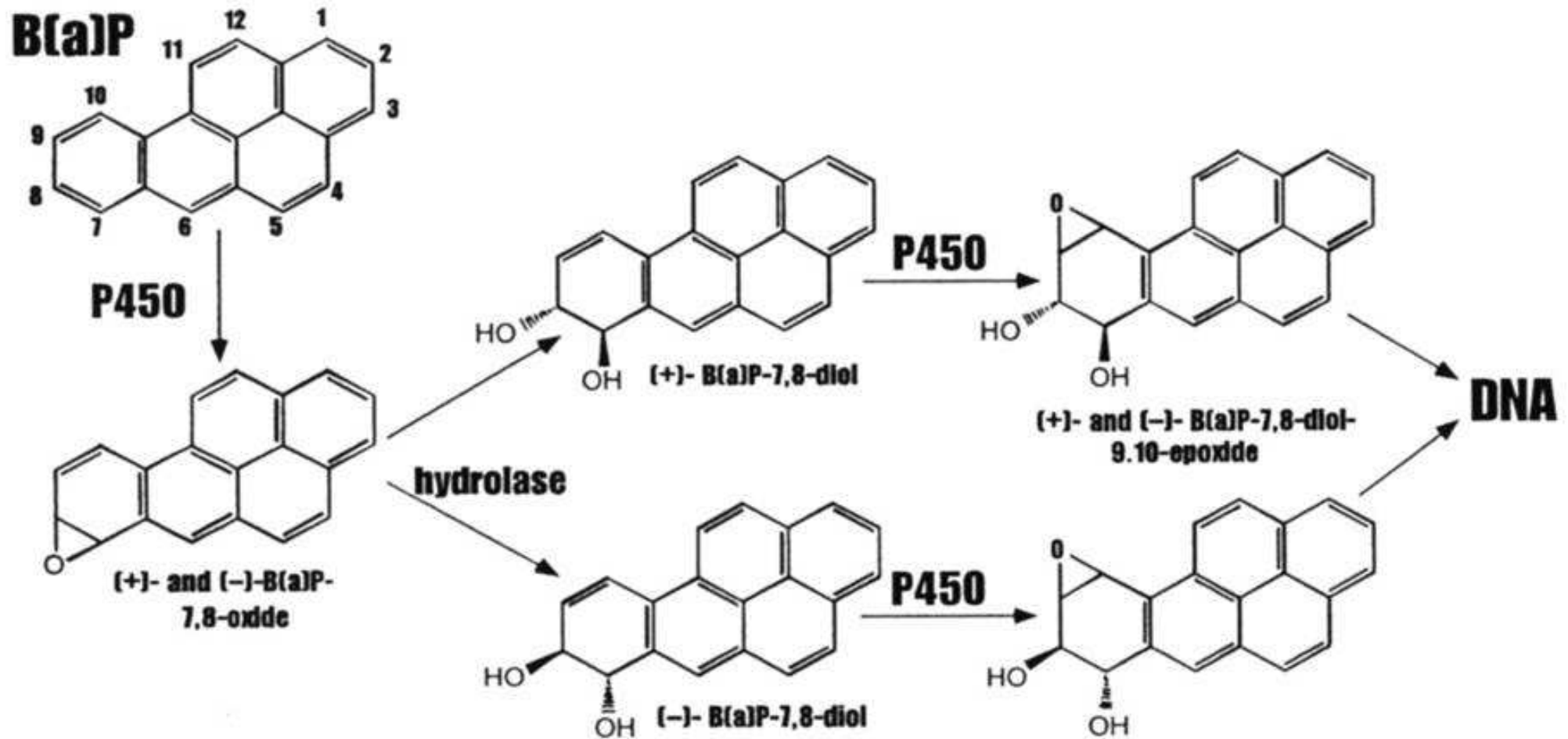


DMBA



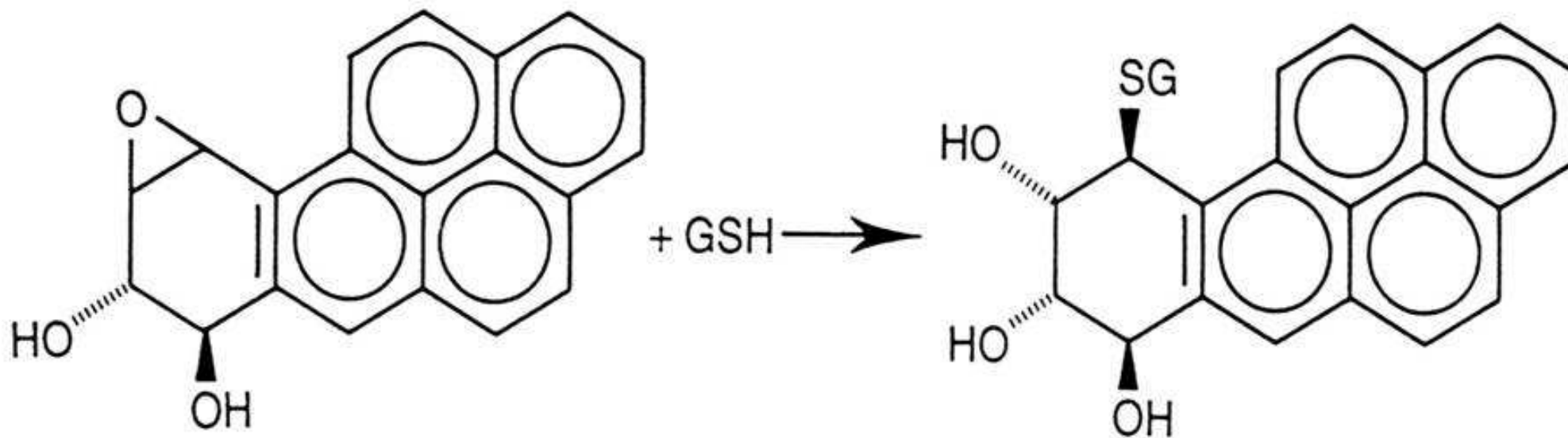
DB[a,l]P

GENOTOXICITA – METABOLICKÁ AKTIVACE POLYCYKLIČKÝCH AROMATICKÝCH UHLOVODÍKŮ



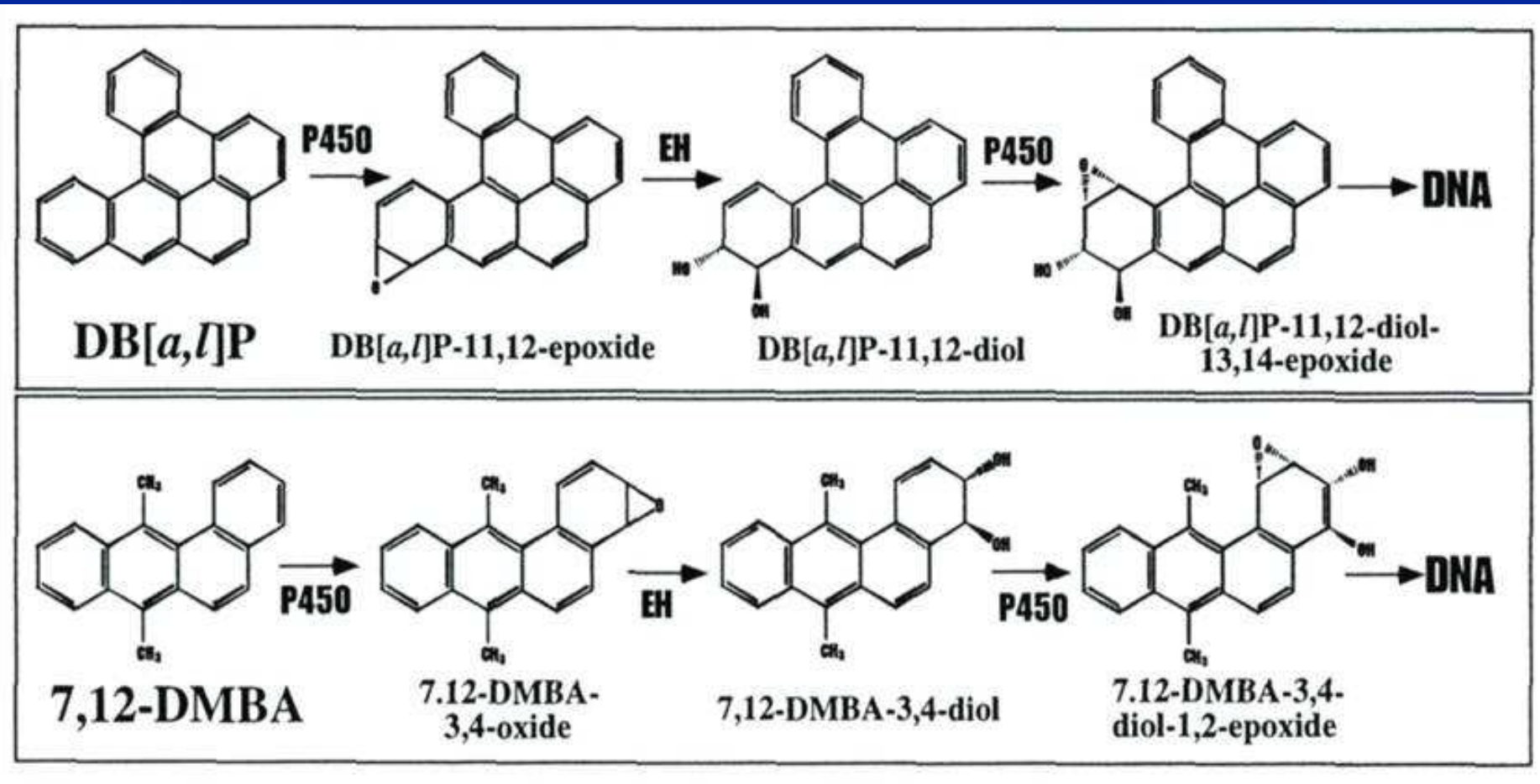
DETOXIKACE POLYCYKLIČKÝCH AROMATICKÝCH UHLOVODÍKŮ:

Protektivní úloha GST, UDPGT aj. enzymů 2. fáze biotransformace



Glutathione-S-transferase

GENOTOXICITA – METABOLICKÁ AKTIVACE POLYCYKLIČKÝCH AROMATICKÝCH UHLOVODÍKŮ

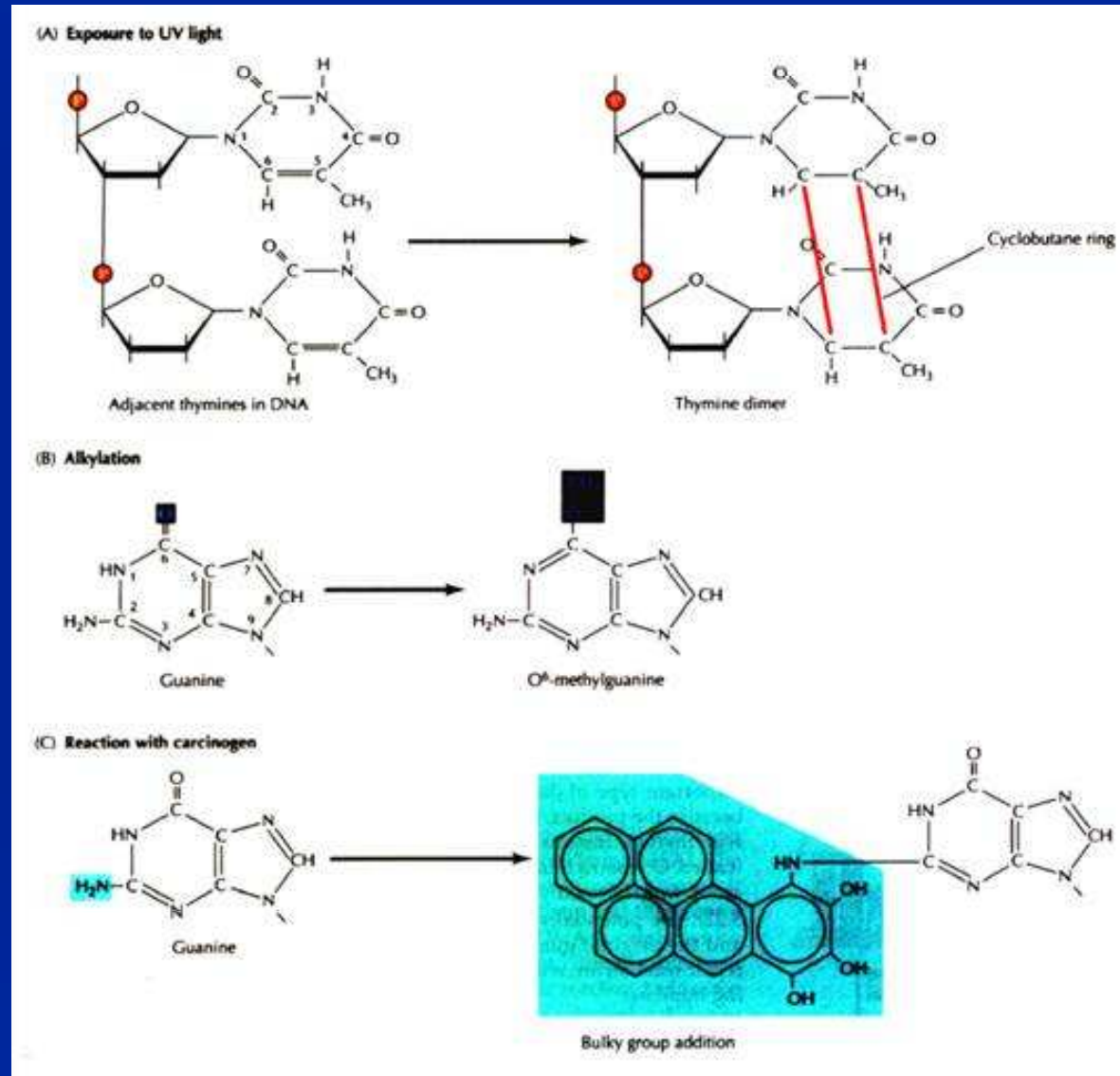


MECHANISMY POŠKOZENÍ DNA (dimerizace, alkylace, tvorba „bulky adducts“)

