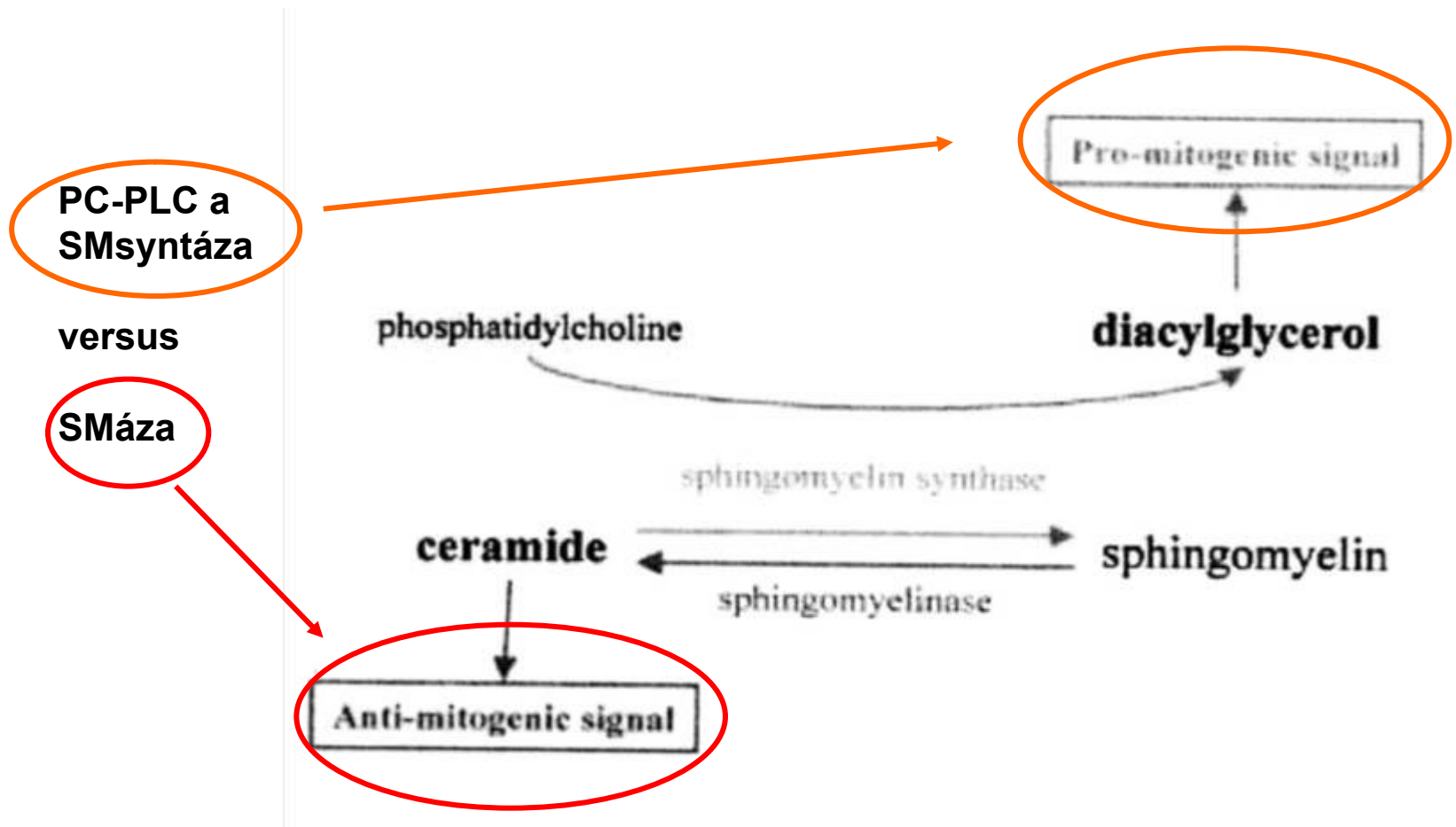


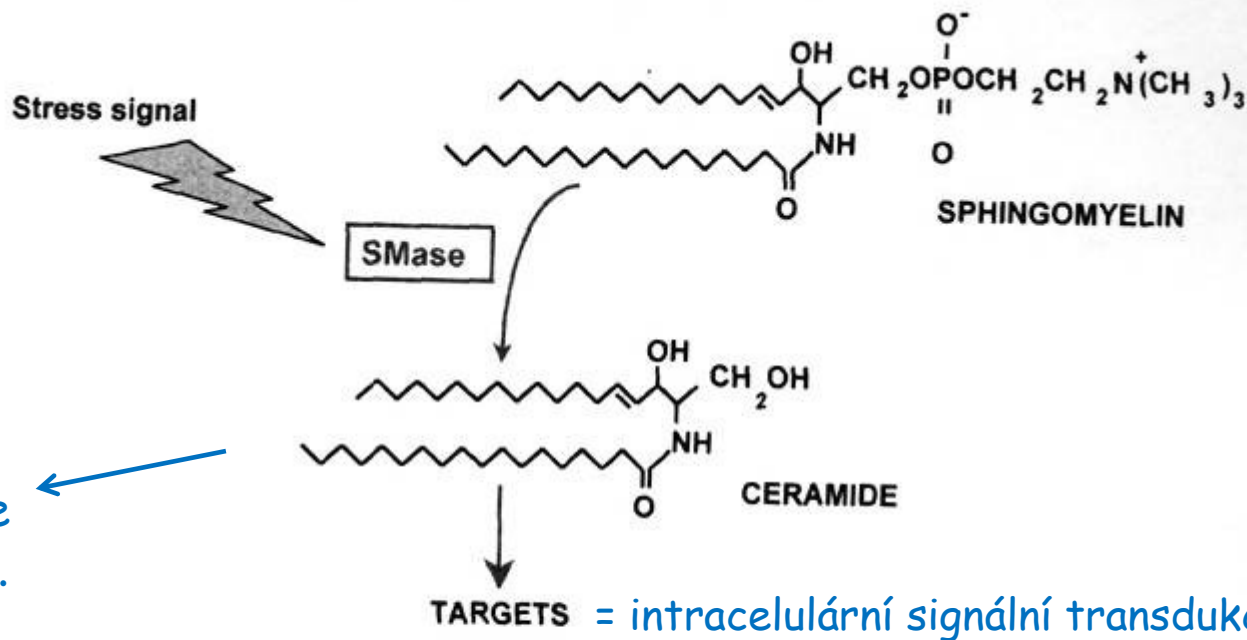
VLIV CIZORODÝCH LÁTEK NA METABOLISMUS A HOMEOSTÁZI LIPIDŮ

- xenobiotika mohou ovlivňovat hladiny sfingolipidů (= signálních molekul), příkladem je ceramid, který vede v řadě buněk k apoptóze
- xenobiotika mohou indukovat hladiny diacylglycerolu (= aktivuje PKC a jiné proteinkinázy zapojené v intracelulární signální transdukci)
- xenobiotika mohou ovlivňovat hladiny metabolitů PUFA (prostaglandinů a HETE) modulací lipoxygenázové, cyklooxygenázové a monooxygenázové aktivity
- xenobiotika mohou ovlivňovat vlastnosti plasmatické membrány (spojeno se změnou aktivit povrchových receptorů a membránových přenašečů)

Xenobiotika ovlivňují syntézu a metabolismus lipidů: role syntézy ceramidu a DAG v signální transdukci (ovšem neplatí obecně!)



