



Centrum pro výzkum  
toxických látek  
v prostředí

# Moderní přístupy studia biochemických a buněčných mechanismů toxicity v ekotoxikologických biotestech

## Klára Hilscherová



evropský  
sociální  
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

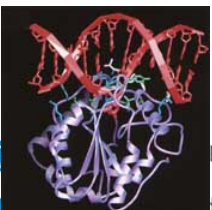
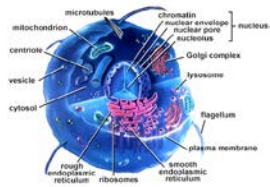
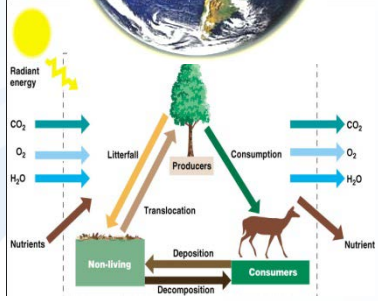


OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Inovace tohoto předmětu je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky



pro výzkum  
látek  
di



**NÍZKÁ**

**VYSOKÁ**

Ekologická  
relevance  
Trvání odpovědi  
Dlouhodobější  
následky

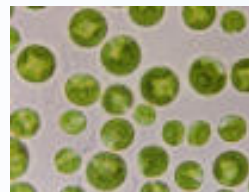
Flexibilita  
Schopnost určit  
příčinu  
Specifita  
Citlivost

**VYSOKÁ**

**NÍZKÁ**

# BIOMARKERY

- Časné varovné signály potenciálního poškození organismu i celé populace, časný marker toxicity (*i bez morfologických změn*)
- Vybrané parametry, jejichž měřitelné změny jsou prvními, časnými odpověďmi na expozici cizorodými látkami („early warning of biological impact“).
- Cizorodými látkami způsobené změny buněčných nebo biochemických složek, struktur, nebo funkcí, které jsou měřitelné v biologickém vzorku
- Citlivé, rychlé odpovědi, mohou ukazovat mechanismus účinku, předcházejí viditelným symptomům toxicity
- Nejlépe prostudovány u vyšších živočichů (savců, ryb)
- Možno sledovat i u druhů ze standardních akvatických biotestů (řasy, makrofyta, bezobratlí)



# Biochemické markery

- screeningové metody s vysokou predikční schopností, alternativa/doplnění ke stávajícím metodám.
- používány v základním toxikologickém, ekotoxikologickém a farmakologickém výzkumu, v medicínské diagnostice.
- některé obecně akceptovány.
- řada parametrů testována jako potenciální biochemické markery.
- potenciál využití jako alternativní metody pro toxikologické hodnocení nových xenobiotik.

Výhoda biologických a biochemických indikátorů kontaminace: schopnost vypovídat o vlivu znečištění v celém jeho komplexu, se všemi synergistickými a antagonistickými vlivy mezi jednotlivými znečišťujícími komponenty.



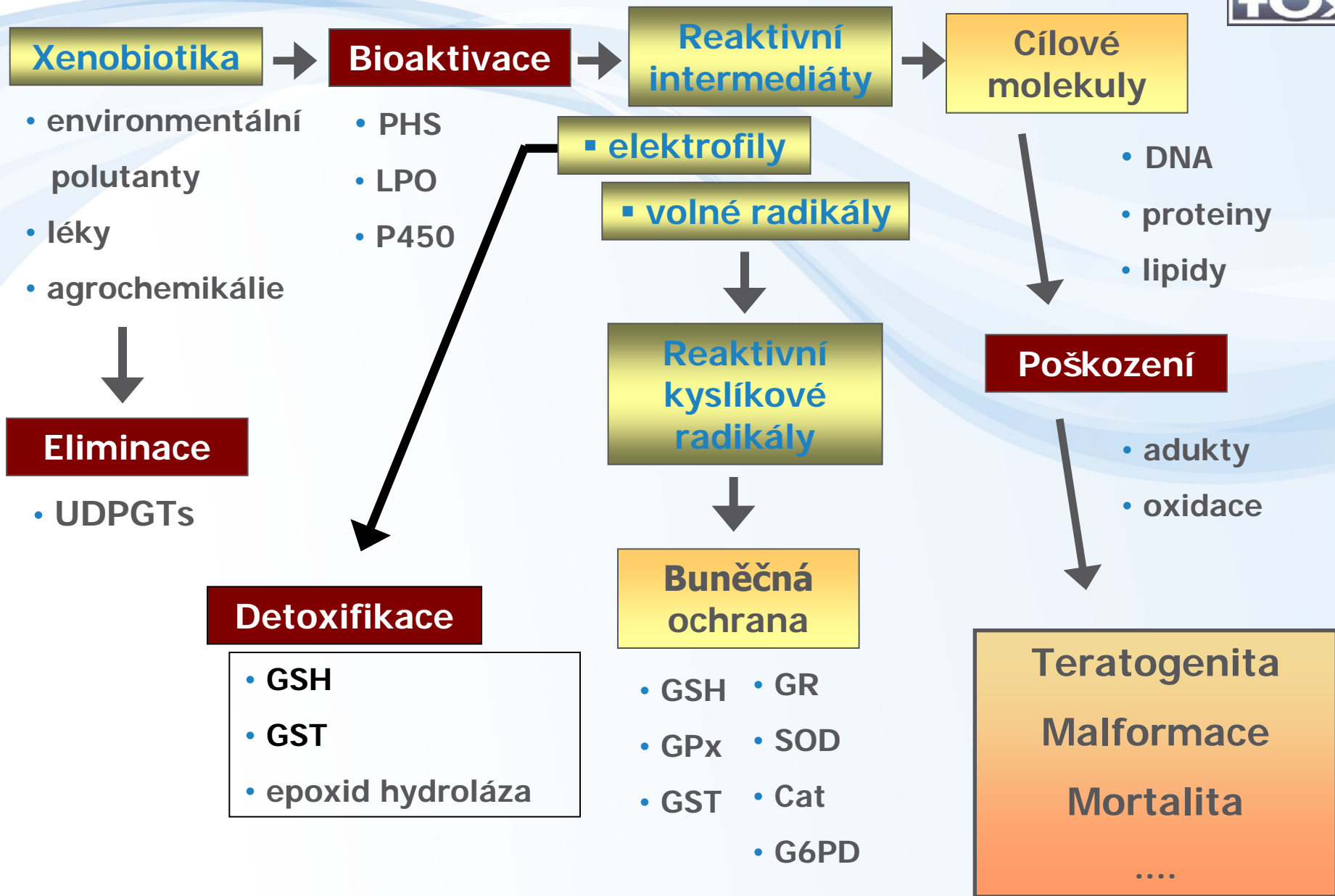
# Biochemické markery

**Princip:** toxické látky v subletálních koncentracích způsobují změny hodnot hematologických, biochemických ukazatelů, nespecifické imunity, vyvolávají histopatologické změny v tkáních.

Po vstupu cizorodých látek do organismu či buňky dochází:

- k jejich vazbě na buněčné receptory kontrolující klíčové buněčné pochody,
- ke vzniku reaktivních intermediátů,
- k inhibici určitých enzymových aktivit a dalším procesům, které předcházejí toxickým a dalším negativním efektům na úrovni buňky, orgánů, organismů a populací.





# Biochemické markery toxicity

- indikují mechanismus toxicity, nikoliv určitou cizorodou látku.
- některé biochemické parametry specificky odrážejí expozici některou třídou nebo skupinou kontaminantů.
- biologickými modely jsou nejčastěji jaterní tkáň, i další tkáně dle typu biomarkeru a cíle studie, primární hepatocyty nebo permanentní linie odvozené od hepatocytů, případně odebraná krev či jiné tělní tekutiny
- Vhodně zvolené biomarkery jsou významnými indikátory zdravotního stavu organismů v monitorovaném ekosystému.
- Předností je schopnost detekovat toxické účinky látek před manifestací jejich účinku, tzn. před narušením fyziologických funkcí jako např. růstu, vývoje, reprodukce.



**Biomarkery** = biochemické či fyziologické indikátory expozice nebo vlivů xenobiotik na suborganismální nebo organismální úrovni

**Výhoda: odpovídají na expozici = reagují pouze na polutanty dostupné pro organismus.**

Vhodné biomarkery by měly splňovat následující vlastnosti:

- (i) senzitivní ve srovnání s ostatními biomarkery;
- (ii) specifická ke konkrétním druhům chemických xenobiotik;
- (iii) permanentní odpověď;
- (iv) jasnost v interpretaci a propojení na vlivy vyšší úrovně;
- (v) spolehlivost, reprodukovatelnost;
- (vi) preciznost, jednoduchost a nízké náklady;
- (vii) aplikovatelnost v terénních podmínkách a validace v terénu



# BIOMARKERY EXPOZICE

- identifikují látku v systému a interaktivní produkt mezi xenobiotikem a endogenní složkou nebo jiné skutečnosti v biologickém systému způsobené expozicí.
- charakterizují množství toxikantu, které proniklo do organismu
- neposkytují příliš informací o následcích expozice, různě specifické

# BIOMARKERY ÚČINKU-VLIVU

- biochemické změny, které se projevily jako výsledek negativní interakce toxikantu a biologického systému a mohou vyústit až v patologické poškození organismu



# Biomarkery expozice

## I. Stresové proteiny (proteiny teplotního šoku)

- nespecifické, indukovatelné u rostlin i živočichů

## II. Inhibice esterázové aktivity (acetylcholinesterázy)

- enzym nervového systému živočichů, specifická odpověď
- po expozici organofosfátových pesticidů a karbamátů
- primární toxický vliv těchto látek, stupeň inhibice enzymů je v úzkém vztahu k expozici tkání

Acetylcholinesteráza (AChE): zejména v mozku, červených krvinkách a plasmě některých obratlovců, zodpovědná za hydrolýzu acetylcholinu, hlavního přenašeče nervových vzruchů mezi nervovými buňkami. Její inhibice silně ovlivňuje přenos nervových signálů.