UV záření:
dimerizace

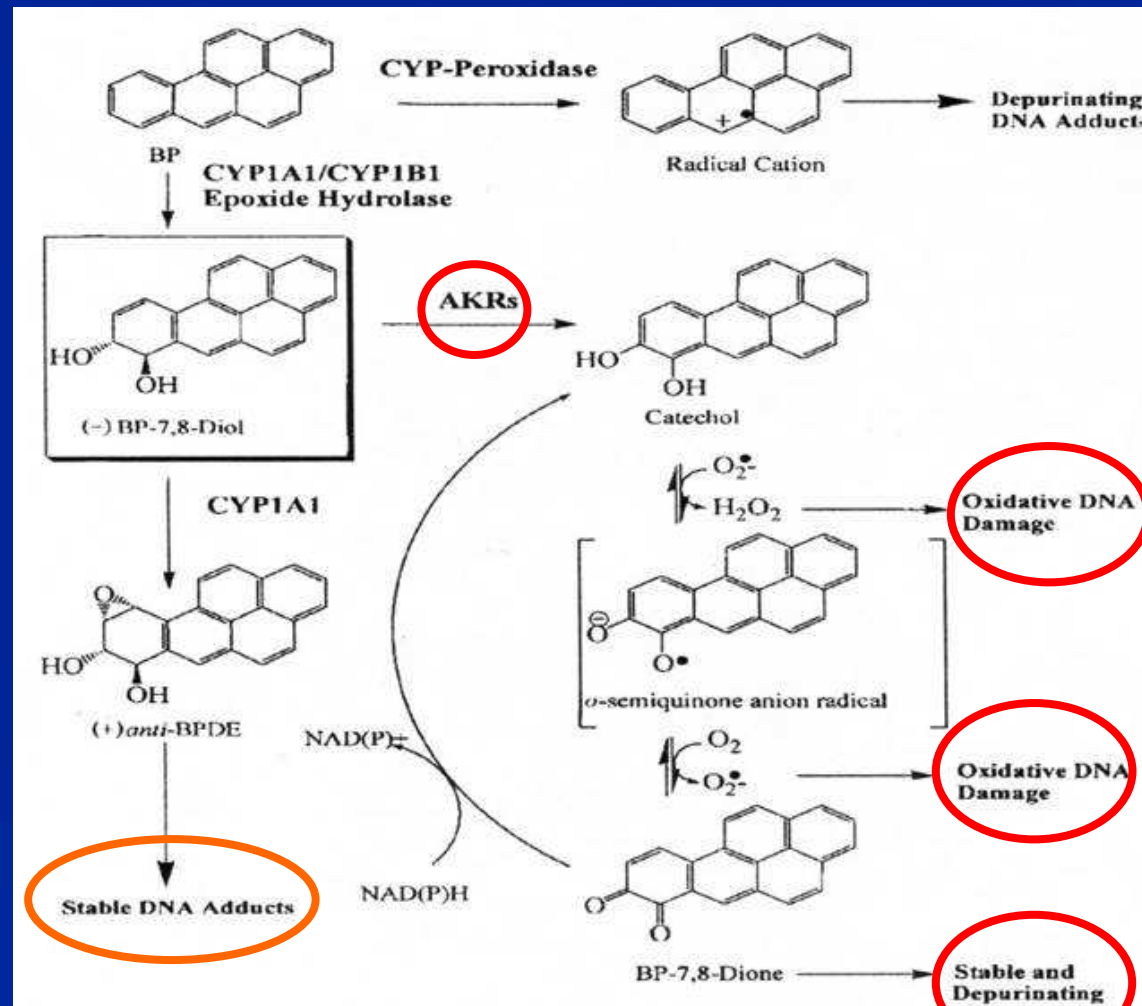
Alkylace (methylace)
 $= O \longrightarrow -OCH_3$

Vznik „bulky adducts“



GENOTOXICKÉ EFEKTY PAHs, POSTGENOTOXICKÉ SIGNÁLY, APOPTÓZA

1. Metabolická aktivace – cytochromy P450 (CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1) + alternativní dráha (AKR1C9, AKR1A1)



Stabilní adukty
DNA-PAH

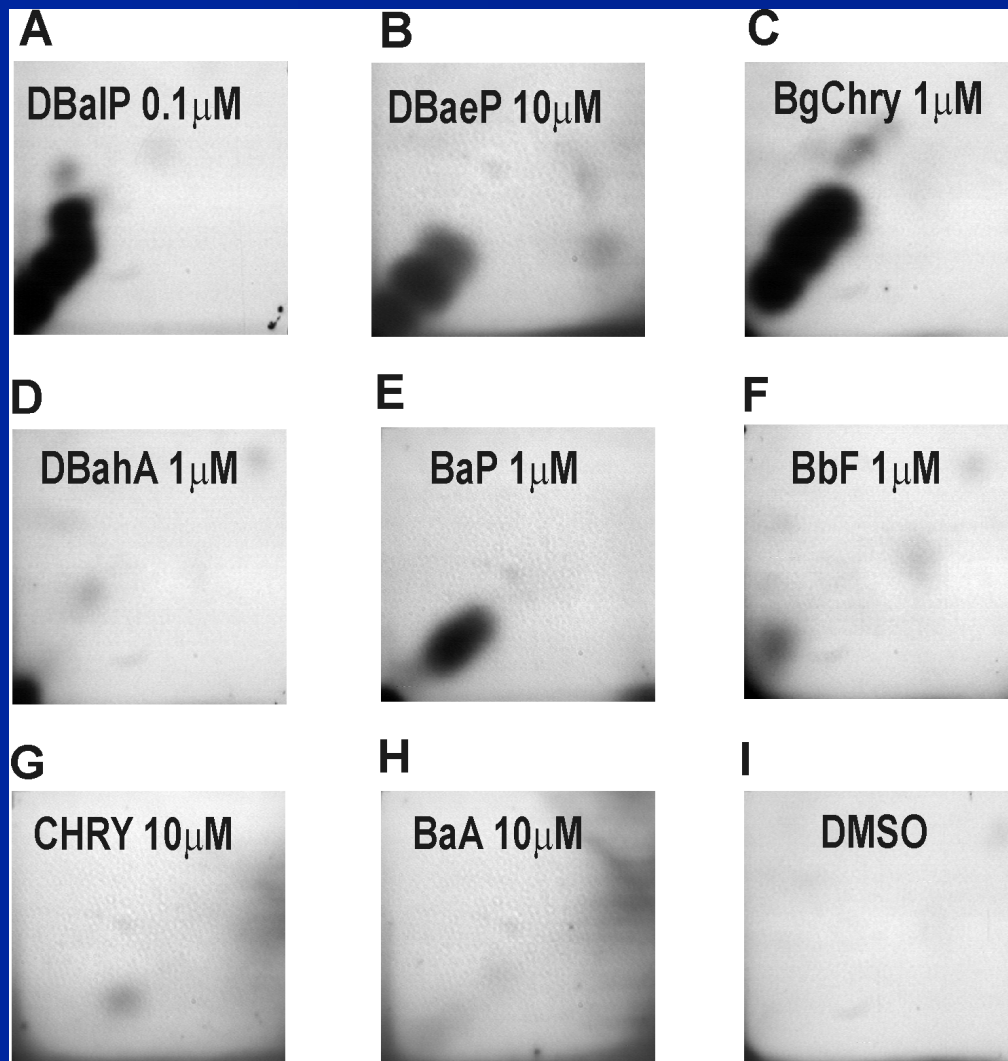
Oxidativní stres

Oxidativní
poškození DNA
(oxidace bazí,
apurinová místa)