Mechanismy účinku ceramidu: aktivuje enzymy signální transdukce i transkripční faktory

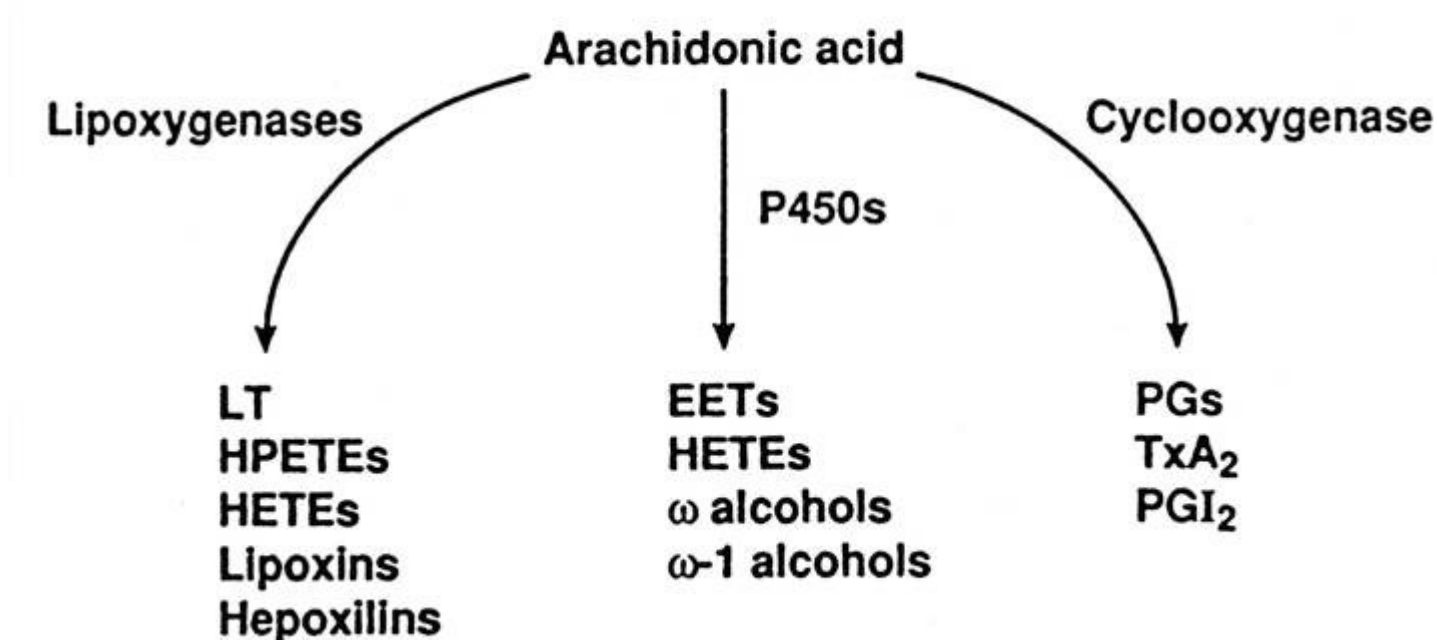
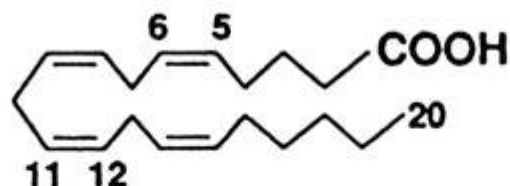


Koncentrace ceramidu a dihydroceramidu ovlivňuje vlastnosti (rigiditu) plasm. membrán (ovlivnění funkce proteinových receptorů)

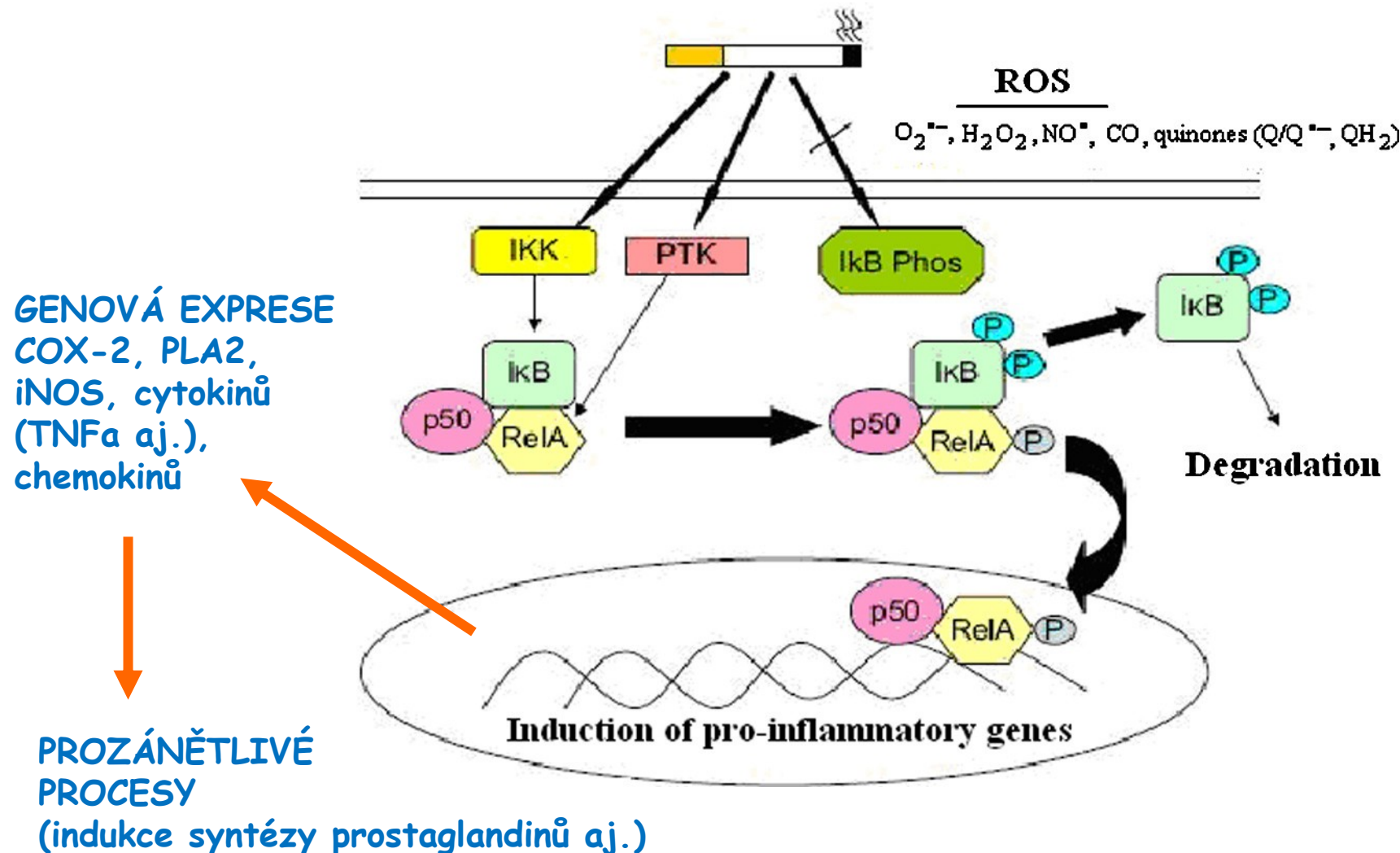
Kinases	Phosphatases	Transcription factors	Miscellaneous
- CAPK/KSR - PKC (α, ξ) - MAPK - SAPK/JNK	- CAPP	- NF-κB - AP-1	- cathepsin D - PLA ₂ - PLD

↓
Změna genové exprese, apoptóza apod.

Další efekty xenobiotik: produkce mediátorů zánětlivých procesů a toxických lipidových metabolitů (kyselina arachidonová jako substrát pro enzymy CYP, LOX a COX)



REGULACE EXPRESE TRANSKRIPČNÍMI FAKTORY NF- κ B (ovlivněny řadou xenobiotik)

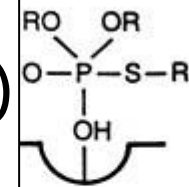
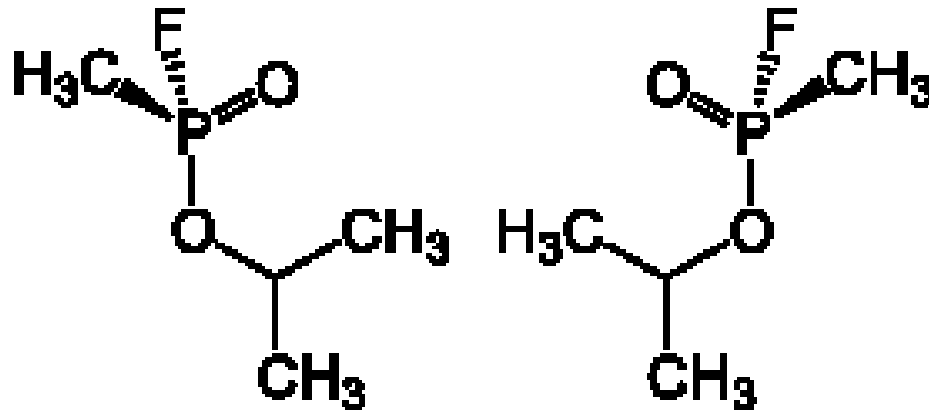