## III. Metalothioneiny

- cytoplasmické kovy-vážící proteiny, vyskytují se u řady eukaryot, indukce po expozici kovy, biomarkery vlivu toxických kovů.
- skupina proteinů s nízkou molekulovou hmotností, vysokým obsahem aminokyselin obsahujících sulfhydrylové skupiny (zejména cystein) a schopností vázat těžké kovy. K jejich zvýšené syntéze dochází při zvýšené koncentraci iontů kovů, jak esenciálních, tak toxických



# BIOMARKERY EXPOZICE

## IV. Indukce detoxikačních enzymů u rostlin i živočichů

A. Enzymy I. fáze biotransformace – enzymy MFO (monooxygenázy smíšené funkce) – indukce enzymů cytochromu P450 (EROD, MROD, PROD)

**cytochrom P4501A** - biomarker expozice důležitých skupin organických látek

- hladina cytochromu indukována 2,3,7,8-tetrachlodibenzo-p-dioxinem a příbuznými látkami, PCB, PAH
- cytochromy P450 (CYP) jsou hemoproteiny schopné vázat molekulární kyslík a vsunovat jeho jeden atom do molekuly substrátu, kterým mohou být i cizorodé látky, které jsou jedním nebo více cytochromy přeměněny tak, aby mohly být z organismu např. exkretovány.

B. Enzymy II. fáze biotransformace – glutathion transferázy (GST), uridinedifosfoglukuronosyl transferázy, sulfotransferázy



# Biomarkery účinku

- I. **Parametry oxidativního stresu** - produkce kyslíkových radikálů, aktivita antioxidantních enzymů, koncentrace neenzymatických antioxidantů, oxidativní poškození makromolekul
- II. **Parametry energetické bilance organismu** – obsah lipidů, proteinů, uhlovodíků a aktivita elektronového transportu
- III. **Indikátory narušení metabolismu** - metabolické enzymy pyruvát kináza, laktát dehydrogenáza, isocitrát dehydrogenáza
- IV. **Biomarkery zatížení endokrinního systému** - vitelogenin, hormony T3 a T4, enzymy metabolismu steroidních hormonů.
- V. **Genotoxické biomarkery** (narušení integrity DNA – zlomy v DNA, mikrojadérka)
- VI. **Histologicko-patologické změny některých orgánů**



# BIOMARKERY ÚČINKU

## Parametry oxidativního stresu

- produkce kyslíkových radikálů – superoxid, peroxid vodíku, hydroxylový radikál
- aktivita antioxidantních enzymů – glutathion peroxidáza, glutathion reductáza, superoxidáza, kataláza
- koncentrace neenzymatických antioxidantů
- oxidativní poškození makromolekul – lipidní peroxidace, oxidativní adukty DNA, produkty oxidace proteinů

Jedná se biomarkery organochlorových pesticidů, PCB, pesticidů typu paraquat apod.

**Genotoxické biomarkery** (narušení integrity DNA – zlomy v DNA, mikrojadérka) - využívány při hodnocení zatížení ekosystémů látkami s genotoxickým účinkem, které indukují vznik chromosomálních aberací a mutací.

alternativa detekce - metody PCR, RT-PCR a DNA-fingerprintingu, test mikrojadér

Test mikrojadér (MNT) - jednoduchá orientační metoda ke stanovení genotoxicity. Pozitivní po působení PCB, benzpyrenu, benzidinu, apod.

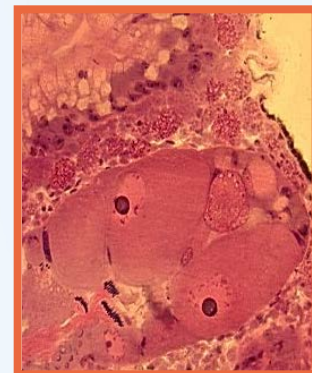


# Biomarkery účinku na endokrinní systém

## Stanovení produkce vitelogeninu

- Vitelogenin je bílkovina produkovaná jaterními buňkami ryb, obojživelníků, plazů a ptáků.
- Produkce je indukována vazbou estrogenů na jaderné receptory.
- U samic je vitelogenin transportován do vaječnicků, kde tvoří součást žloutkových proteinů.
- U samců je hladina endogenních estrogenů přirozeně velmi nízká, a proto je i produkce vitelogeninu minimální
- Po působení ED's s xenoestrogenním účinkem (např. ethinylestradiol, chlordan, toxafen, dieldrin, 4-nonylfenol) dochází u obou pohlaví ke zvýšení hladin vitelogeninu – výrazné zejména u samců
- Naopak působením antiestrogenních ED's (např. metoxychloru) se produkce vitelogeninu minimalizuje pod měřitelnou úroveň.
- Sledován zejména u ryb a obojživelníků

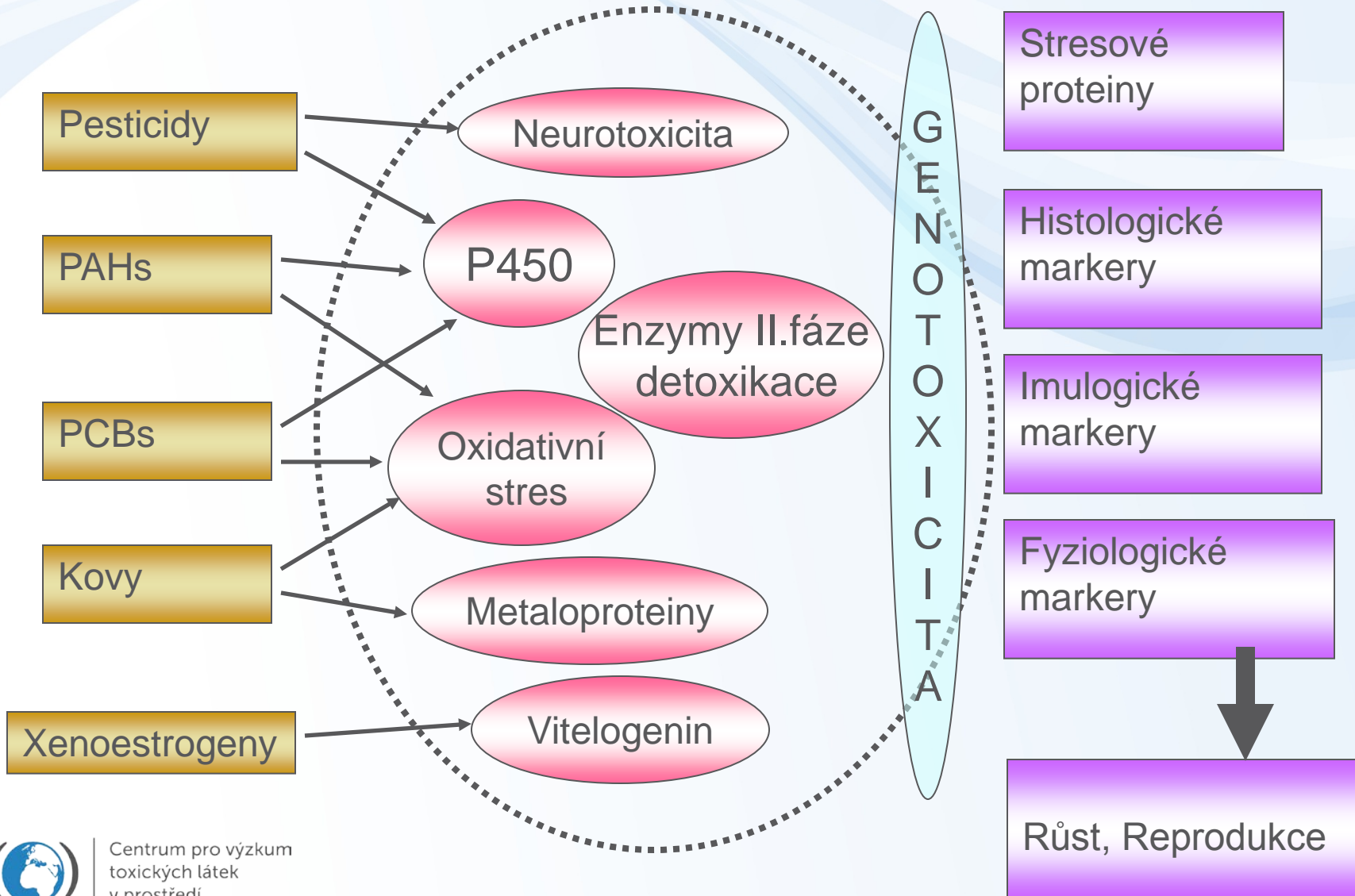
Další parametry: vitelin, cytochromy, hladiny hormonů  
Histochemická charakteristika a lokalizace