Stable and
Depurinating

GENOTOXICKÉ EFEKTY PAHs, POSTGENOTOXICKÉ SIGNÁLY, APOPTÓZA

2. DETEKCE POŠKOZENÍ DNA (stabilní adukty DNA s metabolity PAHs)



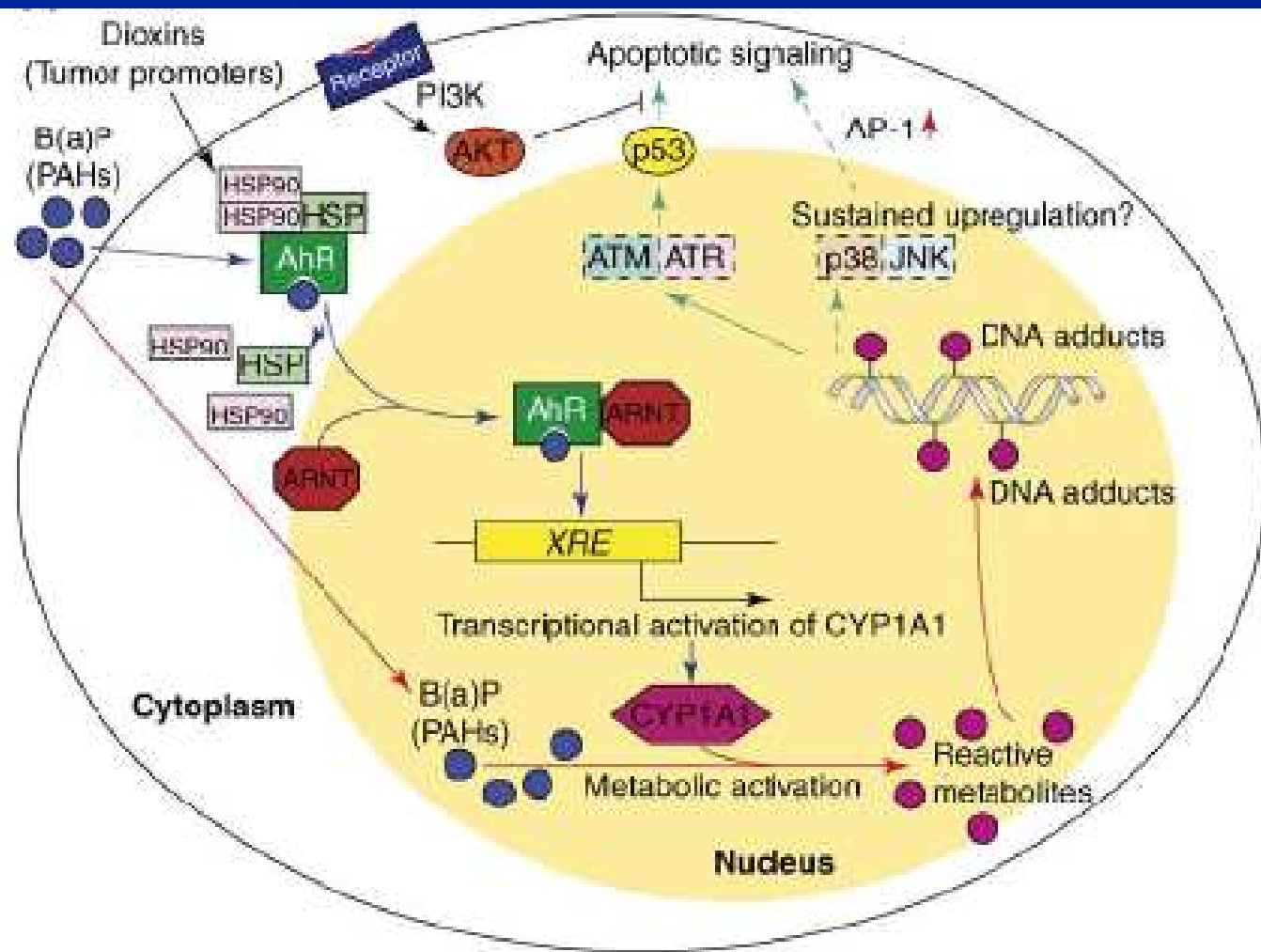
Metoda 32 P-postlabeling:
expozice buněk, izolace DNA,
digesce a značení 32 P, TLC,
detekce radioakt. fosforu

**DBaIP, DBaeP, BgChry, BaP –
silně genotoxické PAHs;
DBahA, BbF, Chry, BaA –
převážně negenotoxické efekty
(aktivace AhR atd.)**