NEUROTOXICITA

- ☛ Inhibice acetylcholinesteráz (např. pesticidy karbamáty, organofosfáty, ..) = inhibice hydrolýzy acetylcholinu po navázání na cholinergní receptor; obecně: **interakce xenobiotik s receptory**; modulace uvolňování dopaminu a efekty na další signálování zprostředkované **neurotransmitery**
- ☛ Interakce s ryanodyne receptorem (RyR) - **deregulace Ca^{2+}** koncentrací = modulace Ca^{2+} -dependentní enzymů, event. až apoptóza
- ☛ Poruchy **diferenciace a růstu nervové tkáně** (inhibice mezibuněčné komunikace GJIC; interakce xenobiotik s thyroidním receptorem TR a dalšími transkripčními faktory a kofaktory regulujícími vývoj nervové tkáně; jiné mechanismy)

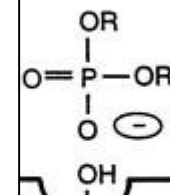
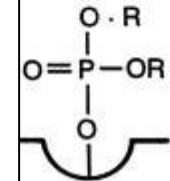
NEUROTOXICITA: inhibice acetylcholinesterázy (AChE)

Sarin (fosfonát, boj. chem. látka, použito v tokijském metru, v Sýrii) zasahuje cholinergní receptory v nervosvalových ploténkách, mozku a periferním nervstvu



receptor complex

Hydrolysis



site

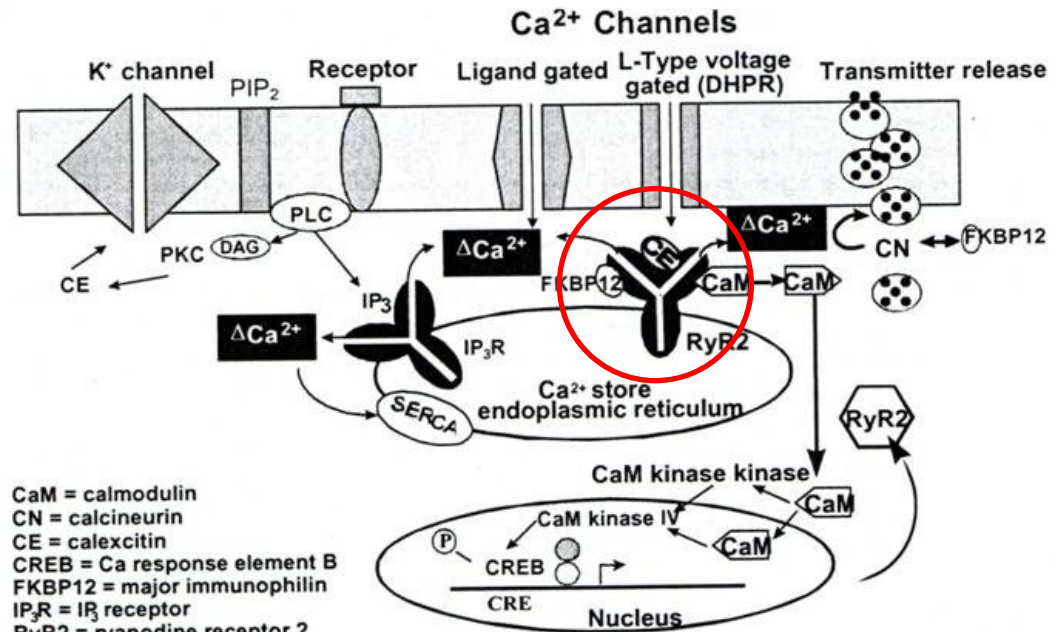
P

Product release slow

Zpomalení regenerace vazebného místa (uvolnění produktu esterázovou reakcí) - brání opětné repolarizaci neuronu

NEUROTOXICITA: interakce s RyR a modulace Ca²⁺

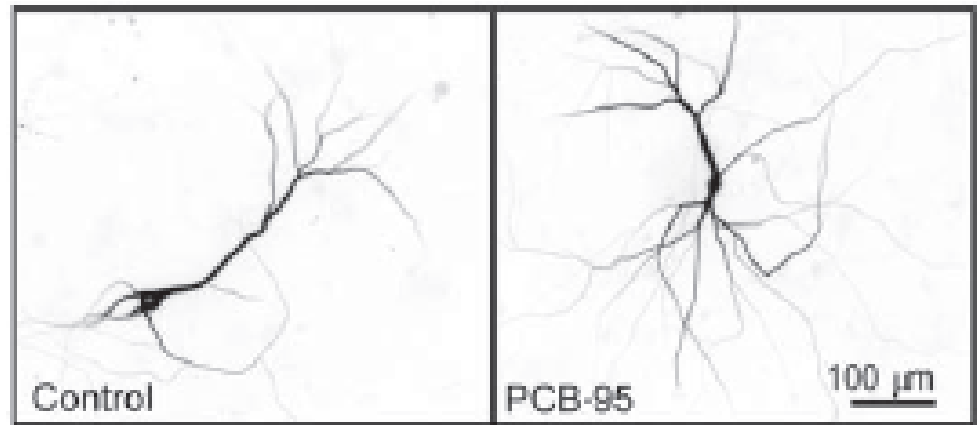
Existuje několik mechanismů uvolňování Ca²⁺ (regulace např. RyR nebo SERCA) a řada enzymů, receptorů a dalších „cílů“, které jsou regulovány vápníkem;



CaM = calmodulin
 CN = calcineurin
 CE = calyculin
 CREB = Ca response element B
 FKBP12 = major immunophilin
 IP₃R = IP₃ receptor
 RyR2 = ryanodine receptor 2
 SERCA = Ca(Mg)ATPase

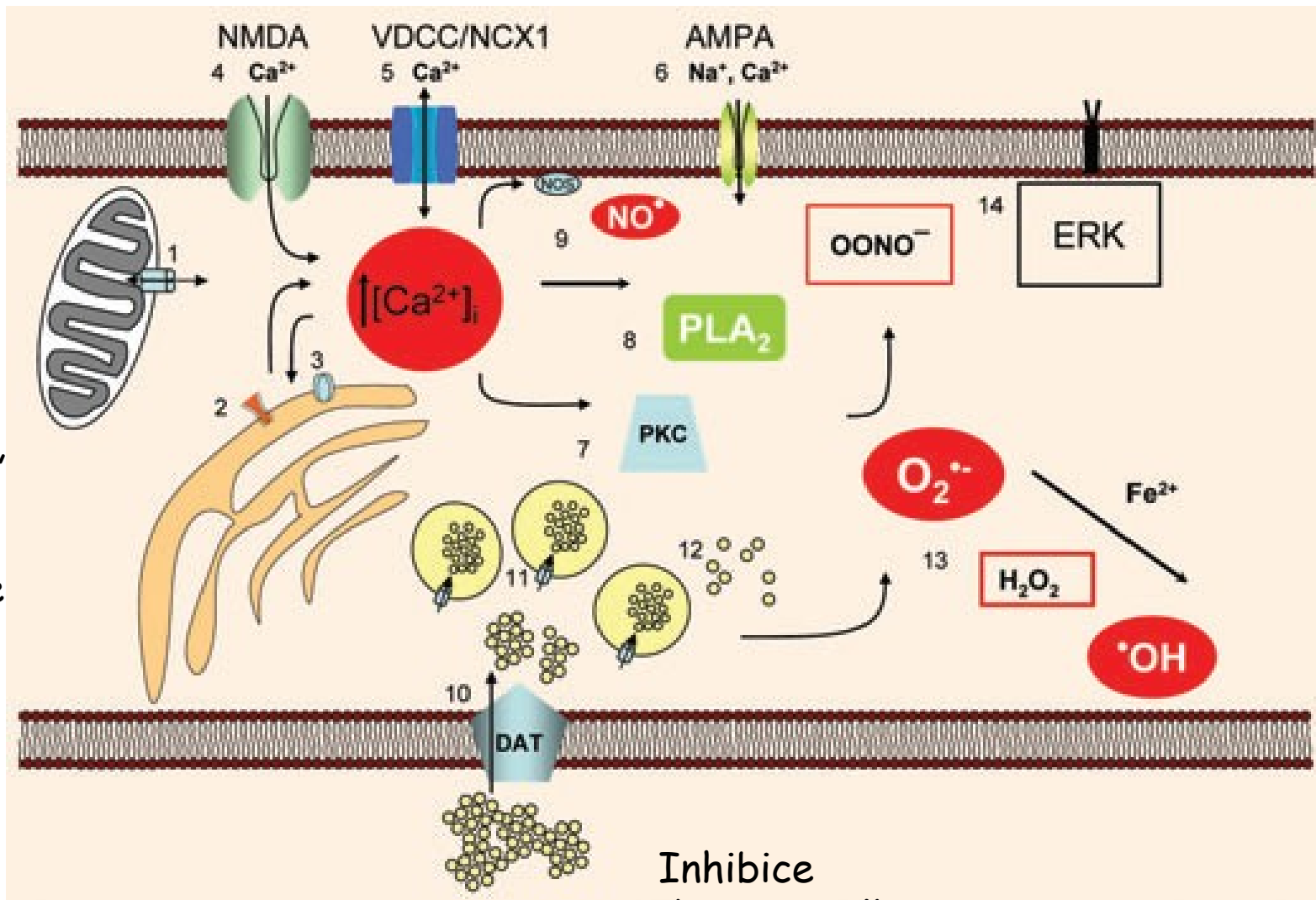
xenobiotika (např. PCB) interagují s RyR; důsledky:

- deregulace proliferace a diferenciace nerv. buněk
- vys. hladiny Ca²⁺ vedou až k apoptóze



NEUROTOXICITA: další mechanismy deregulace Ca^{2+} a neurotransmiterů

Ox. stres -
důsledek
aktivace
NOS, PLA₂,
a důsledek
disrupce Ca
homeostáze



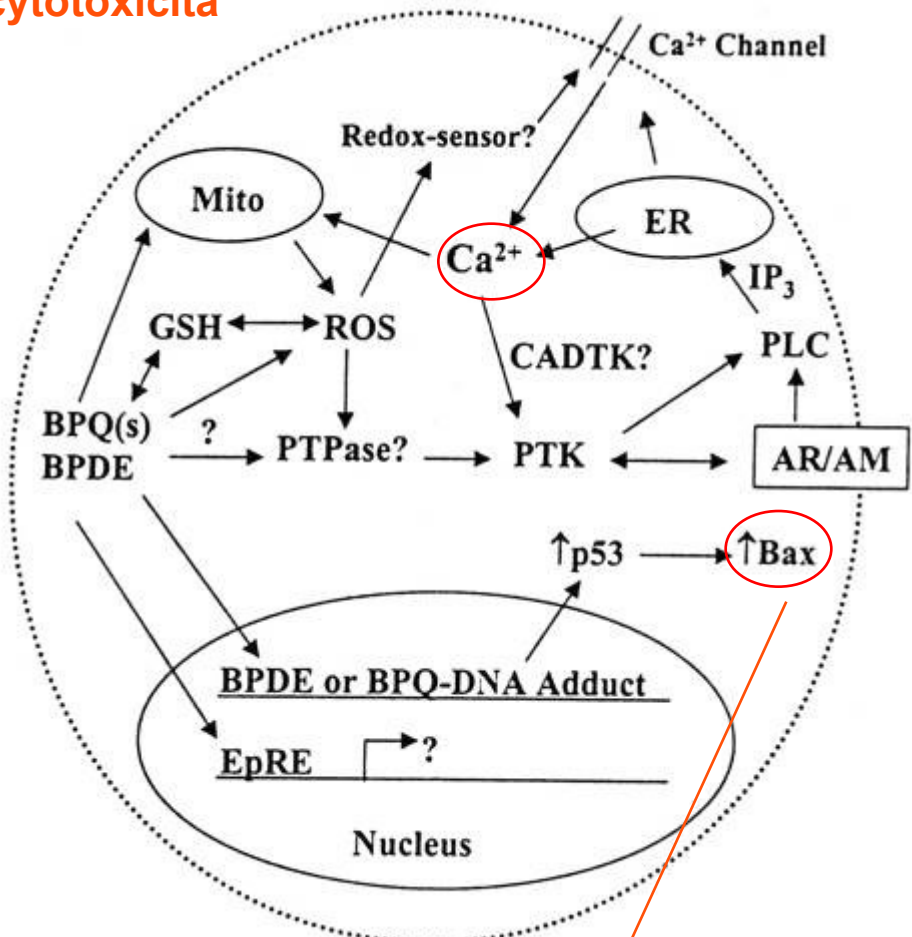
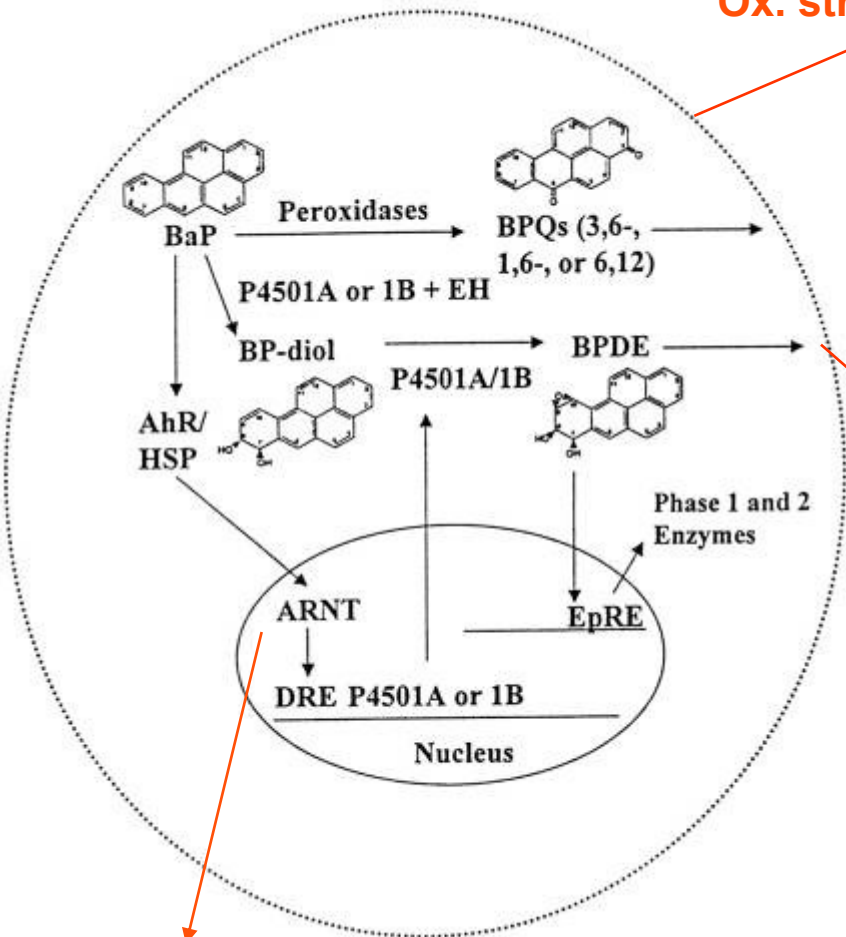
Inhibice
dopaminového
transporteru

IMUNOTOXICITA

- ☛ Obecně mohou být po expozici xenobiotiky porušeny všechny typy humorální a buněčné imunity
- ☛ Apoptóza vede k supresi krevních buněk (příklad: benzo[a]pyren je cytotoxický v relativně nízkých koncentracích)
- ☛ Suprese funkce a hmotnosti thymu (dioxiny, koplánárními PCB aj. AhR agonisty)
- ☛ Poruchy indukce protilátkové odpovědi a další mechanismy

MECHANISMY BUNĚČNÉ IMUNOTOXICITY BENZO[a]PYRENU

Ox. stres, cytotoxicita



Aktivace AhR - poruchy diferenciacce buněk imunitního systému; gen. exprese některých IL proteinů

Genotox. poškození, aktivace apoptózy

CHEMICKÁ KARCINOGENEZE - základní koncept:

- **Mnohastupňový proces** vývoje rakoviny, komplexní interakce genetických, genotoxických a epigenetických (negenotoxických) faktorů. Základní fáze karcinogeneze:
 - 1) **iniciace** (akumulace mutací v určitých skupinách genů);
 - 2) **promoce** (epigenetické změny – změny genové exprese, především změněný statut metylace DNA a acetylace histonů; ovlivnění přenosu signálů regulujících bun. cyklus, proliferaci, diferenciaci a apoptózu; inhibice mezibuněčných spojení GJIC, AJ)
 - 3) **progrese, metastáze** (další změny genové exprese, genetická instabilita a chromosomová instabilita)
- **Faktory ovlivňující mutagenitu/genotoxicitu a karcinogenitu:**
 - 1) genetické predispozice („susceptibility“);
 - 2) environmentální faktory (chemické kontaminanty, nutriční vlivy), kombinace 1 + 2;
 - 3) suprese imunologických funkcí;
 - 4) neznámé faktory
- **Cizorodé látky mohou ovlivňovat všechny uvedené procesy**

SUSCEPTIBILITA

- ☛ polymorfismus CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1, CYP2E1, GSTM1, NQO1, NAT aj. genů biotransformačních enzymů;
- ☛ DNA repair; mutace v tumor-supresorových genech;
- ☛ otázka etnik, pohlaví, věku;
- ☛ komplexní vlivy spolu s nutričními návyky (včetně mikronutrientů, vitamínu, PUFA aj.).