# BIOMARKERY

## Specifičtější parametry

## Nespecifické parametry



# Doporučené metody pro biologické monitorovací programy ve vodním prostředí na národních úrovních

Metoda	Organismus	V současnosti používán v monitorovacích programech	Biomarker látek	Biologický význam
Tvorba DNA aduktů	Ryby, mlži	Francie, Holandsko, Švédsko, USA	PAU, nitro látky, aminotriazinové pesticidy	Parametr genotoxických vlivů, citlivý indikátor minulé a současné expozice
Inhibice acetylcholinesterázy	Ryby, korýši, mlži	Francie	Organofosfáty a karbamáty nebo podobné molekuly, možné řasové toxiny	Parametr expozice
Indukce metallothioneinů	Ryby	Monitoring and Research Programme of the Mediterranean Action plan, Holandsko	Indukce metallothioneinových proteinů vlivem určitých kovů (Zn, Cu, Cd, Hg)	Parametr expozice a disturbance metabolismu mědi a zinku
Indukce ethoxyresorufin-O-deetylázy (EROD) nebo cytochromu P450 1A	Ryby	Německo, Francie, Holandsko, UK, Belgie, Monitoring and Research Programme of the Mediterranean Action plan, Norsko	Indukce enzymů detoxikujících planární organické kontaminaty (PAU, planární PCB, dioxiny)	Možný prediktor patologie vlivem mechanistických propojení, senzitivní indikátor současné expozice
Inhibice $\Delta$ -amino levulinové kyselina (ALA-D), indukce vitellogeninu	Samci a juvenilní jedinci ryb	Holandsko, UK	Estrogenní látky	Parametr feminizace samčích ryb a reprodukční poškození



# Aplikace biomarkerů v akvatických testech

- Při přípravě testu nezbytné používat dobře charakterizovaný materiál – homogenní populaci
- faktory ovlivňující biomarkery - druh organismu, pohlaví, věk, vývojové stadium a výživa, environmentální faktory (teplota etc.)
- otestovat a nakalibrovat potřebné množství vzorku podle množství sledovaných parametrů, jejich limitu detekce a spotřeby biologického materiálu pro jednotlivé metodiky - u malých druhů směsné vzorky z více jedinců



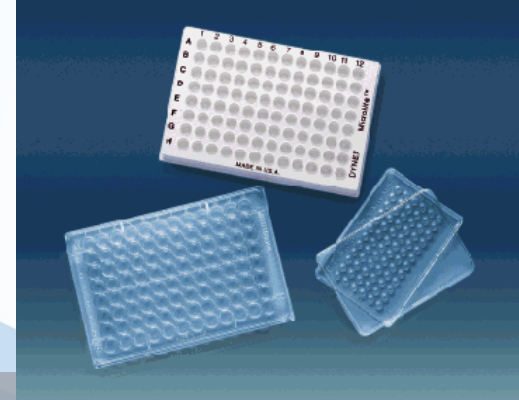
# Biomarkery - závěry

- Biomarkery = citlivé indikátory zatížení organismů environmentálními stresory a subletálních účinků
- Umožňují náhled do subletálních fyziologických procesů – charakterizují mechanismus účinku
- Specifické markery – informují o přítomnosti specifického stresoru
- Použitelnost určitého biomarkeru pro každý nový druh musí být validována a optimalizována, musí být posouzena jeho relevance a míra odpovědi pro nový druh
- Nezbytný multiparametrický přístup
- Studium spojení časných subletálních biochemických a buněčných změn s dlouhodobějšími negativními účinky na úrovni populace a společnosti





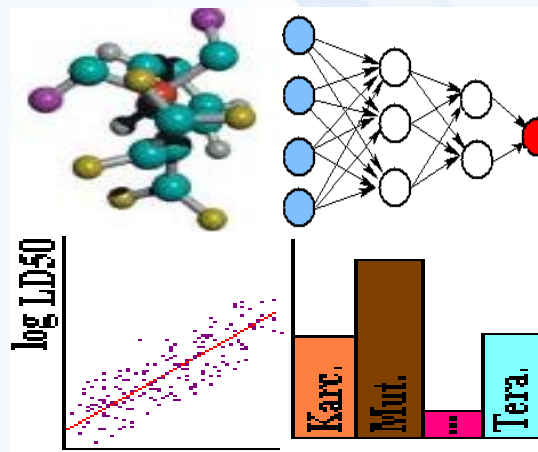
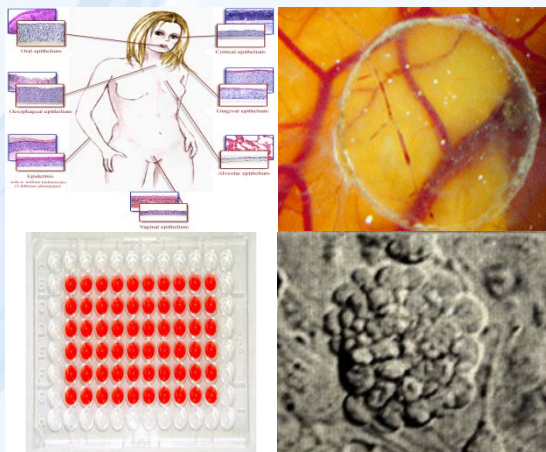
Centrum pro výzkum  
toxických látek  
v prostředí



# Alternativy klasických *in vivo* testů

*in – vitro*

*in – silico*



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Inovace tohoto předmětu je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

# Speciální ekotoxikologické biotesty – *in vitro*

- standardní testy (normy ISO, ČSN, USEPA)
- optimalizace/vývoj nových testů
  
- Toxicita
- Specifické mechanismy neletálních účinků
  - Genotoxicita
  - Dioxinová aktivita
  - Mechanismy endokrinní disrupce – estrogenita, androgenita
  - Immunotoxicita
  - Biochemická ekotoxicita
  
- Testování čistých látek (environmentální polutanty)  
modelových směsí

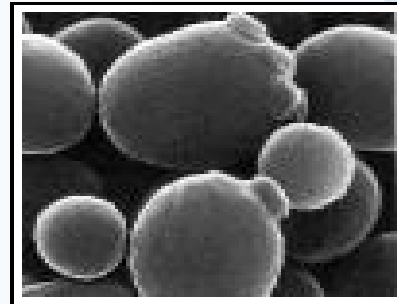
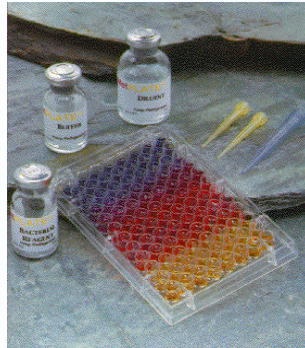
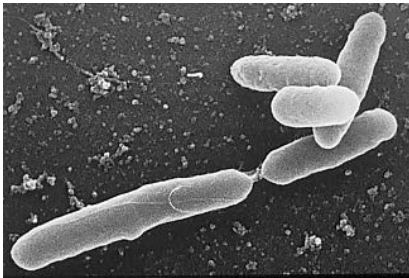


# In vitro toxikologie

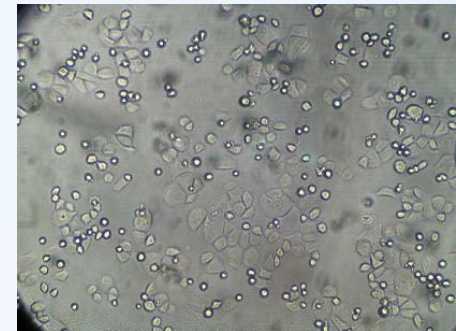
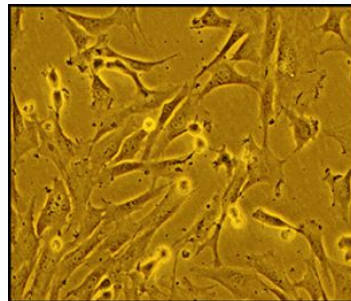
Testy na původních či geneticky modifikovaných prokaryotických či eukaryotických buňkách

- využívány zejména pro teoretické objasnění účinku toxického agens
- v poslední době i pro rutinní provádění testů toxicity

## BAKTERIÁLNÍ TESTY, KVASINKOVÉ TESTY



## TESTY NA TKÁŇOVÝCH KULTURÁCH



# Testy na buněčných kulturách

- **Primární buněčné kultury** – z tkání organismů, jsou nestandardní, což může významnou měrou ovlivnit výsledek testu toxicity (= nízká reprodukovatelnost).
- **Permanentní linie** - například stabilizované linie kožních buněk, nervových buněk, buněk srdečního svalu, buněk odvozených od tkání ledvin a pod., většinou nádorového původu
- buněčný substrát pro založení kultury pochází z modelových druhů nebo se kdysi získal od lidského dárce (jako vedlejší materiál např. při operaci), pak byl stabilizován a uzpůsoben k neomezenému dělení a následné kultivaci.
- dnes se kupuje v buněčné bance, respektive Sběrce buněčných kultur.
- možno získat stabilní buněčné linie z různých orgánů a z různých druhů organismů; tyto linie se velmi dobře přechovávají v hybernovaném stavu.
- **Kmenové buňky a z nich diferencované buňky** – nově vyvíjené modely
  - Vývoj 3D kultivačních technik
- podle předepsaných podmínek (výživa, teplota, vlhkost apod.) lze danou buněčnou kulturu rozpěstovat a použít v toxikologickém testu.
- buňky se nasazují do speciálních nádob pro pěstování buněčných kultur, přidává se živné medium obohacené o antibiotika, případně antimykotika



# Využití tkáňových kultur (TK)



= Alternativní metoda k pokusům na živých organismech

Řada testů optimalizována na provedení v mikrodestičkách (high throughput testing)

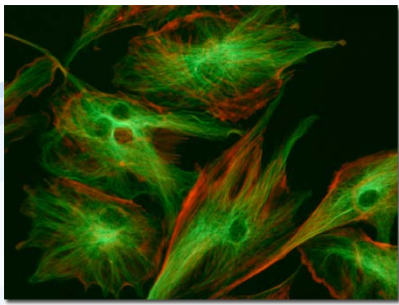
- stabilizované linie se dobře pěstují, rychle rostou a lze vytvořit mnoho vzorků menších kultur, ke kterým se přidávají do kultivačního prostředí chemické látky a zkoumá se charakter toxických účinků

**Výhody TK:** výrazné snížení množství zvířat použitých v experimentu

- zajištění vysokého počtu vzorků; původ kontrolních i experimentálních vzorků ze stejné tkáně, což minimalizuje variabilitu získaných výsledků.