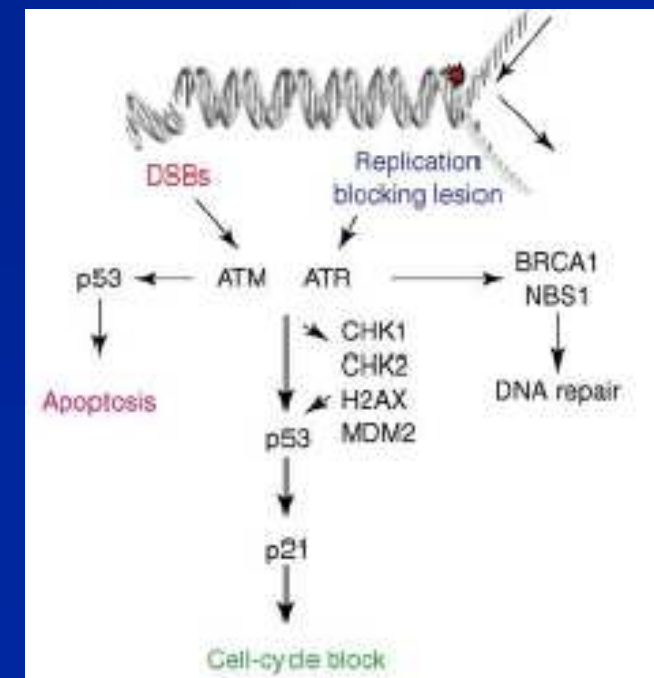
GENOTOXICKÉ EFEKTY PAHs, POSTGENOTOXICKÉ SIGNÁLY, APOPTÓZA

3. POSTGENOTOXICKÉ SIGNÁLY (sensory poškození, regulátory DNA „repairu“ a apoptózy)

Roos, Kaina, 2006

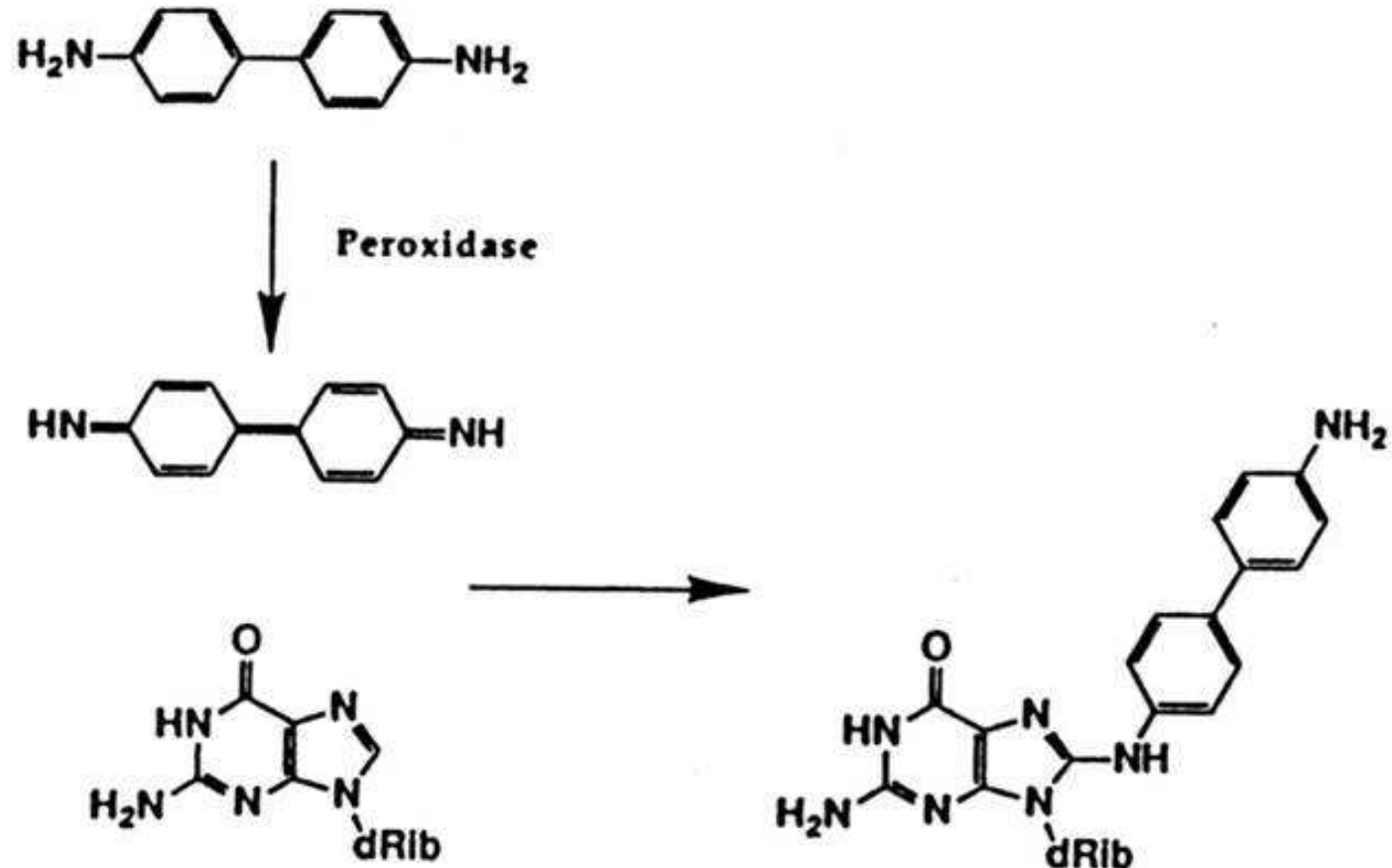


Sensory genotoxicity,
přenos post-genotoxických
signálů a regulace:
ATM, ATR, H2AX, ChK1,
ChK2, p53

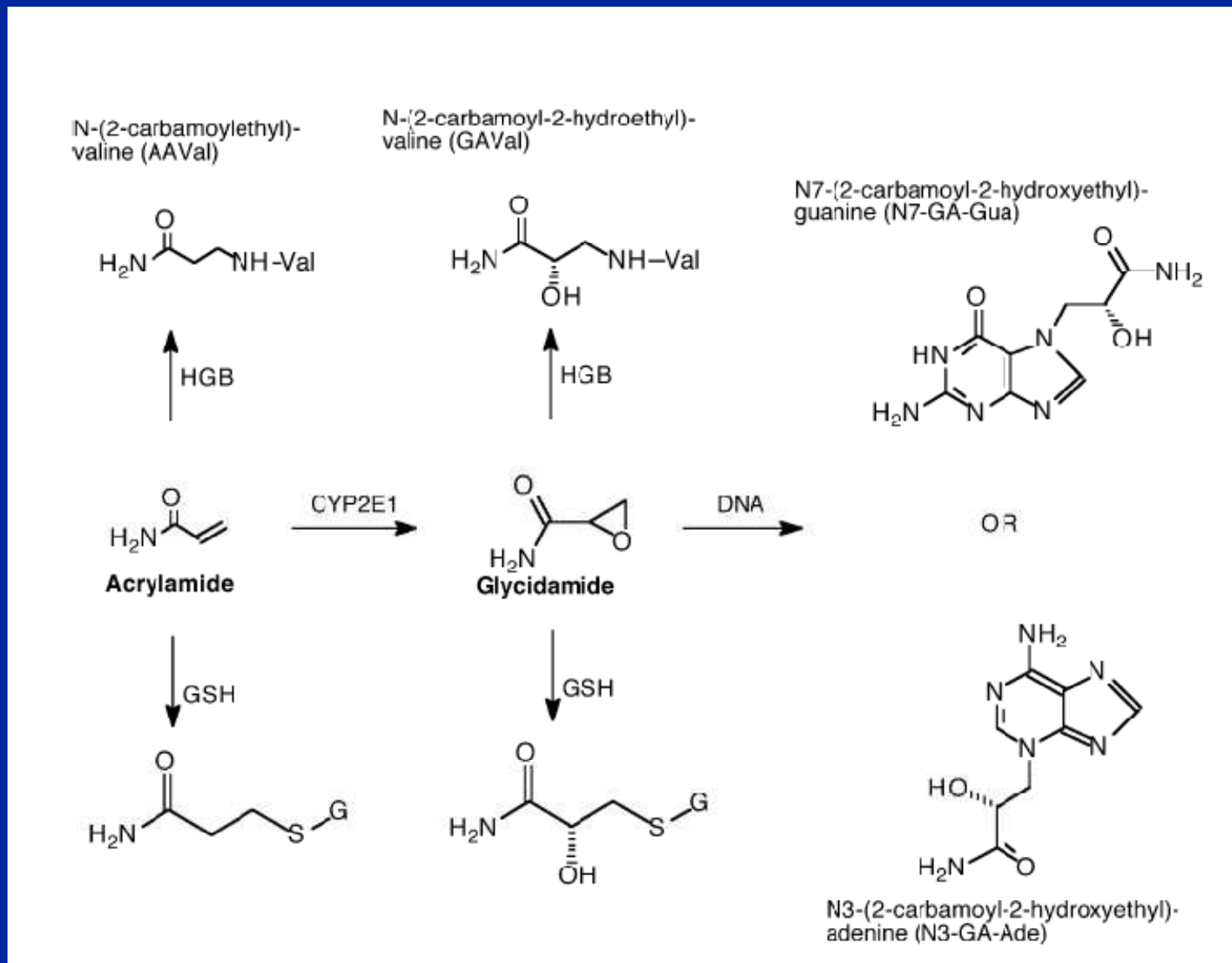


GENOTOXICITA – METABOLICKÁ AKTIVACE BENZIDINU (příklad účasti jiných enzymů na bioaktivaci:

Bioaktivačními enzymy mohou být peroxidázy a další enzymy



AKRYLAMID: detoxikace, metabolická aktivace, tvorba aduktů s proteiny a DNA



OXIDATIVNÍ STRES

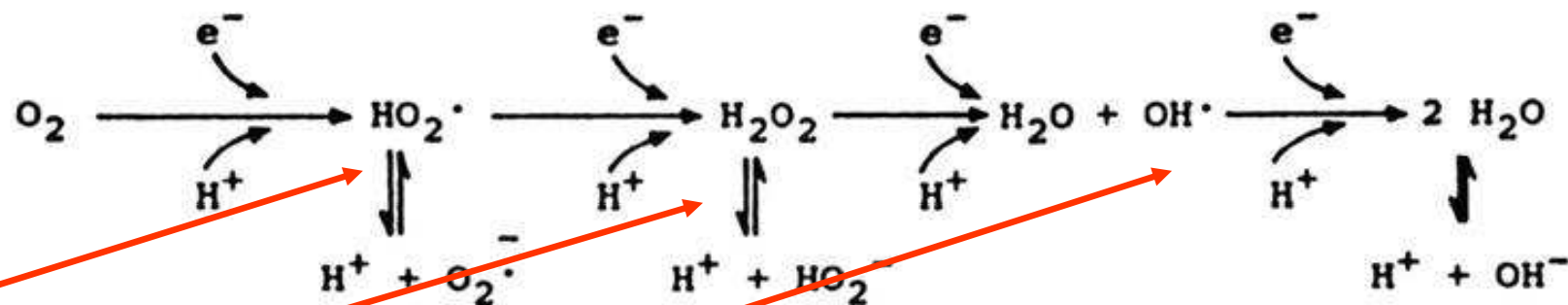
OXIDATIVNÍ STRES

Oxidativní stres je nerovnováha mezi (zvýšenou) produkcí ROS a oxidovaných metabolitů a limitovanou kapacitou antioxidačních mechanismů.