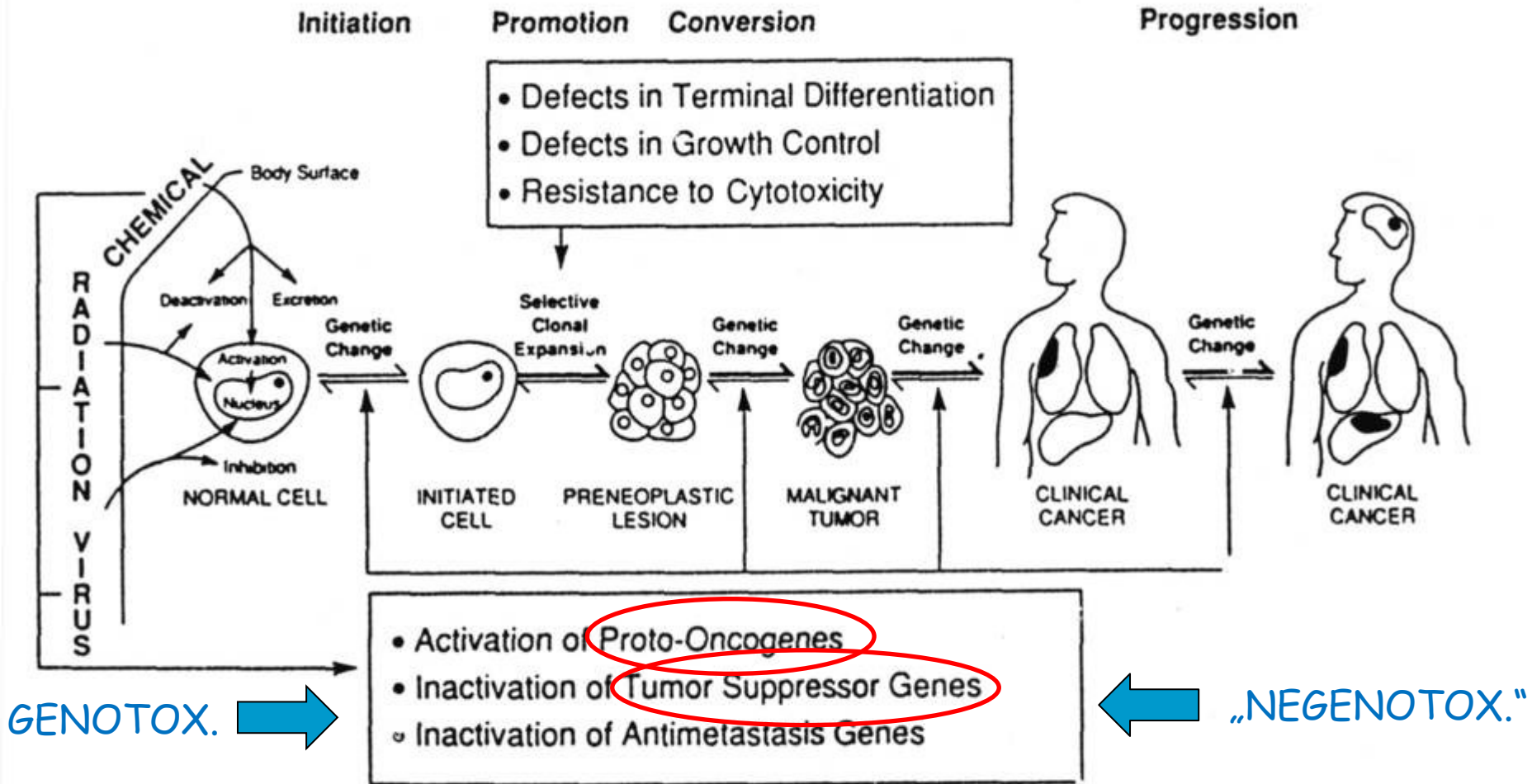
ENVIRONMENTÁLNÍ EXPOZICE

- ☛ kouření;
- ☛ chemické zatížení vzduchu (prach, PAHs, volatilní karcinogeny);
- ☛ kontaminovaná potrava (pesticidy, persistetní látky, napůř. PCB, dioxiny);
- ☛ pracovní prostředí (PAHs, chemické výroby, cytostatika aj.)

PREKLINICKÉ EFEKTY

- ☛ chromos. aberace, genové mutace, aktivace onkogenů, inaktivace tumor. supresor. genů, komponenty bun. cyklu

CHEMICKÁ KARCINOGENEZE



Původní jednoduchý koncept iniciace - promoce - metastáze je překonán:

- 1) „negenotoxické karcinogeny“ nepůsobí primárně jako genotoxiny;
- 2) vznik mutací - genetická instabilita prakticky ve všech fázích

CHEMICKÁ KARCINOGENEZE

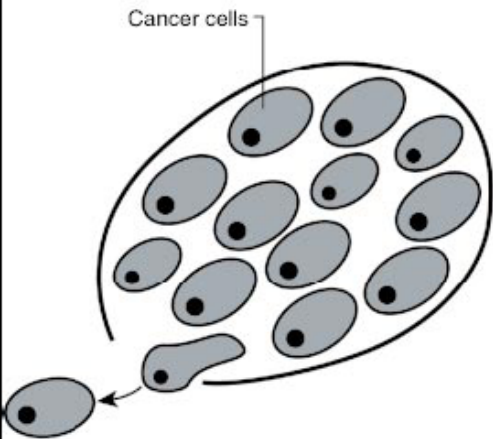
- ☛ **GENOTOXICKÉ KARCINOGENY** reagují s DNA a ireversibilně pozměňují genom (bodové mutace, změny v chromosomální struktuře, zlomy, výměny sesterských chromatid, klastogeny); interakce chemických látek s DNA: alkylace, oxidativní poškození nukleotidů, interkalace. **INICIACE** zahrnuje mutace genů DNA repair, onkogenů (ras, myc aj.) a tumor-supresorových genů (např. p53) - genů kontrolujících buněčný cyklus a proliferaci (PAHs, nitro-PAHs, NNK aj. nitrososloučeniny)
- ☛ **NEGENOTOXICKÉ KARCINOGENY** modulují signální transdukcii a gen. expresi - pozměněna proliferace a diferenciace, inhibována apoptóza a mezibuněčná komunikace; především působí ve fázi **PROMOCE** karcinogeneze (dioxiny, PCB, OCP, azbest, křemenný prach, keramická vlákna, kovové ionty, např. Co, Mn, Ni, Cr, Be)
- ☛ **KOKARCINOGENY** - samy nejsou nutně karcinogenní, potencují aktivaci chemických karcinogenů

MECHANISMY NEGENOTOXICKÝCH PROCESŮ

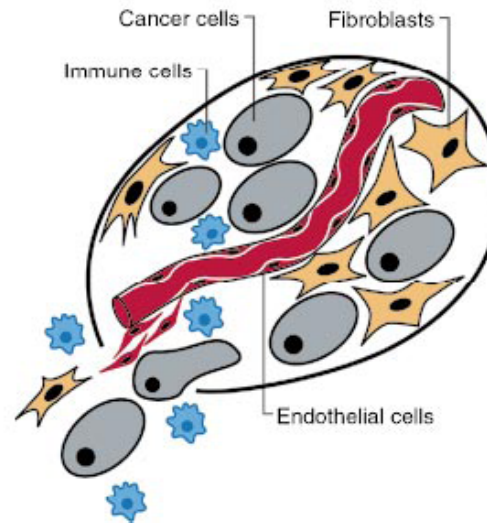
- aktivace nebo suprese transkripčních faktorů (AhR, NF-κB,...), „klasické“ epigenetické mechanismy (de/methylace DNA nebo acetylace/deacetylace histonů);
- aktivace intracelulární signální transdukce (ERK1/2, ...); změny genové exprese - úspěšné přžívání buněk, proliferace (expanze klonu), potlačení apoptózy atd.
- strukturní a funkční změny cytoplasmatické membrány, efekty na intercelulární komunikaci (např. inhibice GJIC, disrupce adherence) - vyvázání se z homeostatické kontroly okolních buněk, EMT, angiogeneze, procesy související s progresí a metastázemi