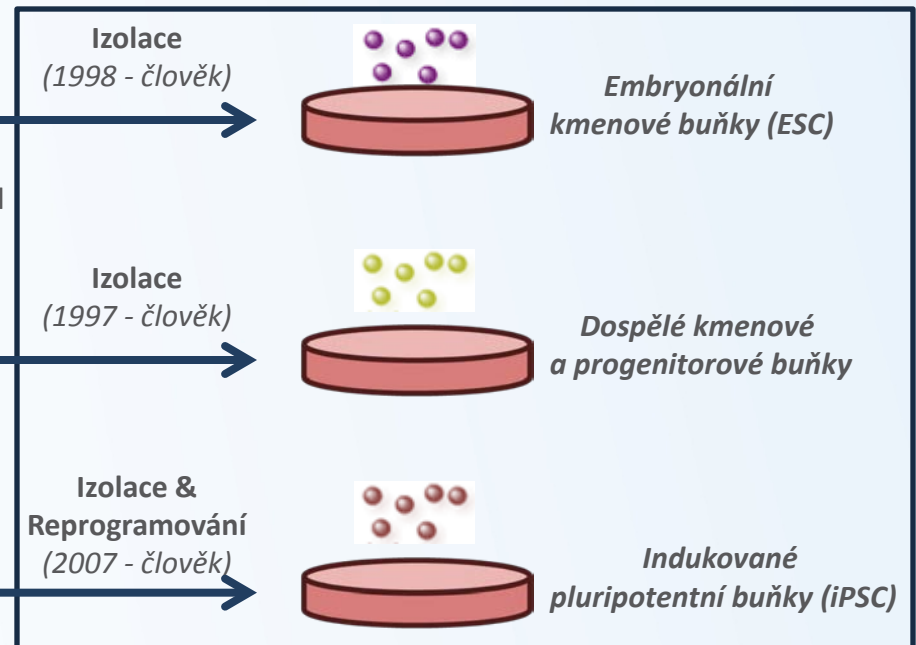
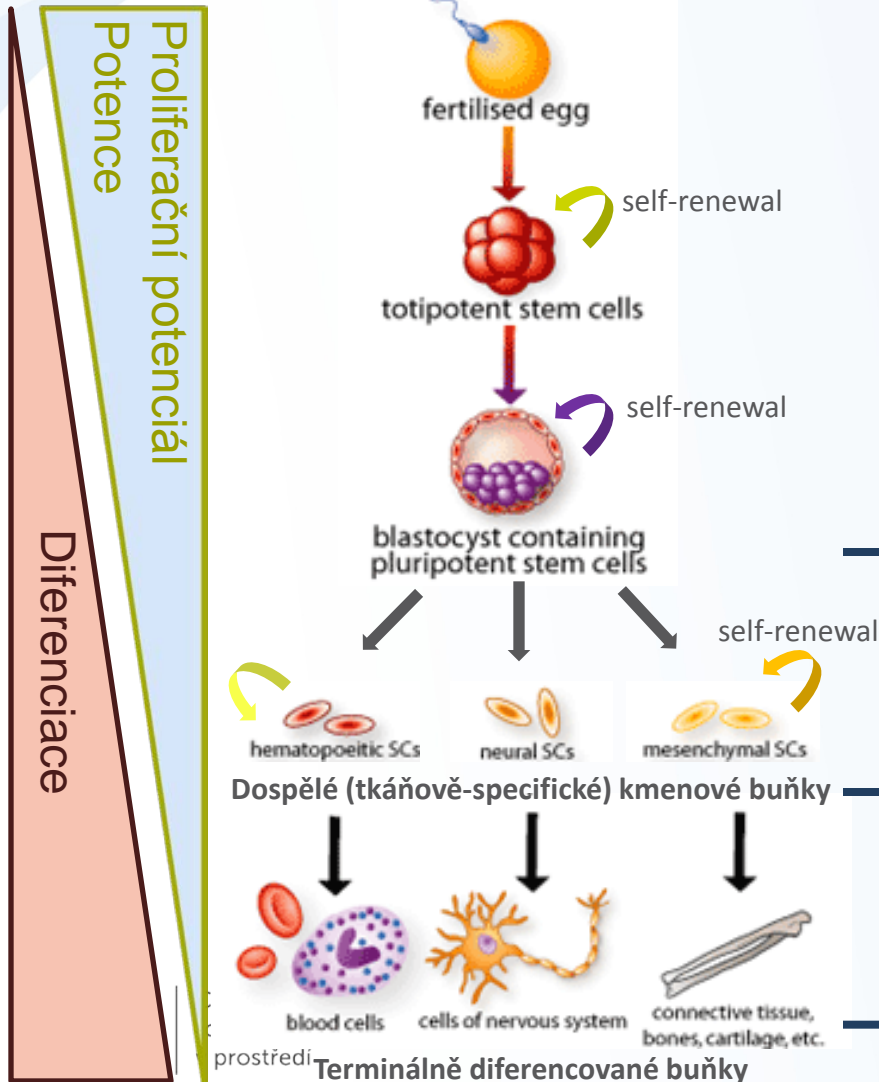
**Nevýhoda TK:** možnost sledovat účinky testované látky pouze na konkrétním druhu tkáně, ze kterého byla TK připravena, tedy chybějící možnost posouzení zdravotního stavu a chování celého živočicha.



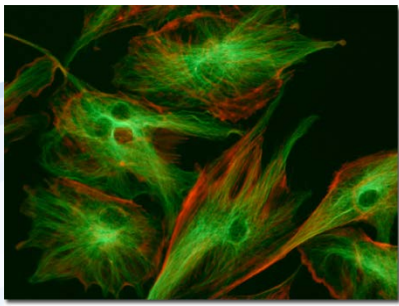


# IN VITRO TOXIKOLOGIE & KMENOVÉ BUŇKY

- Normální nenádorové buňky organismu
- Symetrické (self-renewal) a asymetrické dělení (diferenciace)
- Proliferační potenciál a potence
- Vývoj protokolů pro jejich *in vitro* diferenciaci do požadovaných typů buněk







# IN VITRO TOXIKOLOGIE & KMENOVÉ BUŇKY

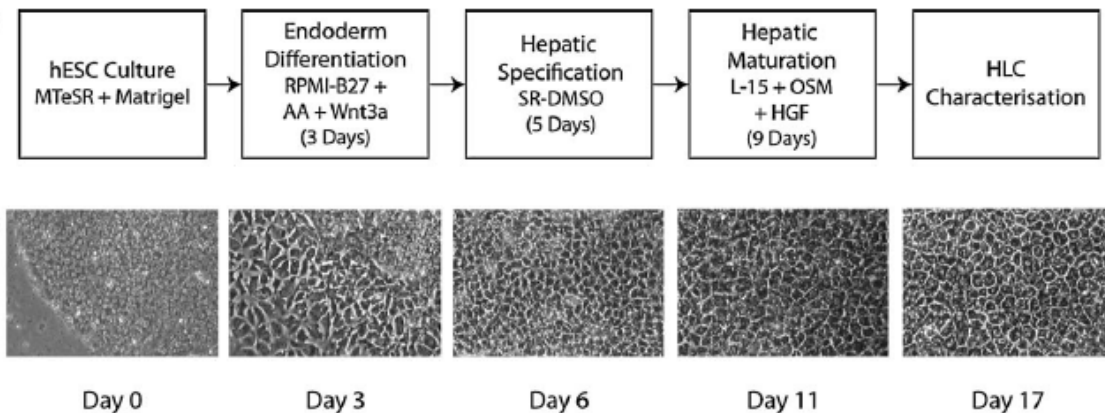
## Příklad: Hepatotoxicita

- Játra – hlavní detoxikační orgán
- Biotransformace / bioaktivace toxických látek
- Permanentní jaterní linie (např. HepG2) – nízká aktivita detoxikačních enzymů – malá relevance