Hlavní mechanismy vzniku ROS:

- **chorobné stavy (reumatoidní choroby, záněty...)**
- **redoxní cyklování (např. naftochinony, adriamycin, paraquat aj.)**
- **vedlejší produkty respirace a dalších metabolických procesů (prostaglandin H syntáza, diaminoxidáza, xanthinoxidáza)**
- **aktivace O_2 v cyklu P450 (např. pomalu metabolizované substráty CYP2B – fenobarbital, lindan), vznik i v respiračním řetězci**
- **přímá produkce ROS (t-BuHP, cis-DPP)**
- **snížení hladiny GSH (dietylmaleát)**
- **radiace**

REAKTIVNÍ FORMY KYSLÍKU (ROS)

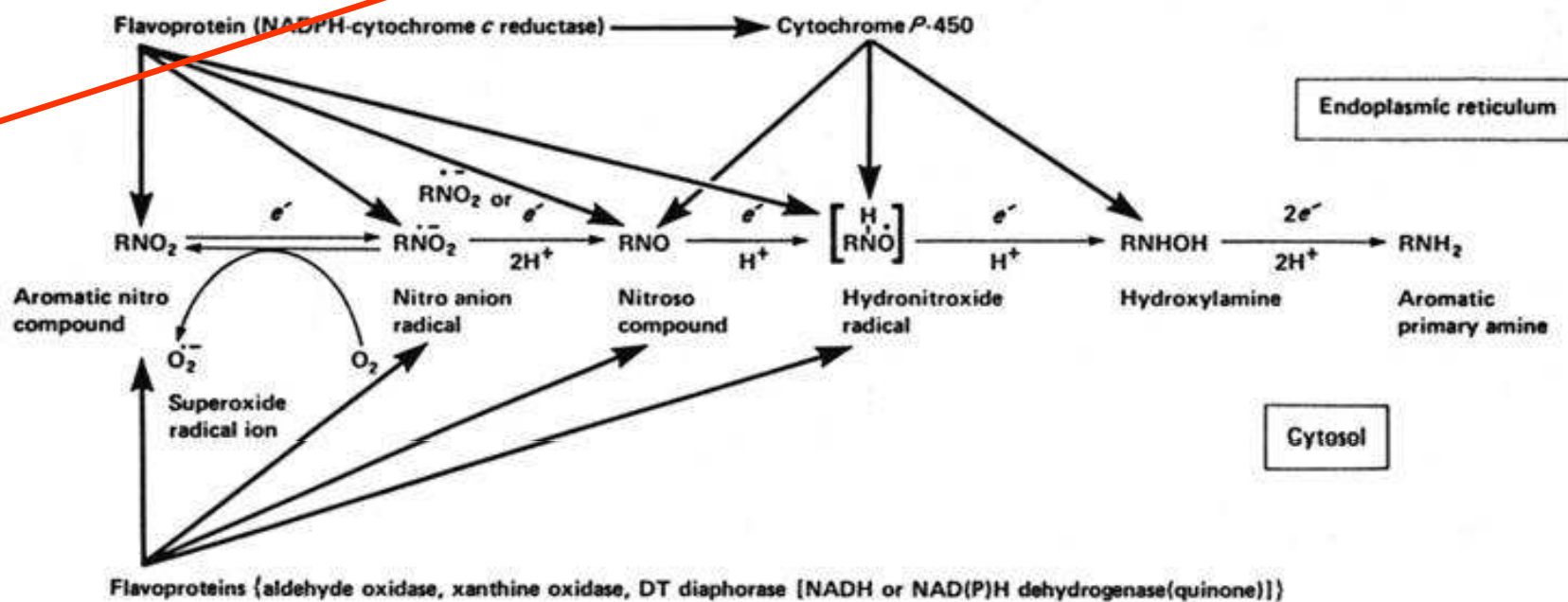


Superoxid

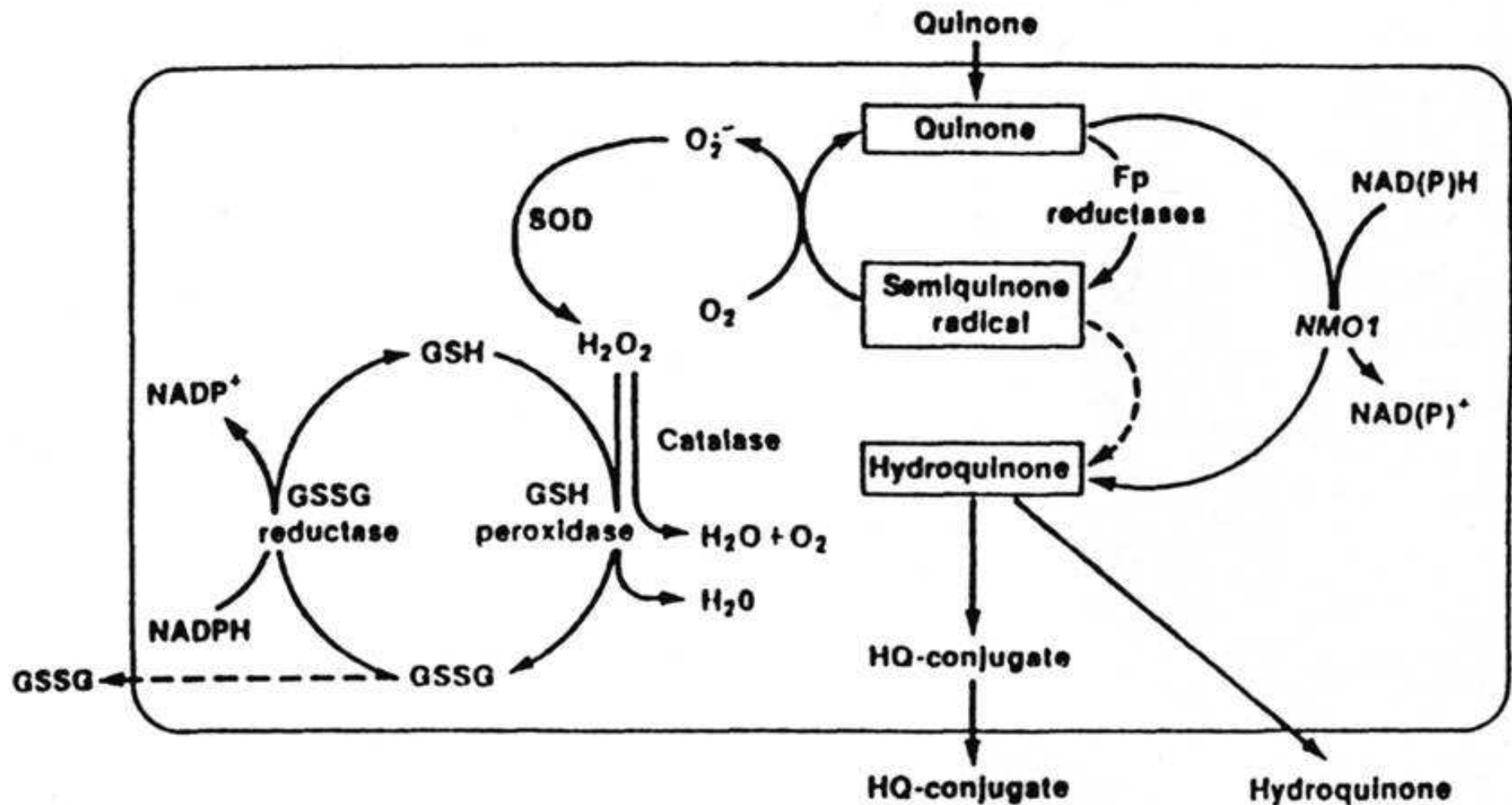
Peroxid

Hydroxylový
radikál

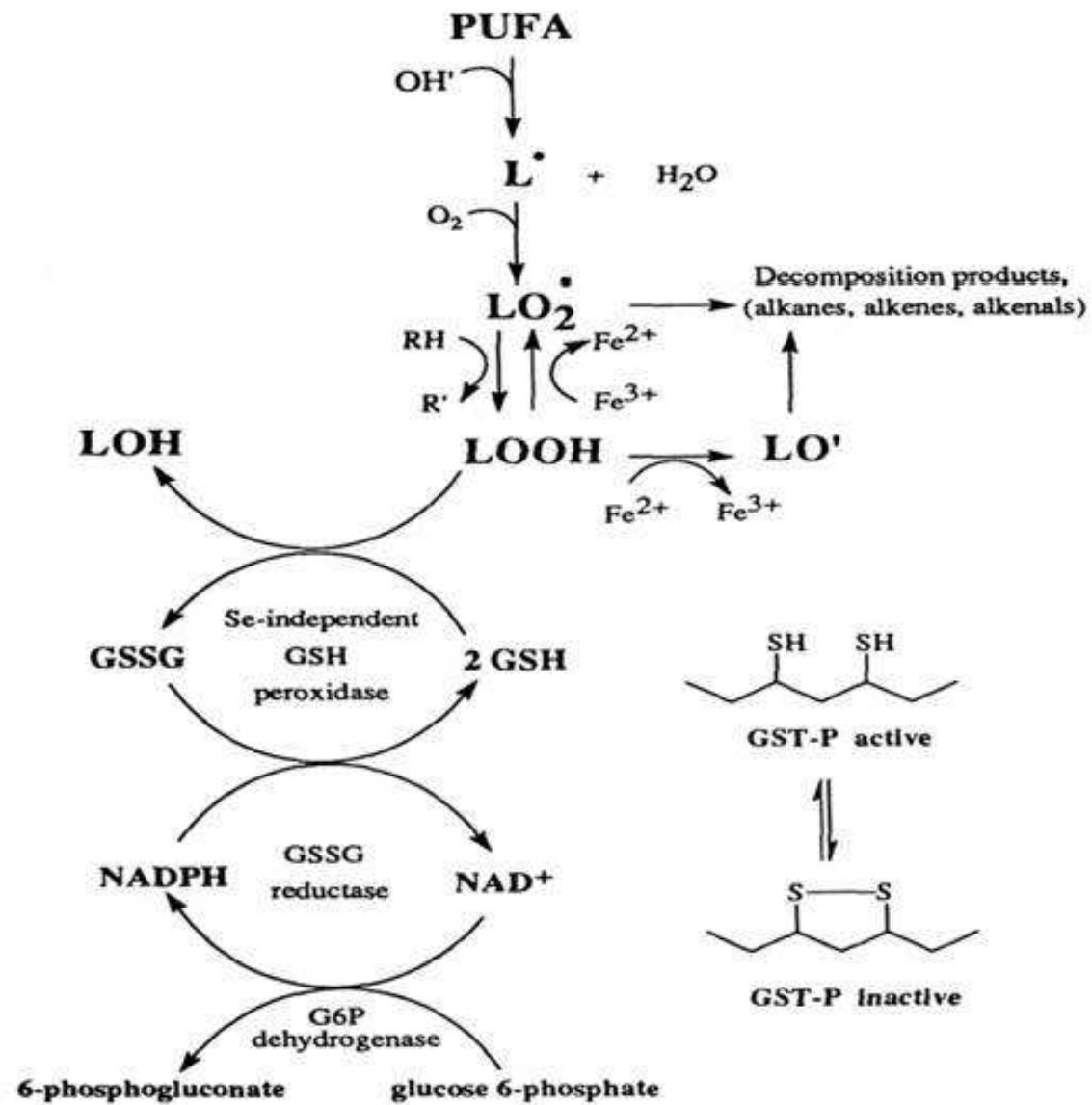
Redukce
nitrosloučenin



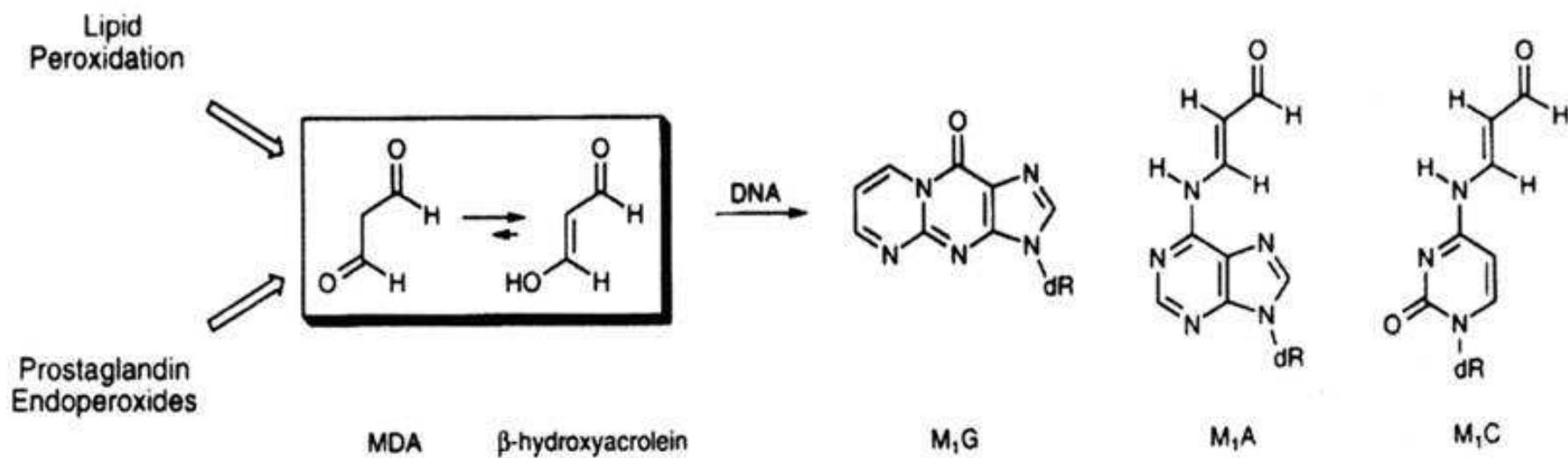
REAKTIVNÍ FORMY KYSLÍKU: redoxní cyklování chinonů / antioxidační enzymy