ZÁKLADNÍ MECHANISMY NÁDOROVÉ PROMOCE

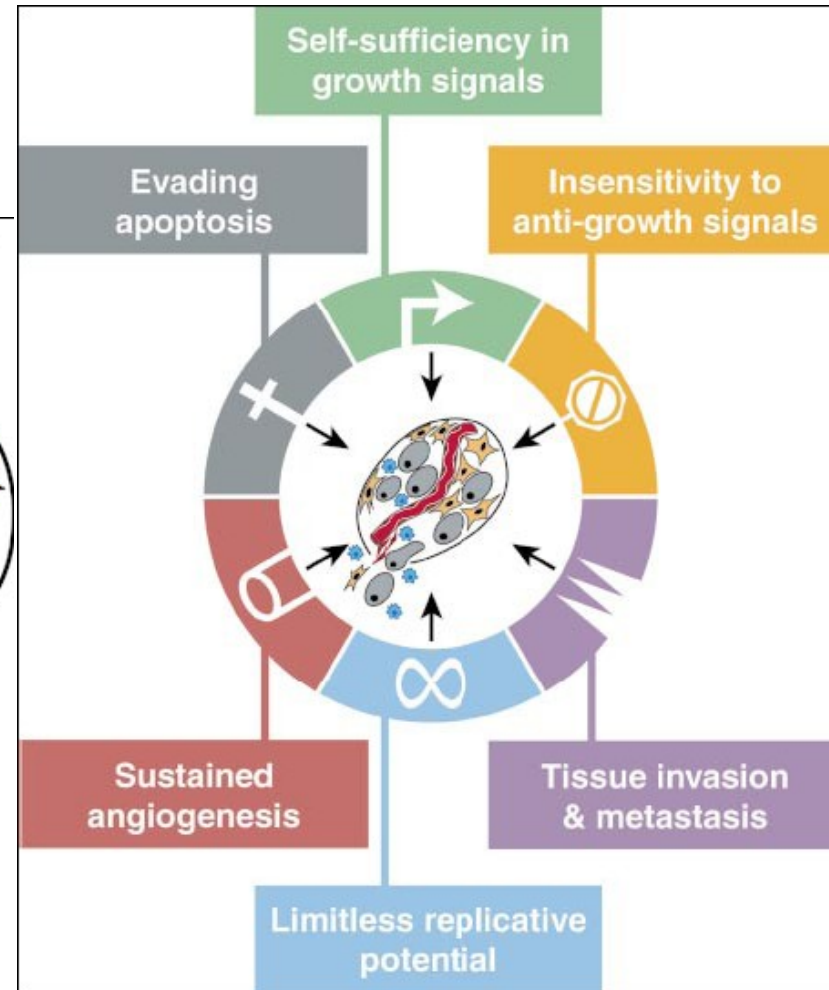
The Reductionist View



A Heterotypic Cell Biology



(Hannahan, Weinberg, 2000)

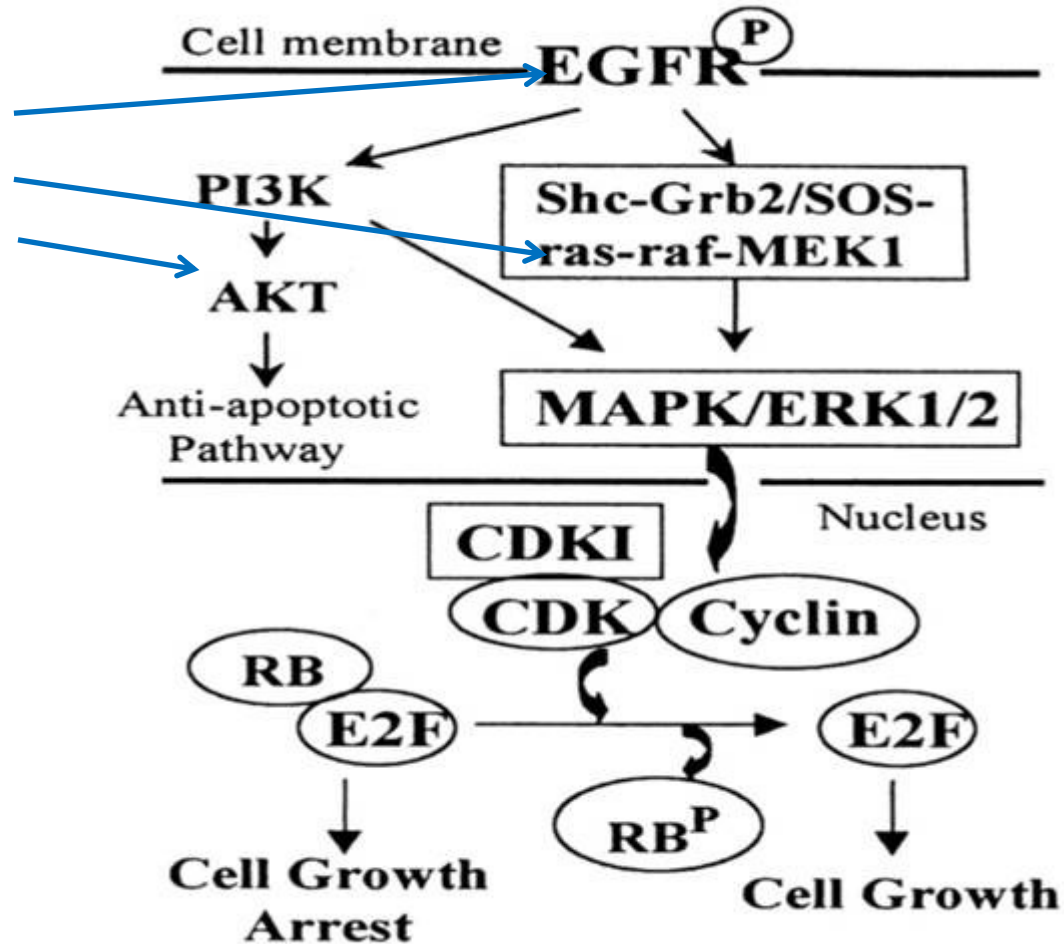


ZÁKLADNÍ MECHANISMY NÁDOROVÉ PROMOCE

- ☛ Mitogenní efekt, **zvýšení buněčné proliferace**, vyvázání z kontaktní inhibice růstu (role onkogenů - mutanty ras, myc, β -cat, ... a inaktivace tumorových supresorů)
 - interference s transdukčními signály, které kontrolují normální buněčný růst a diferenciaci (aktivace EGFR/ErbB2-ras-ERK, aktivace proteinkinázy C např. produkcí DAG po expozici forbolestery), produkce ROS, aberantní produkce růstových faktorů atd.
 - aktivace ER- nebo AR-dependentní buněčné proliferace
- ☛ **Inhibice apoptózy** (nefunkční tumorové supresory, např. p53) = další mechanismus přežívání buněk
- ☛ Inhibice mezibuněčné komunikace (GJIC), disrupce adherence buněk
- ☛ Angiogeneze
- ☛ Přechod z epiteliálního na mesenchymální fenotyp buňky

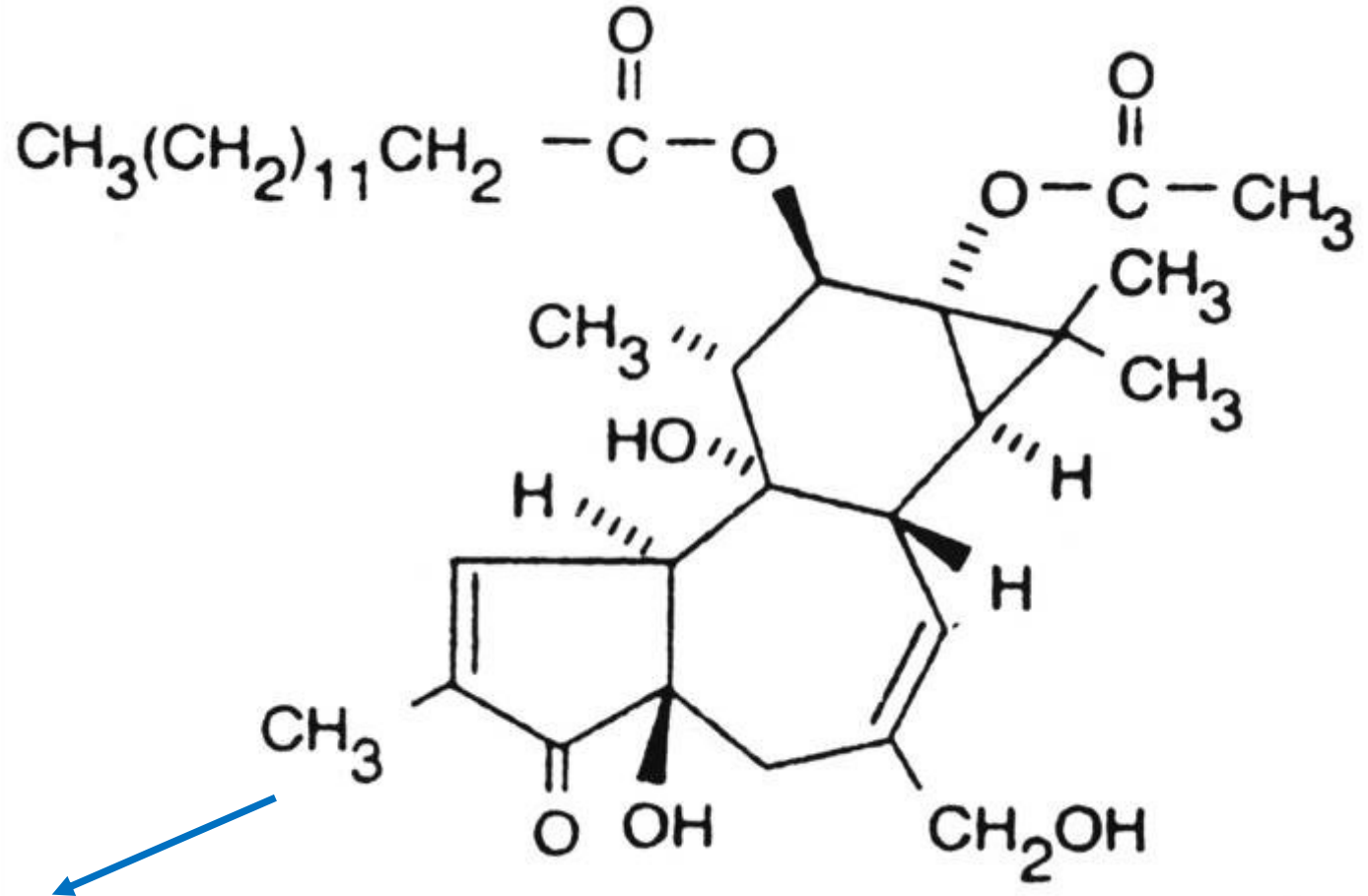
PŘÍKLAD AKTIVACE BUN. PROLIFERACE (aktivací signální transdukce)

velmi časté
mutace =
kontinuální
aktivace
proliferačních
drah



MECHANISMY NEGENOTOXICKÝCH PROCESŮ

Forbol-myristátacetát = PMA, TPA (modelový tumorový promóter)

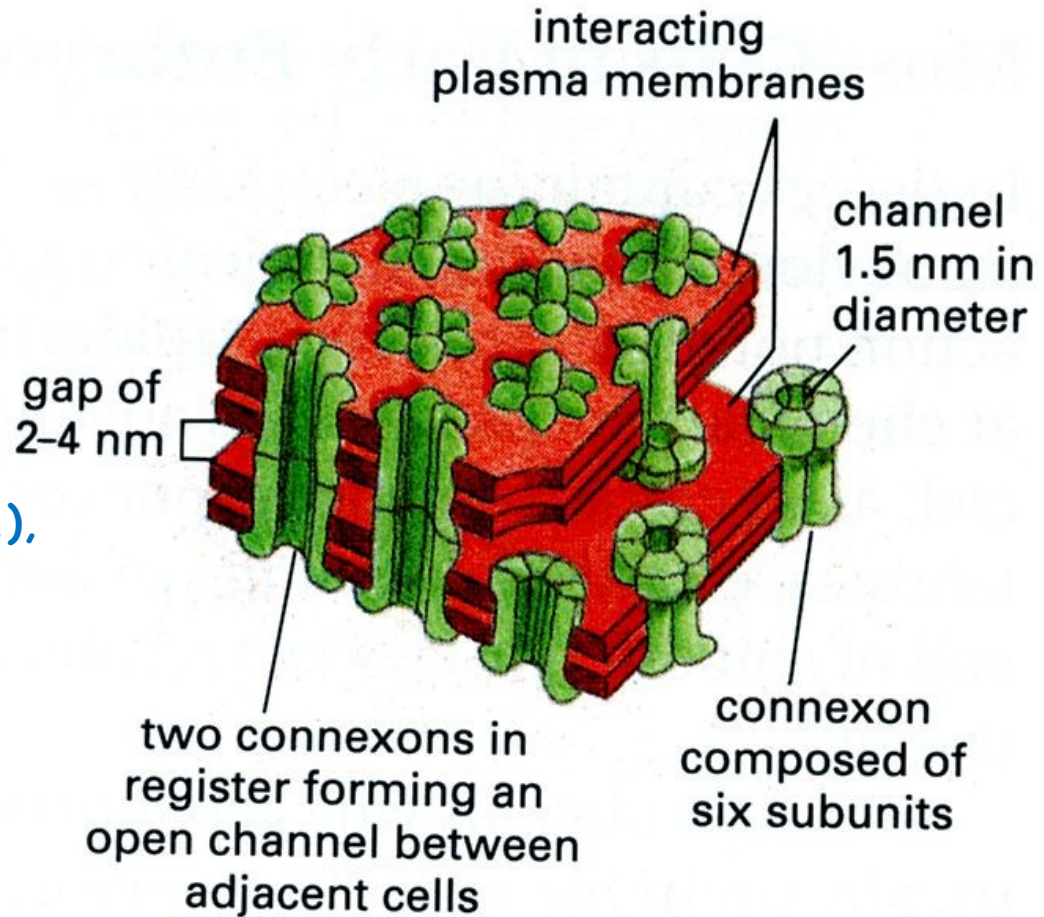


- chemická aktivace proteinkináz C a ERK1/2:
- hyperfosforylace Cx, inhibice GJIC
 - mitogenní efekty

**DISRUPCE MEZIBUNĚČNÝCH SPOJENÍ -
VEDE K NÁDOROVÉ PROMOCI,
INVAZIVITĚ A METASTÁZÍM**

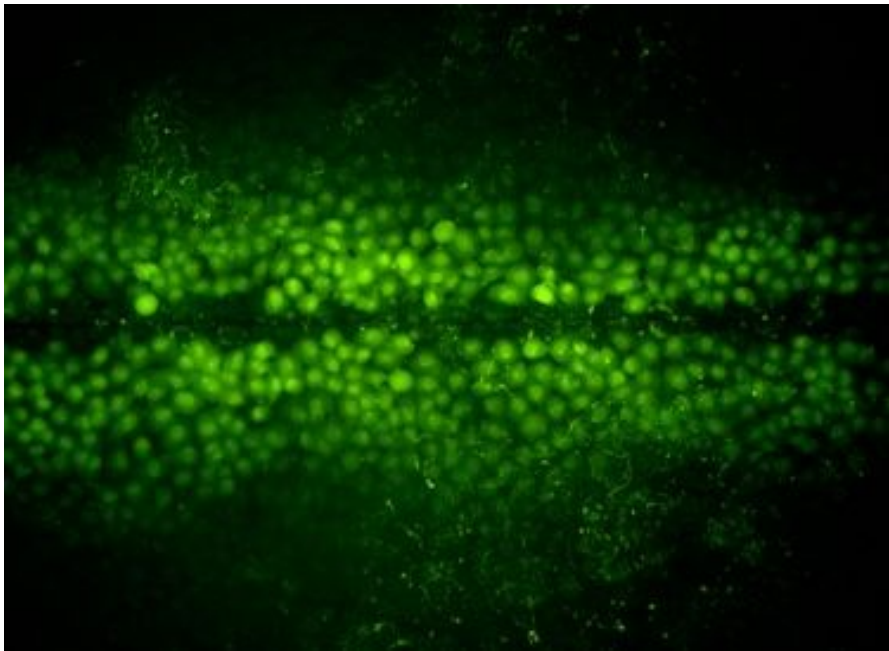
INTERCELULÁRNÍ SPOJENÍ GJIC ("gap junction intercellular communication")

Základní stavební jednotkou jsou proteiny konexiny (connexin 32, 43 atd.), které tvoří hexamery (konexony); konexony sousedních buněk mohou tvořit společný kanál, kterým procházejí signální molekuly (cAMP, Ca^{2+} atd.)

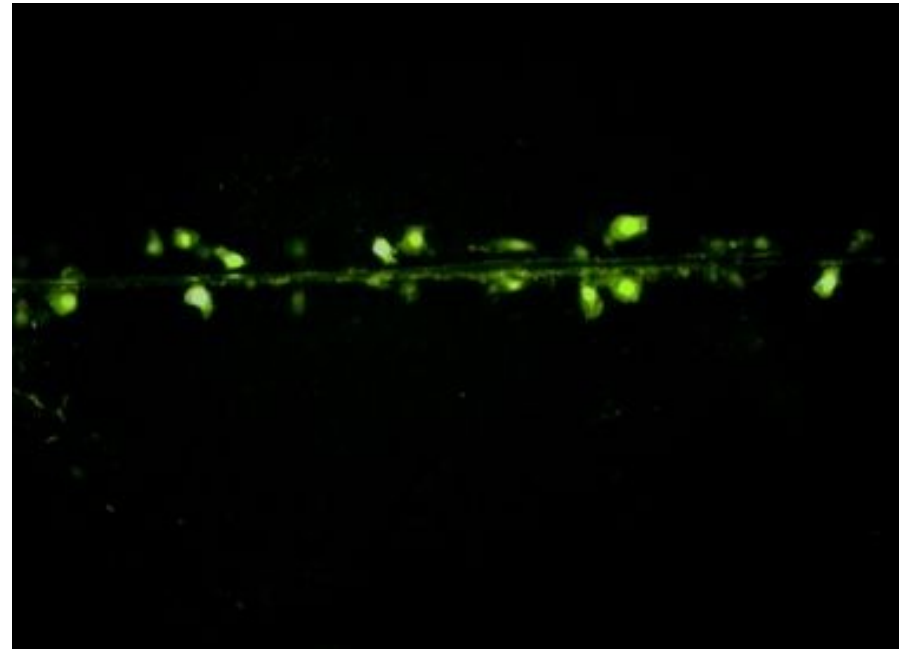


INHIBICE GJIC

(scrape-loading / dye transfer assay: prostup fluoreskující luciferové žluti monovrstvou buněk)

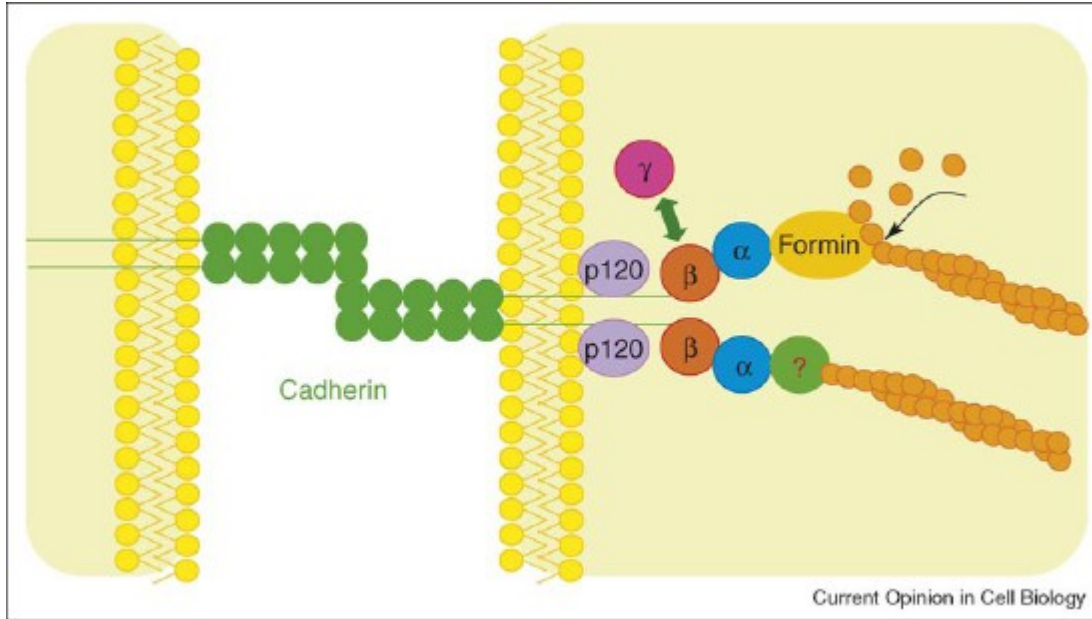


kontrola

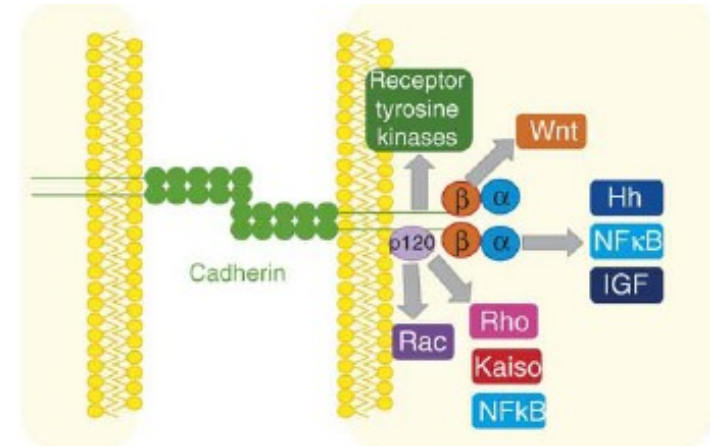


expozice TPA (aktivace PKC a ERK1/2,
hyperfosforylace konexinu)

DISRUPCE ADHERENTNÍCH SPOJENÍ (ADHERENS JUNCTIONS)

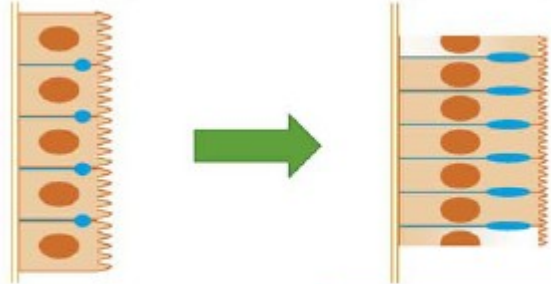


signálování beta-kateninu -
vývoj tkání, nádor. promoce



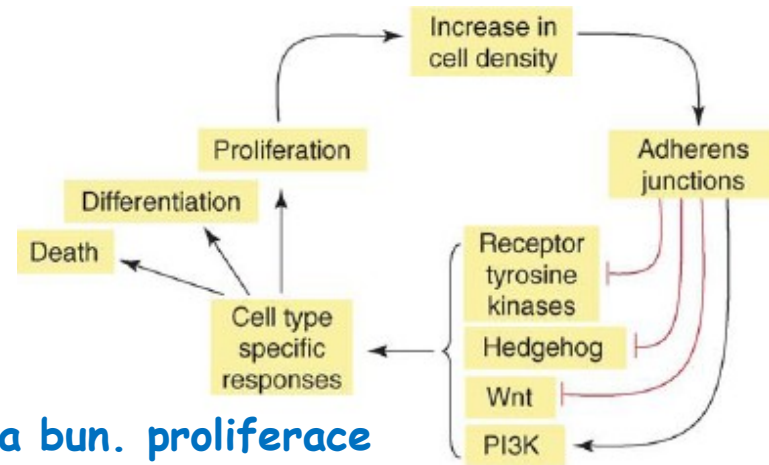
Low cell density

High cell density



Increase in per cell area
occupied by AJs

biosensor density



kontrola bun. proliferace

Disrupce adherentních spojů ("adherens junctions") vede ke změně genové exprese a fenotypu buňky