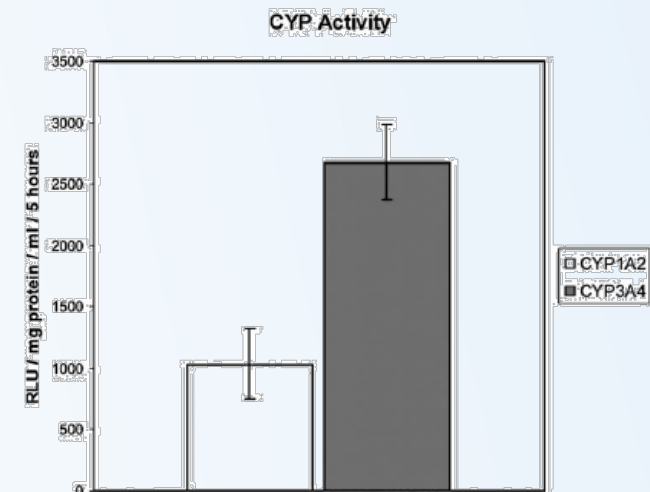
Gen	Genová exprese	
	Izol.hepatocyty	HepG2
CYP2B6	100	0.5
CYP2C9	100	0
CYP3A4	100	0
UTG1A1	100	5.2
AldB	100	0
Albumin	100	12.3

(Guillouzo 2010, Toxicology 270)

## In vitro diferenciace hESC do „hepatocyte-like cells“

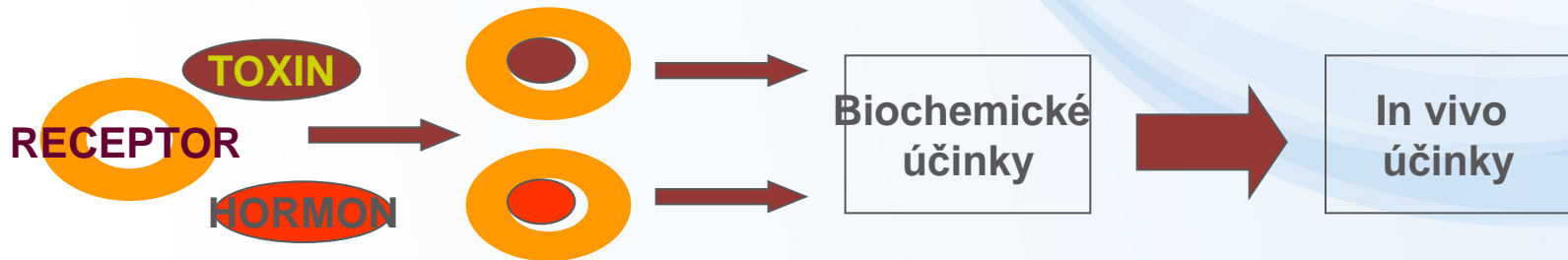


(Greenhough 2010, Toxicology 278)



# MECHANISMY chronické toxicity polutantů

- Princip: různé chronické účinky chemické látky vycházejí ze společného biochemického mechanismu působení
  - Základní výsledky z mechanisticky založených *in vitro* testů

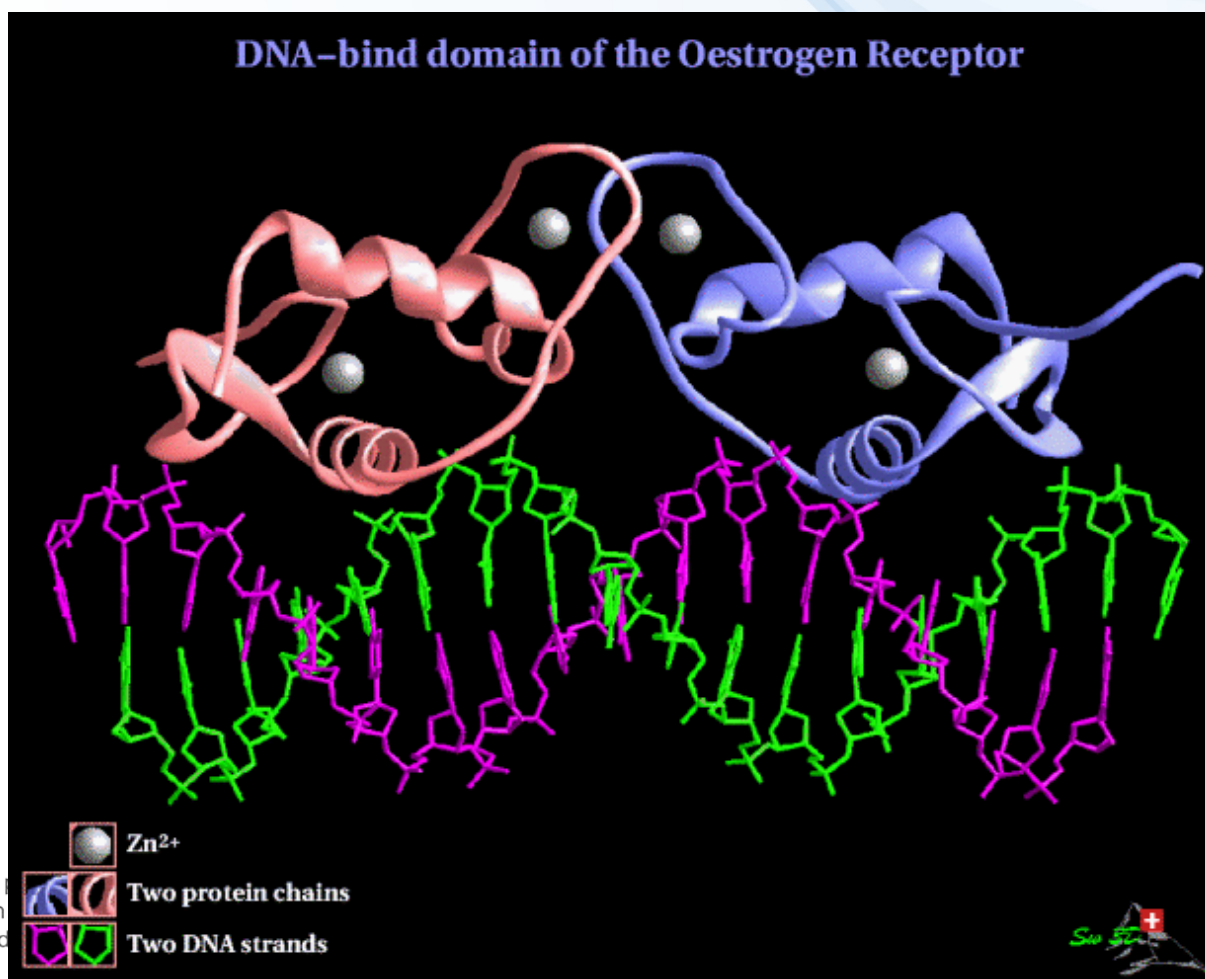


- zhodnocení *in vitro* účinků jednotlivých látek
  - Poznání zásadního mechanismu, predikce rizika
- využití pro hodnocení rizik a/nebo monitoring
  - Určení relativních potencí ("toxických ekvivalentů") -> RA
  - Biomarkery *in vitro* – přímá charakterizace komplexních vzorků



# Receptorově-mediované mechanismy toxicity

## ESTROGENNÍ RECEPTOR - ER



# Testy receptorově-mediovaných mechanismů

- Jaderné receptory zahrnují několik rodin receptorů: Androgenní receptor (AR), **estrogenní receptor (ER)**, progesteronový receptor (PR), glukokortikoidní receptor (GR) a mineralokortikoidní receptor (MR) jsou hlavními představiteli rodiny steroidních receptorů
- **Aryl hydrokarbon receptor (AhR)** – umístěný v cytosolu
- Receptory slouží jako poslové mezi genomem a extracelulárními signály, na které musí buňka reagovat, aby přežila.
- Např. AhR regulují na základě interakce s xenobiotiky expresi enzymů I. a II. fáze biotransformace a některých detoxifikačních transportérů, které se přímo podílejí na biotransformaci nebo exkreci xenobiotik.

## **Princip testu: sledovaná aktivita reportérového enzymu odpovídá potenci látky či směsi pro interakci s receptorem**

aktivita reporterového genu, např. luminometrie - indukce nebo inhibice reporterové luciferázy, nebo spektrofotometrie – indukce nebo inhibice reporterové  $\beta$ -galaktosidázy



# Studované mechanismy účinku Interakce s jadernými receptory – důležité mechanismy chronické toxicity

## Toxicita dioxinového typu

- Aryl hydrokarbonový receptor (AhR)
- indukce detoxikačních systémů
- narušení funkce jater, imunity a reprodukce, endokrinního a nervového systému, karcinogenita, embryotoxicita
- „cross-talk“ s jinými hormonálními signálními drahami

## Anti/estrogenita

- Estrogenní receptor (ER)
- vývoj pohlaví, řízení reprodukce, karcinogeneze, ovlivňuje buněčnou proliferaci a diferenciaci, vývoj a homeostázu

## Anti/androgenita

- Androgenní receptor (AR)
- vývoj pohlaví, zejména samčích pohlavních charakteristik, řízení reprodukce, karcinogeneze, ovlivňuje růst, spermatogenezi

## Glukokortikoidní aktivita

- Glukokortikoidní receptor (GR)
- ovlivňuje vývoj, metabolismus, imunitní odpověď, reakci na stres

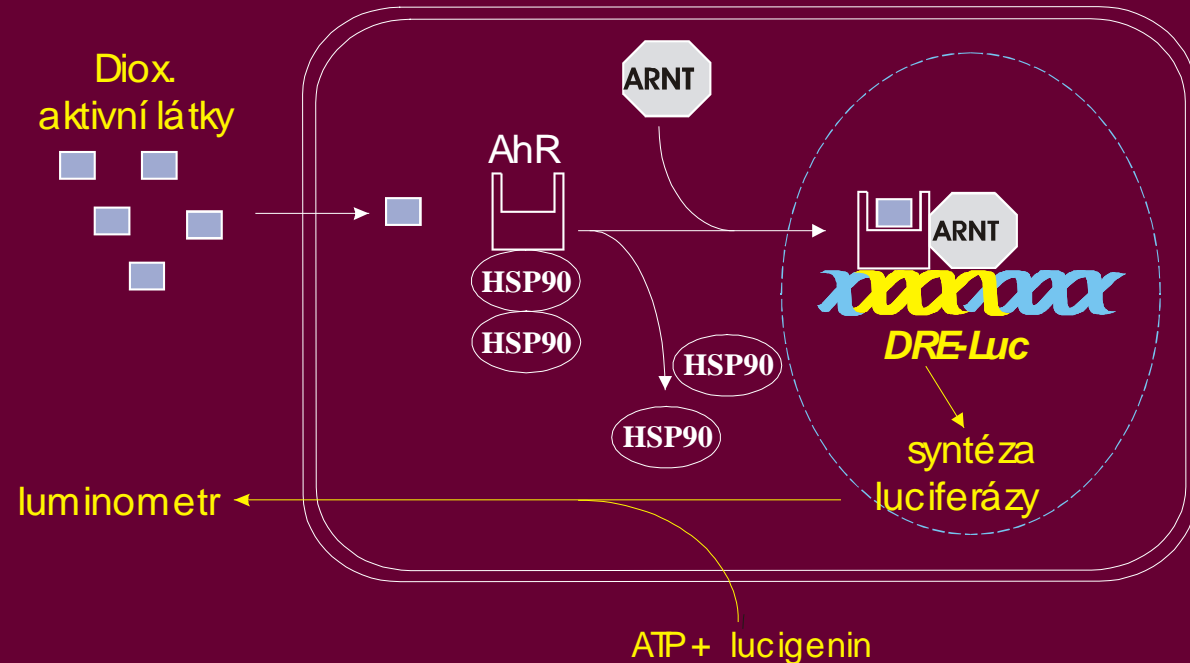
## Anti/retinoidní aktivita

- Receptor kyseliny retinové (RAR)
- reguluje růst, morfogenezi, apoptozu a diferenciaci, ovlivňuje nervový a imunitní systém, vidění a embryonální vývoj



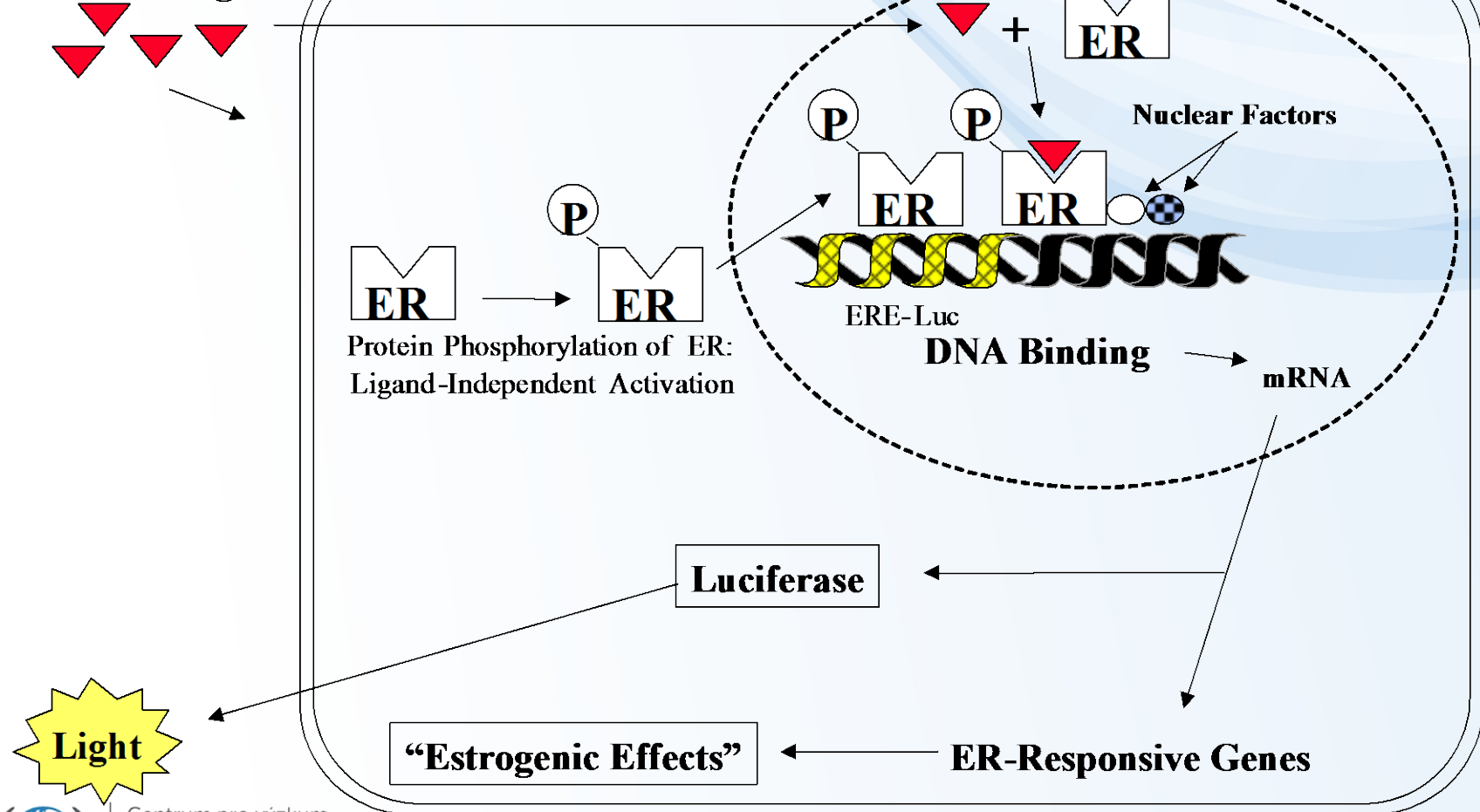
# *In vitro* stanovení dioxinové toxicity

- Stanovení na buněčné linii krysího hepatomu H4IIE.luc
- Pod kontrolu AhR-responsivního elementu vložen gen pro luciferázu

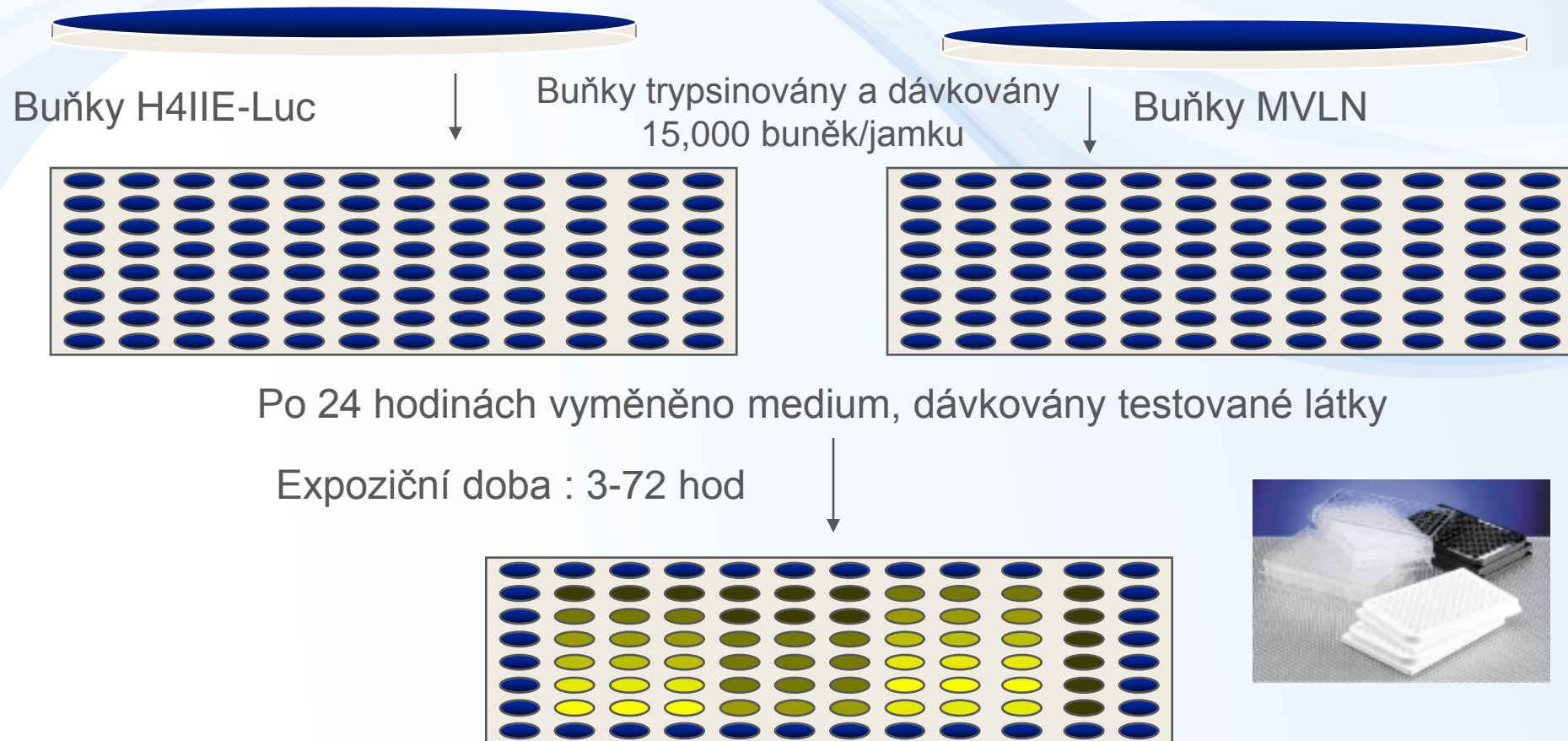


# *In vitro* stanovení estrogenní aktivity

Estrogen  
or xenoestrogen



## In vitro biotesty k detekci dioxinové a estrogenní aktivity



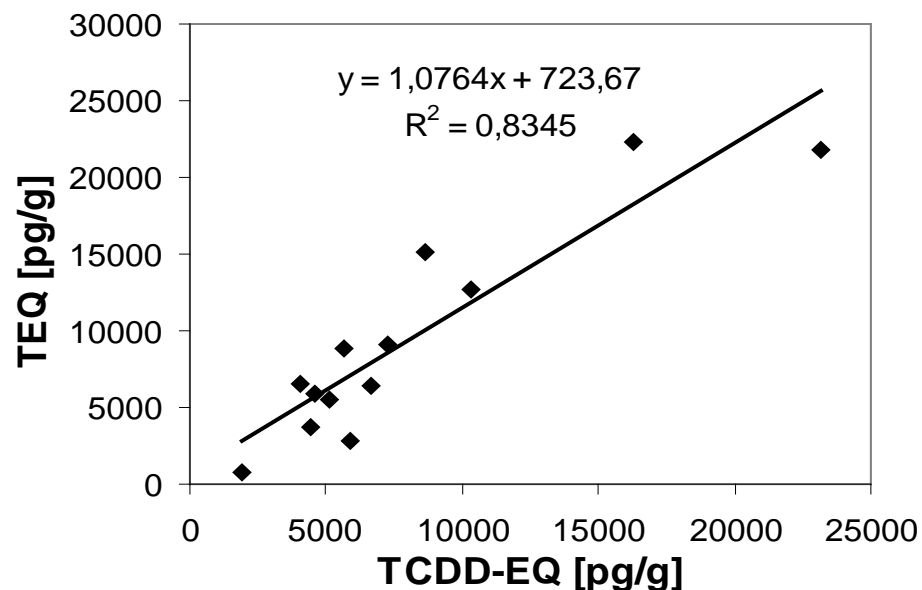
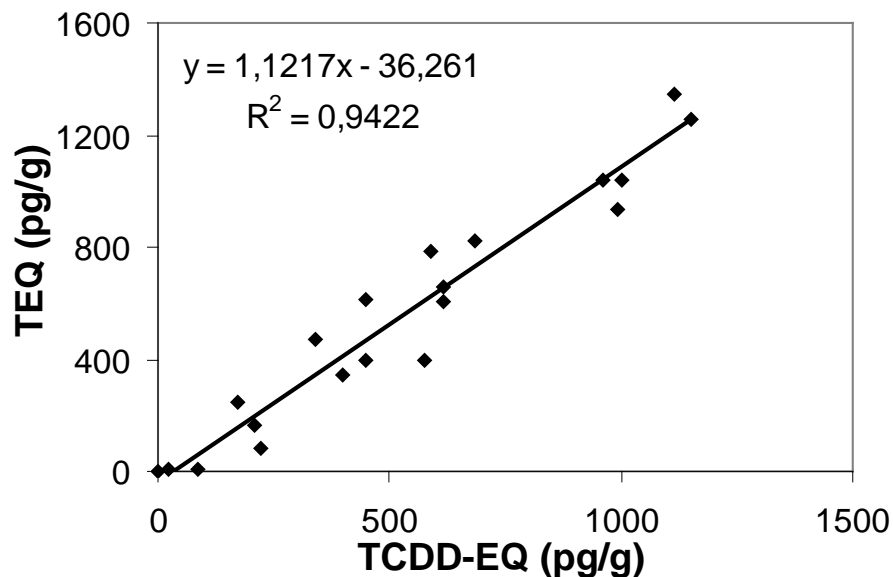
Po expozici odstraněno medium, buňky vymyty puřem a přidán LucLite reagent.  
Po 20 minutách měřena aktivita luciferázy v destičkovém luminometru.



## In vitro testy na buněčných liniích

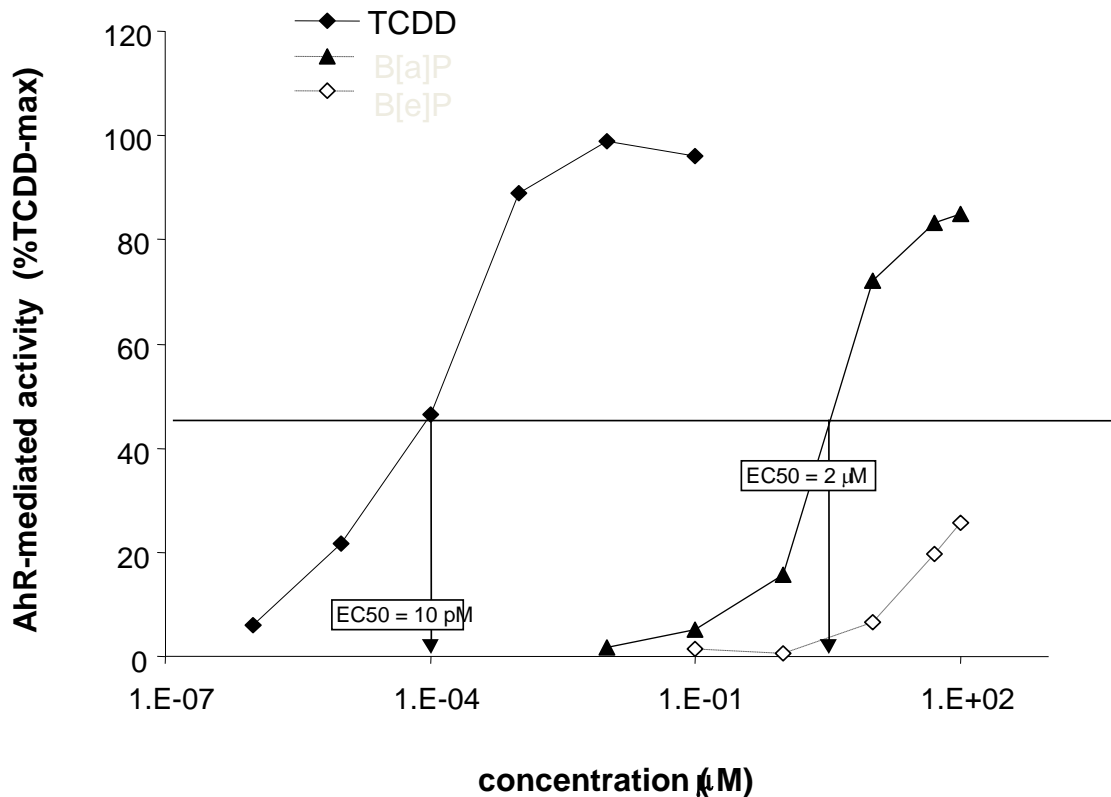
- hodnocení expozice látkami se specifickým mechanismem účinku (látky s dioxinovou, estrogenní aktivitou)
- reportérové buněčné linie transfekované genem luciferázy, který je indukován po navázání ligandu na receptor
- kalibrace odpovědi standardním ligandem (2,3,7,8-TCDD pro dioxinovou aktivitu,  $17\beta$ -estradiol pro estrogenní aktivitu)

Vztah mezi dioxinovými toxickými ekvivalenty stanovenými v biotestu na buněčné linii (TCDD-EQ) a spočítanými z výsledků chemických analýz



# Srovnání různých látek -> Použití v hodnocení rizik

- Kvantifikace účinků ( $EC_{50}$ ) - relativní potence
- Srovnání s účinkem referenčního toxikantu (2,3,7,8-TCDD)
  - Vyjádření jako relativní potence/ Ekvivalenční Faktor ( $\sim$  REP/TEF)



TCDD:  $EC_{50 \text{ TCDD}}$

PAH:  $EC_{50 \text{ PAH}}$

**Relativní potence**

$$REP = EC_{50 \text{ TCDD}} / EC_{50 \text{ PAH}}$$

*Kolikrát je ta látka slabší ligand než TCDD ?*

# Toxické equivalenční faktory pro PCDDs, PCDFs a PCBs:

**Table 4.** Toxic Equivalent Factors established by the WHO (WHO-TEFs) for dioxins and dioxin-like PCBs [4]

PCDD Congener	WHO-TEF	PCDF Congener	WHO-TEF	PCB Congener	WHO-TEF
2,3,7,8-TCDD	1	2,3,7,8-TCDF	0.1	<i>Non-ortho</i>	
12,3,7,8-PeCDD	1	12,3,7,8-PeCDF	0.05	PCB#81	0.0005
123478-HxCDD	0.1	23478-PeCDF	0.5	PCB#77	0.0005
123678-HxCDD	0.1	123478-HxCDF	0.01	PCB#126	0.1
12,3,7,89-HxCDD	0.1	123678-HxCDF	0.1	PCB#169	0.01
1234678-HpCDD	0.01	234678-HxCDF	0.1	<i>Mono-ortho</i>	
OCDD	0.0001	12,3,7,89-HxCDF	0.1	PCB#105	0.0001
		1234678-HpCDF	0.01	PCB#114	0.0005
		1234789-HpCDF	0.01	PCB#118	0.0001
		OCDF	0.0001	PCB#123	0.0001
				PCB#156	0.0005
				PCB#157	0.0005
				PCB#167	0.00001
				PCB#189	0.0001

*Eljarrat & Barceló, Trends Anal. Chem.22: 655*



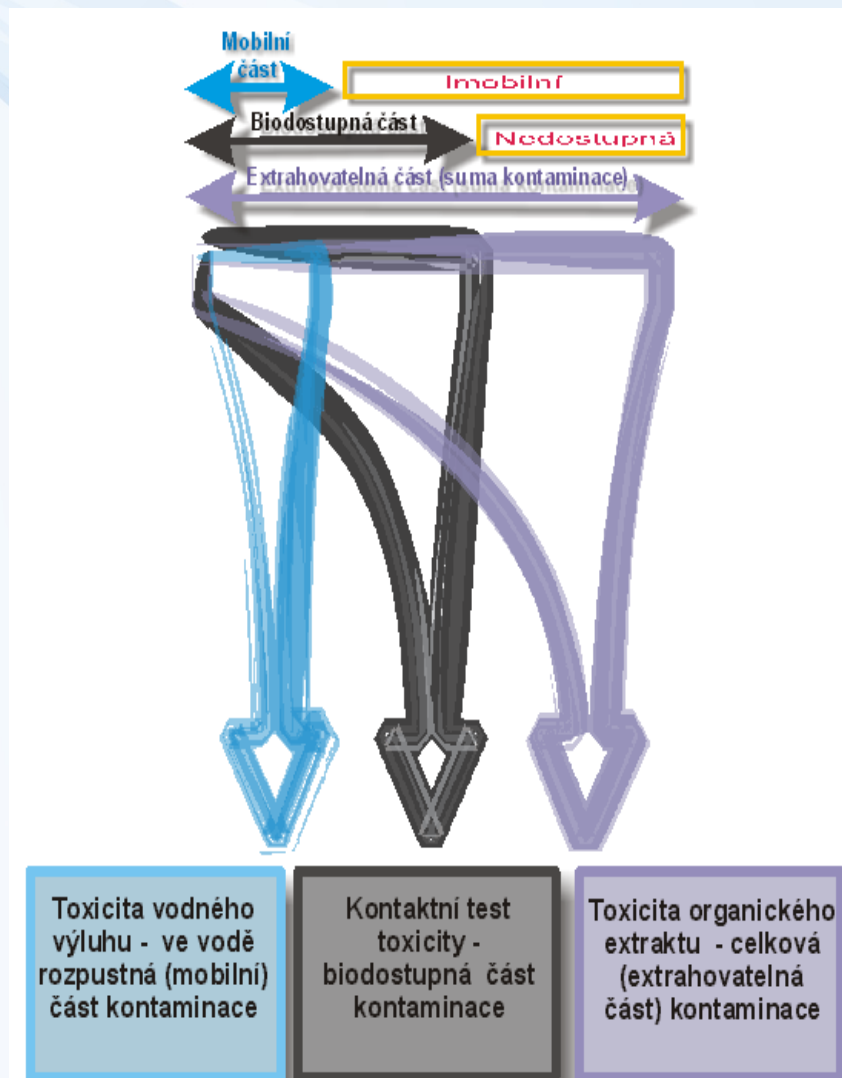
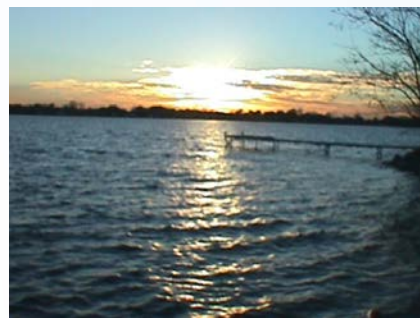
# Testování komplexních vzorků ze životního prostředí

- vzorky vzduchu, sedimentů, půd
- rychlý screening znečištění
- hodnocení toxicita, genotoxicita, dioxinová a estrogenní aktivita
- **výběr vzorků pro podrobnější studium/analýzu**
- **spojení s analytickou chemií, frakcionace**

Problém reprezentativního vzorkování, uchování vzorku

„pseudopersistentní látky“

– kontinuální expozice nízkým dávkám



## Výhody toxikologických *in vitro* testů

- rychlost, citlivost, reprodukovatelnost, snadnost provedení, menší náklady
- ukazují celkovou biologickou aktivitu látek, které působí specifickým mechanismem
- možnost provést screening velkého množství vzorků
- mohou poukázat na přítomnost toxikologicky významných látek, které nejsou běžně analyticky stanovovány
- sledují i možné interakce (jako synergismus či antagonismus) působení látek v komplexních směsích

## Nevýhody toxikologických *in vitro* testů

- nezohledňují biotransformaci látek v organismu
- nemohou plně nahradit enzymaticko-imunitní reakci živého organismu
- neposkytují informaci o tom, které jednotlivé látky ze směsi vyvolaly odpověď
- poskytují informaci jen o celkové aktivitě látek působících určitým specifickým mechanismem



**Závěr: Testy toxicity na buněčných kulturách jsou vhodný screening před provedením baterie testů na živých organismech.**

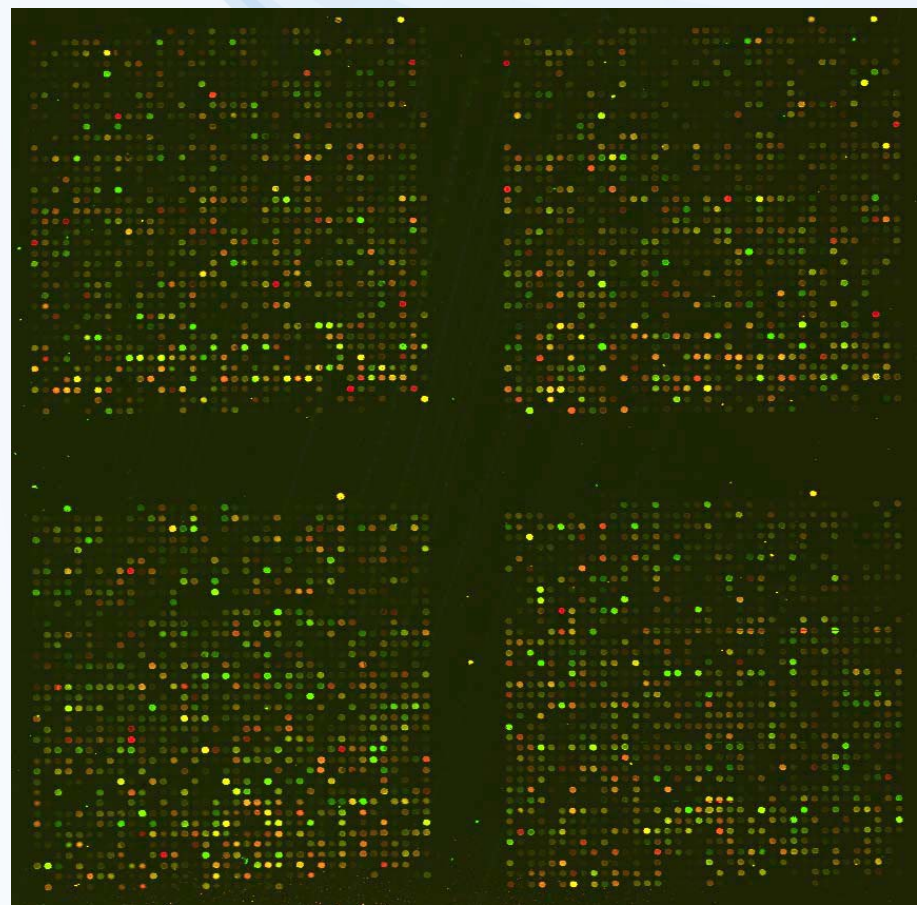


# Toxikogenomika

Nová vědecká disciplína – objasňuje, jak je celý genom zapojen v biologických odpovědích organismů na stresory

- studuje odpovědi/reakce genomu na stresory a toxické látky (Waters et al. 2003)
- kombinuje genomiku - transkriptomiku, proteomiku, metabolomiku a bioinformatiku s klasickou toxikologií

- **identifikace, kvantifikace potenciálních genetických rizik**
- **identifikace konkrétních genů, jejich produktů a procesů, kterými buňky reagují na environmentální toxikanty a stresory**
- **sledovat vedlejší účinky chemických látek na biologické systémy**
- **vytváření databází toxikologických, genetických a genomických informací**





INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Inovace tohoto předmětu je spolufinancována  
Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem  
České republiky



Centrum pro výzkum  
toxických látek  
v prostředí