PEROXIDACE LIPIDŮ



MALONDIALDEHYD - TYPICKÝ PRODUKT PEROXIDACE LIPIDŮ TVOŘÍ ADUKTY S DNA

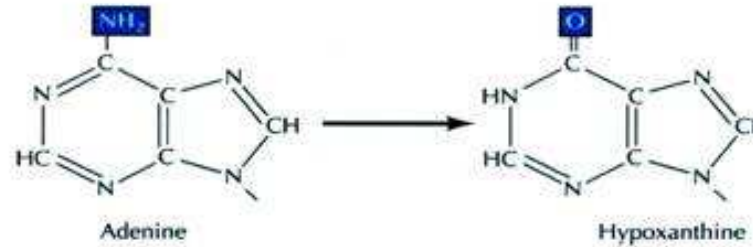
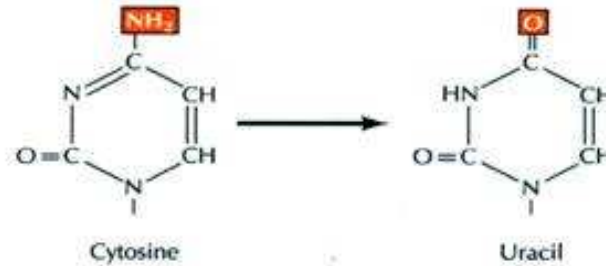


HLAVNÍ TYPY POŠKOZENÍ DNA („apurinic sites“ a oxidačně modifikované báze)

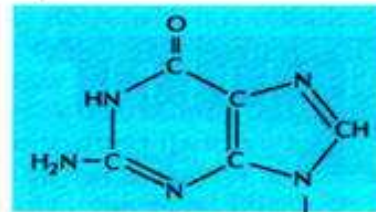
Oxidativní deaminace



(A) Deamination



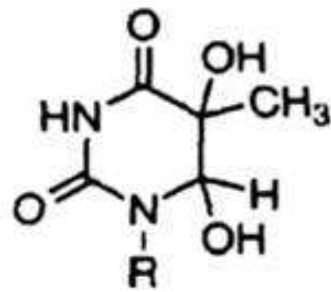
(B) Depurination



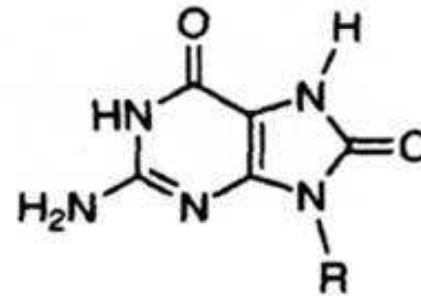
Depurinace
(nestabilní
modifikované
nukleotidy)



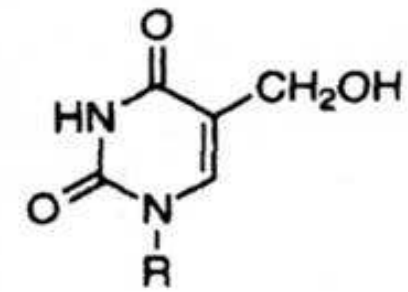
PRODUKTY OXIDATIVNÍHO POŠKOZENÍ DNA



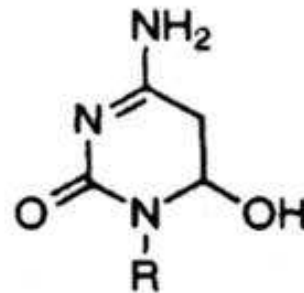
thymine glycol



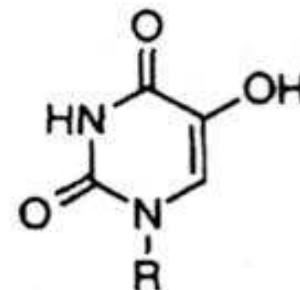
8-oxo-dG



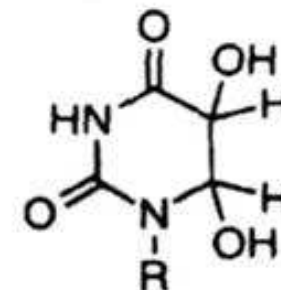
5-hydroxymethyluracil



6-hydroxy-5,6-dihydrocytosine



5-hydroxyuracil



uracil glycol

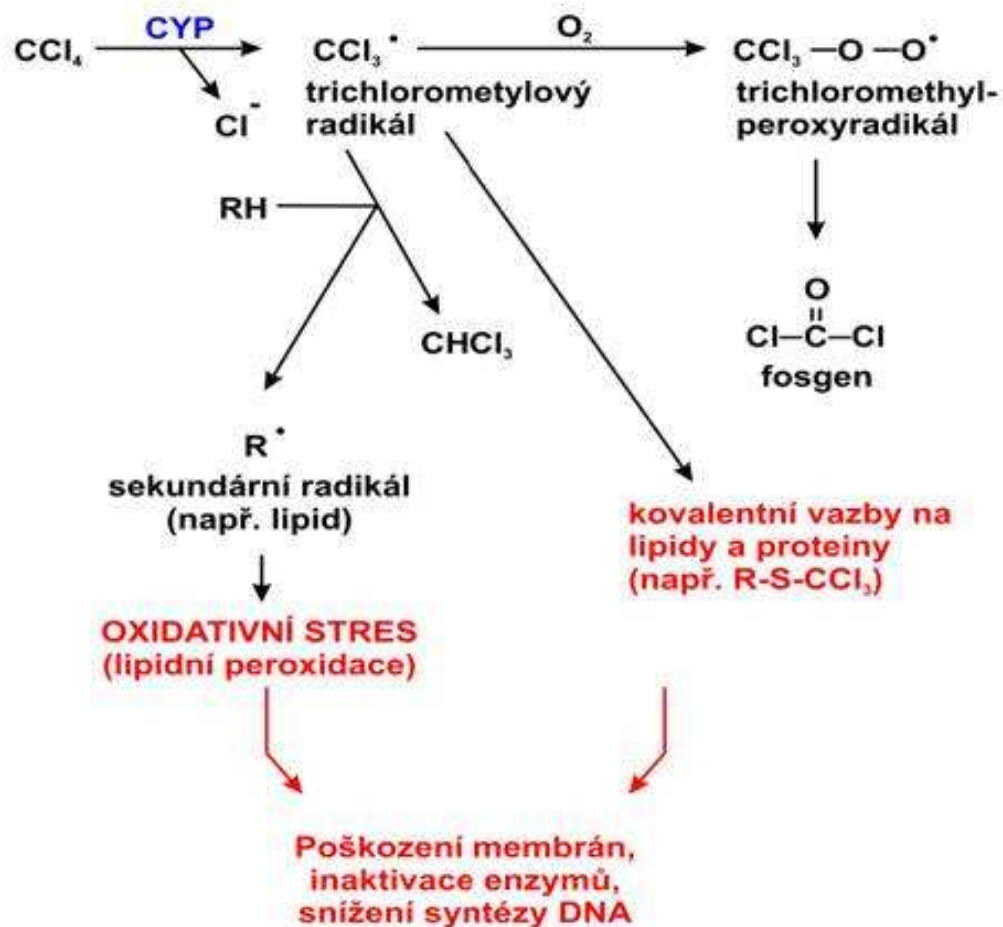
Biomarker
oxidativního
poškození
DNA
(stanovení
HPLC)

METABOLICKÁ AKTIVACE TETRACHLÓRMETANU:

Toxicita CCl_4 :

- alkylace,
- oxidativní poškození,
- toxický metabolit (fosgen)

METABOLICKÁ AKTIVACE CCl_4 JATERNÍMI CYTOCHROMY P450



METABOLICKÁ AKTIVACE A DETOXIKACE BENZENU:

