



Centrum pro výzkum  
toxických látek  
v prostředí

# Účinky toxických látek 1

## - Molekulární mechanismy -

Luděk Bláha, PŘF MU

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

# Co by si měl student odnést z této přednášky?

- Chápat a dokázat vysvětlit základní pojmy toxikodynamiky
  - receptor, interakce, afinita, účinnost
- Vysvětlit molekulární principy interakcí mezi toxickými látkami a cílovými místy (receptory)
- Vysvětlit a popsat principy nescifického a specifického působení toxických látek
- Znat principy a příklady látek, které působí nejdůležitějšími mechanismy toxicity, tj.
  - narušení přirozené fluidity membrány
  - interakce látek s DNA
  - inhibice enzymových aktivit
  - narušení redox-potenciálu
  - narušení gradientů na membránách
  - kompetice se substráty / přirozenými ligandy
- Poznat ve struktuře vybraných modelových látek strukturní znaky, které jsou odpovědné za konkrétní mechanismy působení

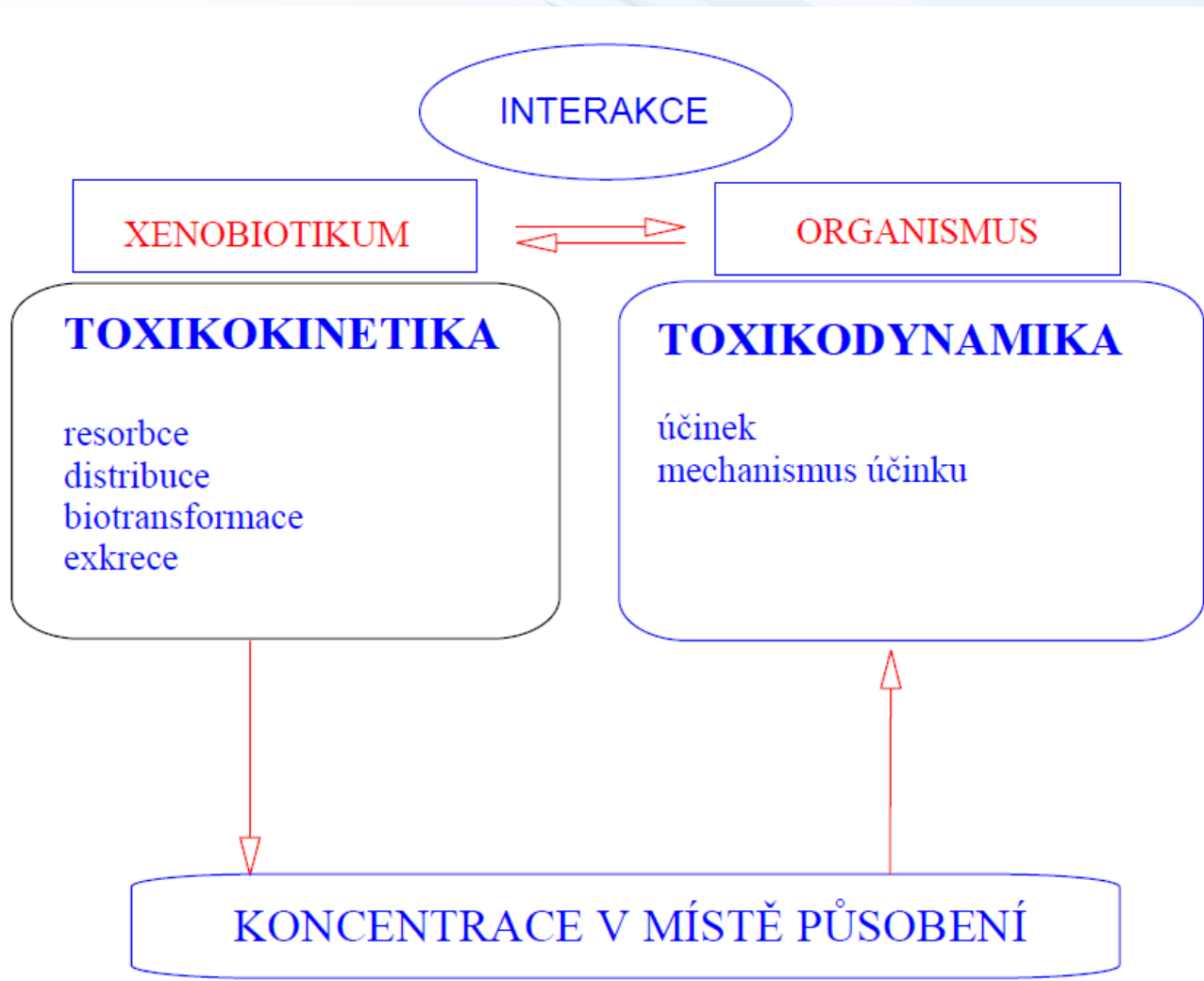


# TOXIKODYNAMIKA

*- základní principy -*



# Vztah mezi toxikokinetikou a toxikodynamikou



# Toxikodynamika

vychází z propracované „farmakodynamiky“ a přejímá její koncepty popisuje procesy na molekulární úrovni

V místě kontaktu toxikantu s cílovým místem („receptorem“) dochází k interakci **toxikant-receptor**

## Interakce mezi dvěma chemickými látkami

Ilustrace – příklady funkcí proteinů (jen membránové)

### Cílové struktury = základní makromolekuly:

Proteiny

STRUKTURNÍ (tubulin apod.)

ENZYMY

TRANSPORTÉRY (v membráně, hemoglobin)

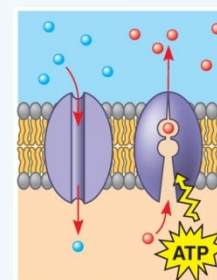
PROTEINOVÉ RECEPTORY

(v membráně i v cytoplasmě)

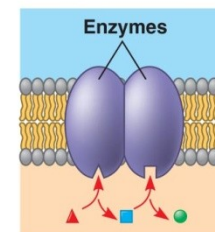
Nukleové kyseliny

Fosfolipidy

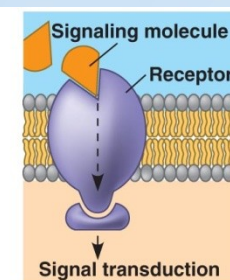
(Sacharidy)



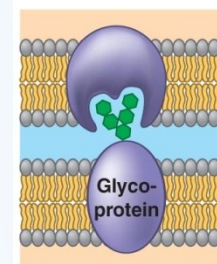
(a) Transport



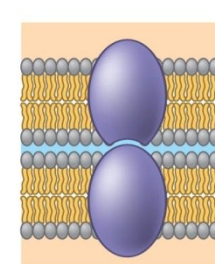
(b) Enzymatic activity



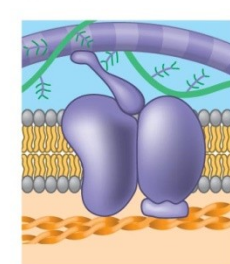
(c) Signal transduction



(d) Cell-cell recognition

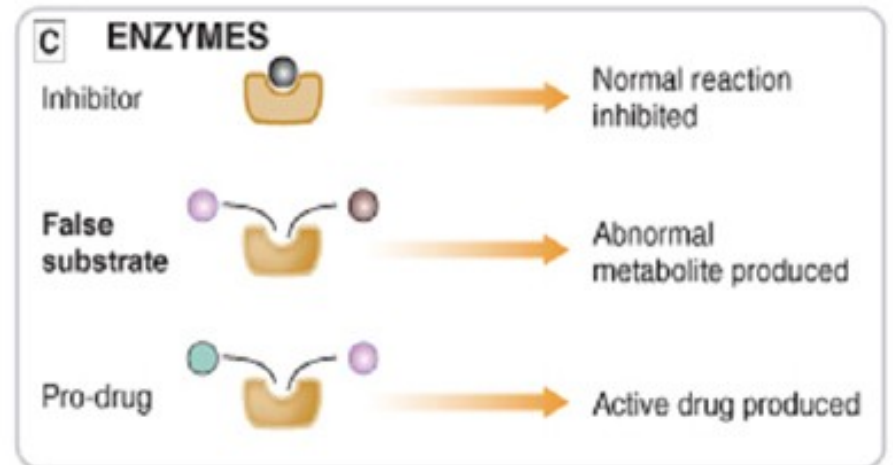
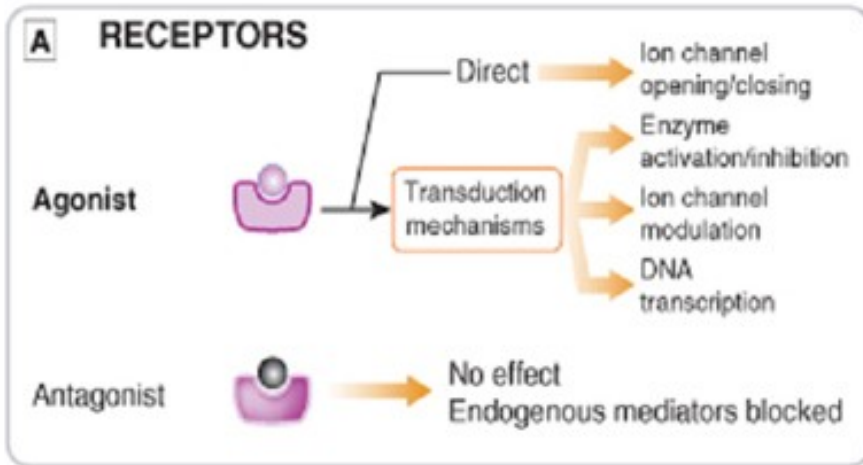


(e) Intercellular joining



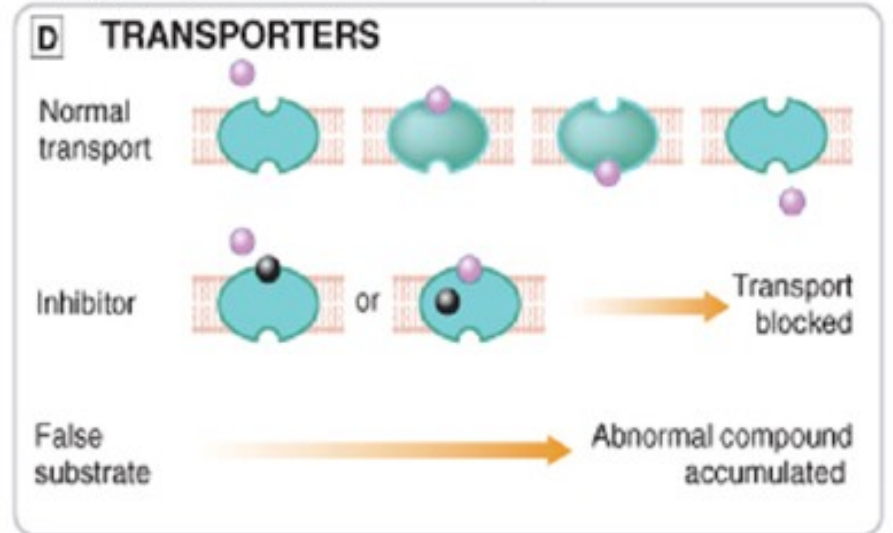
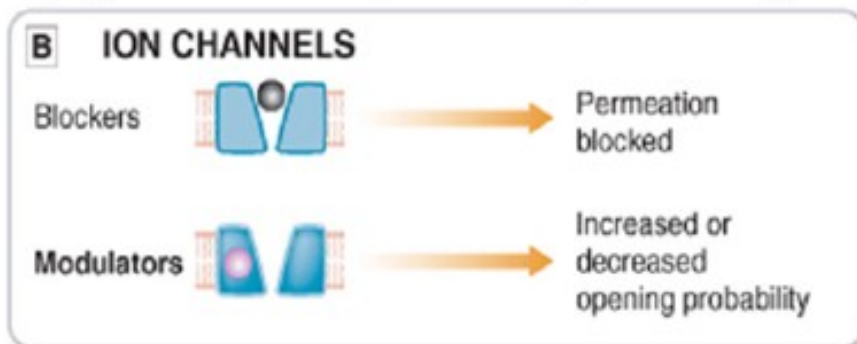
(f) Attachment to the cytoskeleton and extracellular matrix (ECM)

# Interakce látek s proteiny: klíčové procesy



(eg beta blockers,  $17\alpha$ -ethinylestradiol)

(eg aspirin, ketoconazole)



(eg local anaesthetics, cypermethrin)

(eg fluoxetine, omeprazole)

● Agonist/normal substrate

● Abnormal product

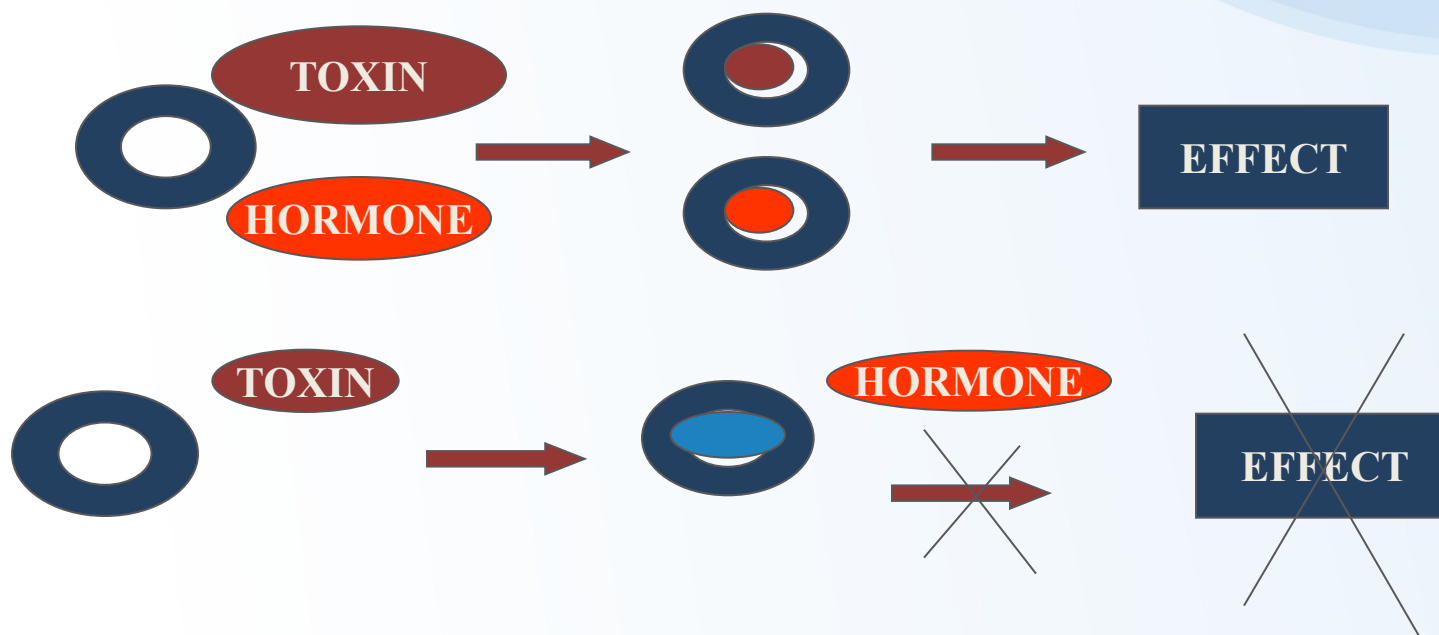
● Antagonist/inhibitor

● Pro-drug

Note – a few drugs target DNA rather than proteins (eg mitomycin C).

## Interakce toxických látek s receptory

- interakce pozitivní → indukce odpovědi (**agonista**)  
(nahrazuje efekt ligandu, mimic effect, **hormone-like effect**)
- interakce negativní → kompetice: nevyvolává reakci (**antagonista**)  
(blokuje navázání a efekt přirozeného ligandu, **př. anti/estrogenita**)



## Příklady cílových struktur

(receptor = jakákoliv biomolekula, kterou může ovlivnit toxikant)

- **buněčná membrána**

*narkotická toxicita - dosažení takové koncentrace, že dochází k blokaci fluidity membrány a tím její funkce*

- **acetylcholinesteráza**

*enzym - inhibice v aktivním místě organofosfátovými pesticidy (substrate mimics)*

- Arylhydrocarbon **receptor** (AhR), estrogení receptor (ER)

*specifické mechanismy toxicity, xenoestrogenity*

- další ....





# Typy interakcí („vazby“) mezi toxikantem a receptorem

## -nekovalentní (viz příklad na následujícím snímku)

*vodíkové můstky*

*hydrofobní interakce*

*iontové interakce*

*van der Waalsovy interakce*

(reverzibilní)

## -kovalentní

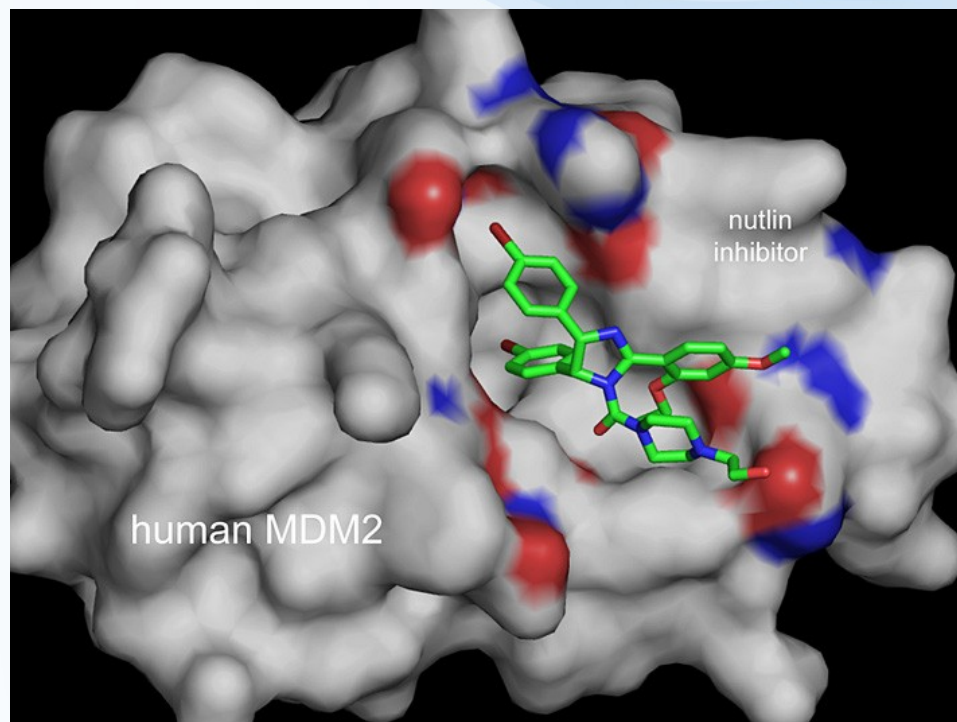
- *inhibice*

*acetylcholinesterázy*

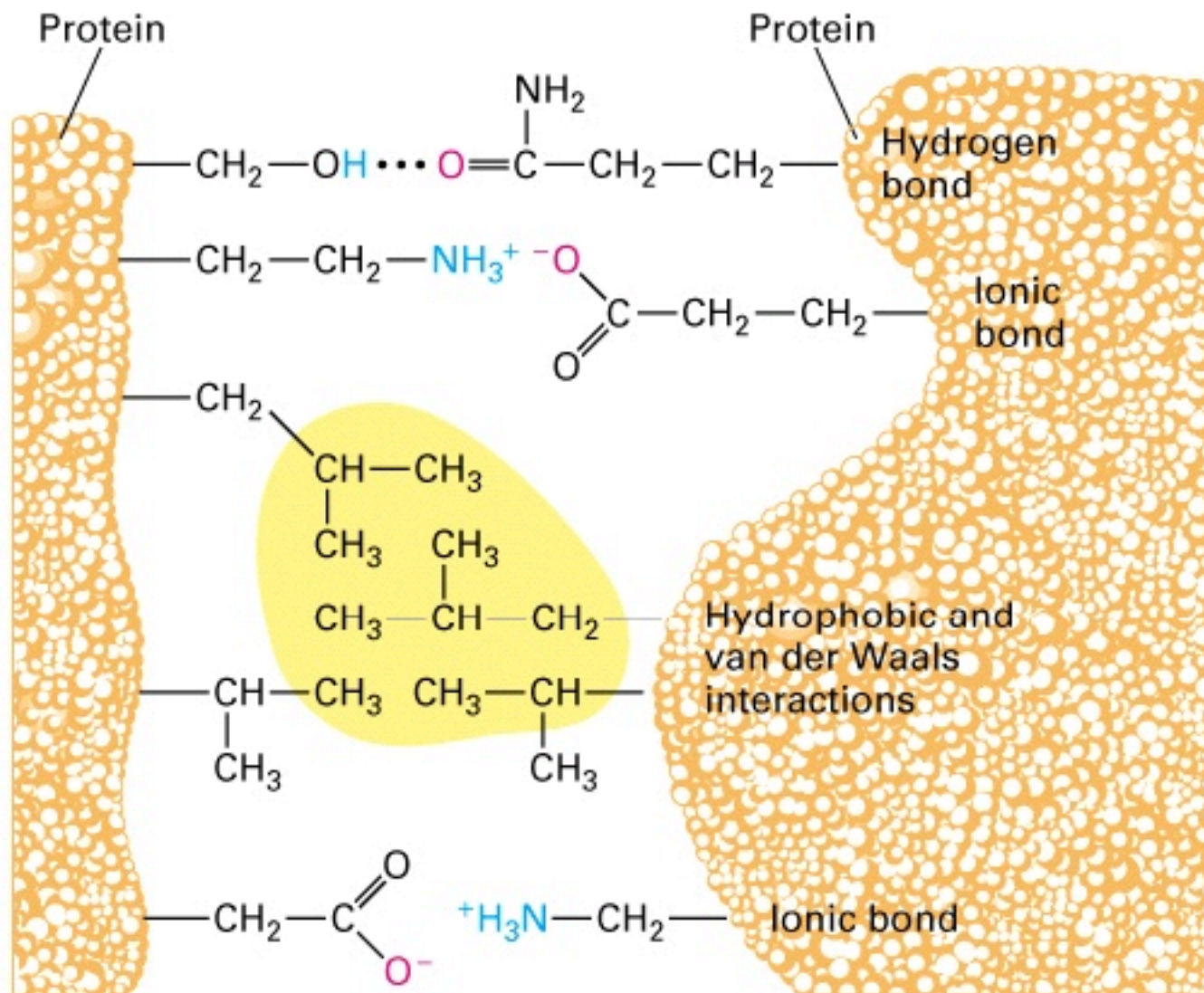
*organofosfátem...*

- vazba látky na DNA

(zpravidla ireverzibilní)



# Typy interakcí mezi látkami (příklad – interakce mezi proteiny)



Copyright (c) by W. H. Freeman and Company



# Rychlost a síla interakce

Rychlost a síla interakce závisí na:

- koncentraci obou interagujících látek

(určující je zpravidla koncentrace toxikantu - ta je dána toxokinetikou)

→ **AFINITA** vazby „ligand-receptor“

: Hodnocení - disociační konstanty:

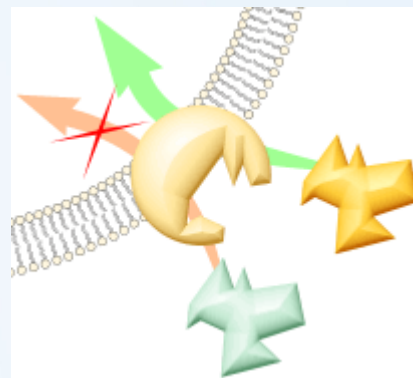
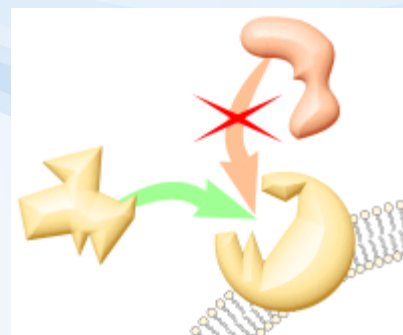
$K_d$  (pro účinné látky cca v rozmezí  $10^{-8}$  M až  $10^{-3}$  M)

(koncentrace která stačí k navázání z 50%

na příslušný receptor)

Afinita - vyjadřuje se často jako převrácená hodnota ( $1/K_d$ )

→ Toxicita (efekt) je pak dán schopností **ÚČINNOSTÍ (efficacy)** látky vyvolat příslušný efekt



# TOXIKODYNAMIKA - základní principy -

Jedná látka může reagovat s více receptory !!!

Která interakce bude preferována (která se projeví toxicky) ?  
Významné faktory

**Koncentrace vs. rychlost toxického projevu interakce**

*dioxin: vysoké dávky → akutní chlorakne, smrt,  
nízké dávky, dlouhodobě → karcinogenita, imunosuprese ...*

**Prostorové umístění a kontakt s receptory**

embryo vs. dospělec

*insekticid: vysoká dávka - akutní toxicita -> žábry / smrt*

*nízká dávka je distribuována v těle a působí chronicky -> imunotoxicita*

**Kd - jednotlivých interakcí**

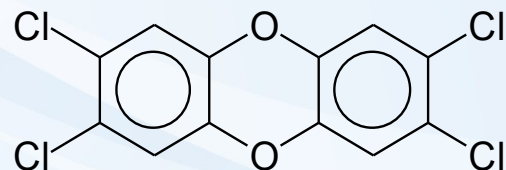
*organofosfát: specifická inhibice AcChE, velmi nízké Kd*

*→ specifické působení*



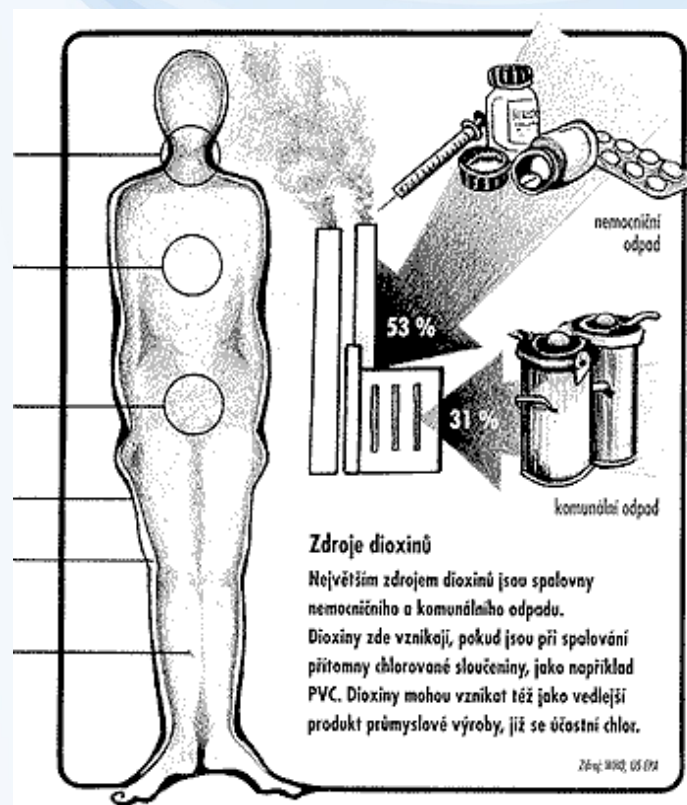
# TOXIKODYNAMIKA - základní principy -

Látka může reagovat s více receptory !!!

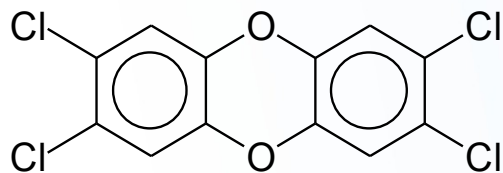


## Příklad - 2,3,7,8-TCDD

- indukce AhR (thymus, játra  $K_d$   $10^{-12}$  -  $10^{-15}$  M)  
-> nádor/měsíce – roky (karcinogenita, imunotoxicita)
- indukce estrogenity (pohlavní orgány  $K_d$   $10^{-9}$  -  $10^{-12}$  M)  
-> reprodukční poruchy/měsíce - roky
- narkotická toxicita ( $10^{-6}$  M)  
-> akutní rychlá intoxikace



# Akutní (!) toxicita TCDD a ostatních látek (potkan LD50 mg/kg ž.v.)



Chemical	LD <sub>50</sub> Value (mg/kg ž.v.)
TCDD (a form of dioxin)	0.01
Tetrodotoxin (globefish toxin)	0.01
Saxitoxin (shellfish poison)	0.8
Carbofuran (a pesticide)	10
Phosphamidon (an insecticide)	24
Nicotine	50
Caffeine	200
DDT (an insecticide)	200
2,4-D (an herbicide)	370
Mirex (an insecticide)	740
Acetylsalicylic acid (aspirin)	1,700
Malathion (an insecticide)	2,000
Sodium chloride (table salt)	3,750
Glyphosate (an herbicide)	4,300
Ethanol (drinking alcohol)	13,700
Sucrose (table sugar)	30,000
Botulotoxin (enzym)	0,00000003

# Toxikodynamika - otázky

Jaké makromolekuly jsou cílem toxických látek?

Jaké existují interakce mezi toxickými látkami a makromolekulami?

Jaký typ interakce bude nejpravděpodobnější mezi

\* hexachlorhexanem ... a hemoglobinem? ... a fosfolipidem?

\* formaldehydem ... a tubulinem? ... a nukleovou kyselinou?

Co je to toxikodynamická disociační konstanta?

Ke které makromolekule má TCDD vyšší afinitu? U které interakce bude vyšší  $K_d$ ?

K receptoru AhR nebo k hemoglobinu?

Co je agonista? Co je antagonist?



# Účinky látek na molekulární úrovni: mechanismy působení





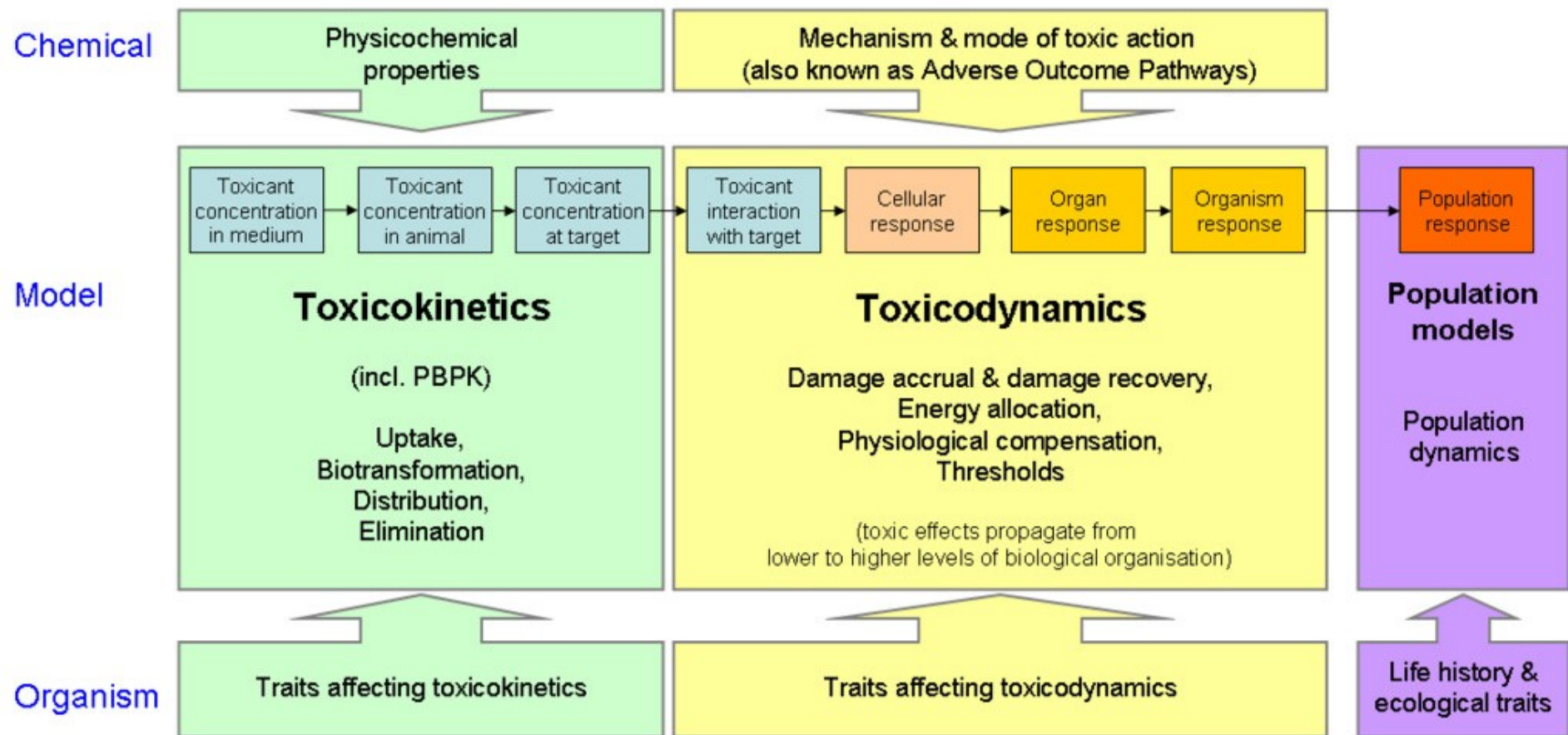
# Co by si student(ka) měl(a) odnést ?

- 1) ZNÁT a dokázat vysvětlit hlavní Molekulární a Biochemické mechanismy toxicity
- 2) Dokázat přiřadit ke každému mechanismu toxicity některé z významných environmentálních toxikantů
- 3) Vysvětlit, jak se jednotlivé BIOCHEMICKÉ MECHANISMY toxicity projeví na vyšších úrovních  
(příklad – inhibice receptoru pro hormon → projev: porušení reprodukce)



# Připomenutí:

mechanistický koncept od molekuly k populacím  
(V literatuře: „Adverse Outcome Pathway“)



→ Arrows indicate a causal relationship

See also: Ashauer & Escher *JEM* (2010), Rubach *et al. IEAM* (2011), Jager *et al. ES&T* (2011), Ashauer *et al. ET&C* (2011)

# Základní **typy** ekotoxicity **organických látek**

- 1) Všechny organické látky mají toxické efekty **pro membránové fosfolipidy**  
= **nepolární narkotická toxicita** (bazální toxicita, membránová toxicita)  
*projevy při relativně vysokých koncentracích, závisí na logKow (viz dále)*



# Základní **typy** ekotoxicity **organických látek**

1) **Všechny organické látky** mají toxické efekty **pro membránové fosfolipidy**

= **nepolární narkotická toxicita** (bazální toxicita, membránová toxicita)

*projevy při relativně vysokých koncentracích, závisí na logKow (viz dále)*

2) Kromě základní toxicity, mohou **polárnější látky** přímo působit

na **membránové proteiny** = **polární narkotická toxicita**

*projevy při nižších koncentracích než by odpovídalo logKow*



# Základní **typy** ekotoxicity **organických látek**

1) **Všechny organické látky** mají toxické efekty **pro membránové fosfolipidy**

= **nepolární narkotická toxicita** (bazální toxicita, membránová toxicita)

*projevy při relativně vysokých koncentracích, závisí na logKow (viz dále)*

2) Kromě základní toxicity, mohou polárnější látky přímo působit

**na membránové proteiny** = **polární narkotická toxicita**

*projevy při nižších koncentracích než by odpovídalo logKow*

3) Kromě obou nahoře uvedených mechanismů, mohou látky, které jsou reaktivní

**napadat reaktivně makromolekuly** a působit tzv. **reaktivní toxicitu**

*- projevy ještě při nižších koncentracích než odpovídá narkóze*

*- toxické látky spíše elektrofilny, vyhledávají nukleofilní zbytky = „elektrony-bohatá místa“*

*(nukleotidy, SH-, NH<sub>2</sub>- a další skupiny – nukleové kyseliny, proteiny, fosfolipidy)*



# Základní **typy** ekotoxicity **organických látek**

- 1) **Všechny organické látky** mají toxické efekty **pro membránové fosfolipidy**  
= **nepolární narkotická toxicita** (bazální toxicita, membránová toxicita)  
*projevy při relativně vysokých koncentracích, závisí na logKow (viz dále)*
- 2) Kromě základní toxicity, mohou **polárnější látky** přímo působit **na membránové proteiny** = **polární narkotická toxicita**  
*projevy při nižších koncentracích než by odpovídalo logKow*
- 3) Kromě obou nahoře uvedených mechanismů, mohou **látky, které jsou reaktivní**  
**napadat reaktivně makromolekuly** a působit tzv. **reaktivní toxicitu**  
*- projevy ještě při nižších koncentracích než odpovídá narkóze*  
*- toxické látky spíše elektrofilny, vyhledávají nukleofilní zbytky = „elektrony-bohatá místa“*  
*(nukleotidy, SH-, NH<sub>2</sub>- a další skupiny – nukleové kyseliny, proteiny, fosfolipidy)*
- 4) Jen některé vybrané skupiny látek vykazují **specifické typy toxicity**  
*-inhibice enzymů (př. Insekticidy, léky), interakce s receptory (estrogeny, dioxinová toxicita ...)*  
*- projevy při velmi nízkých koncentracích, mohou mít chronické projevy*

**1-3 = nespecifické typy** toxicity (u velkých skupin látek, nemají specifický cíl, reakce se všemi makromolekulami),

**4 – specifická toxicita** (účinky na určité cíle, proteiny nebo NK)

→ Viz také dříve: *toxikodynamika*



# Membránová toxicita



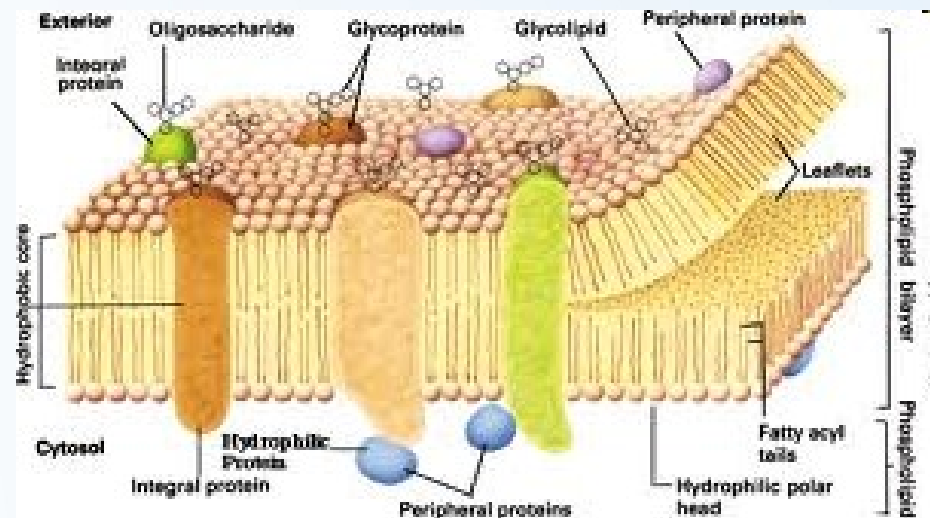
# Mechanismus 1: Interakce s membránou

## Narušení membrány

- základní toxicita (baseline toxicity) = narkoza (narcosis)  
(*nejde o narkozu farmakologickou, kde se uvažuje velmi specifické působení na receptory na membránách*)

## Zásadní význam v ekotoxicitě většiny organických polutantů

- efekty závislé na **HYDROFOBICITĚ (Kow / logP)**
- při vyšších koncentracích akumulace látek v membránách  
→ narušení zásadních životních funkcí  
(přenos nervových signálů, tvorba ATP atd atd)





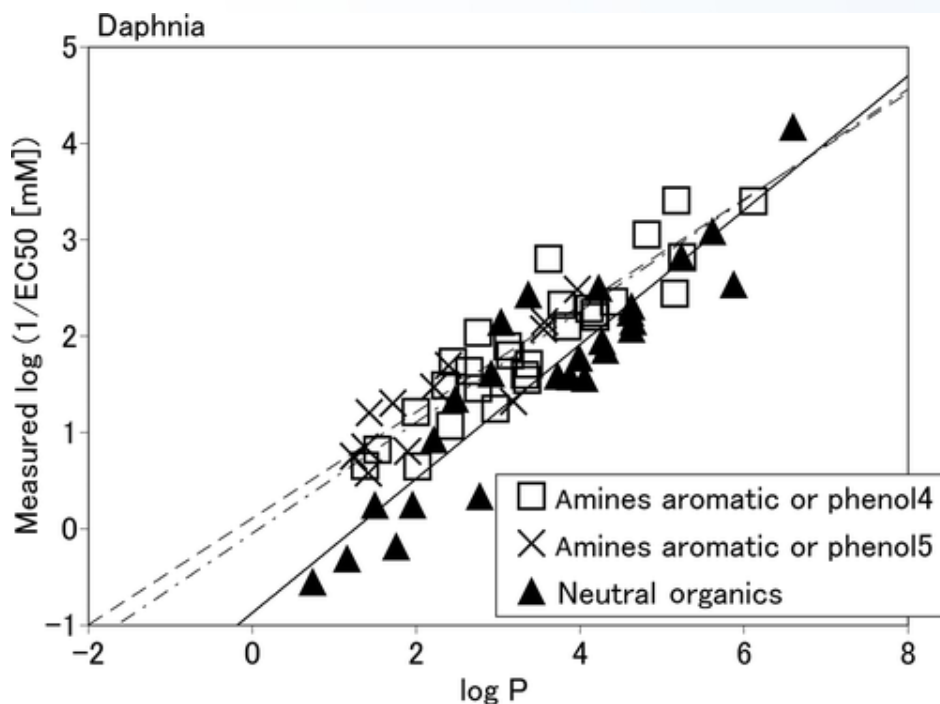


# Narkotická (membránová toxicita)

## → důsledky a projevy

### AKUTNÍ EKOTOXICITA

Přímá korelace mezi  $\log P$  a  $EC_{50}$  u vodních organismů (*Daphnia*, ryby, planktonní řasy ...)



Obrázek:

Neutrální organické látky  
→ Nepochární narkoza

Aminy, fenoly  
→ Polární narkoza  
(při stejném  $\log P$  je pozorována vyšší toxicita – tj. vyšší hodnoty  $1/EC_{50}$  než u neutrálních látek)



# Mutagenita a genotoxicita



# - Mutagenita a genotoxicita -

## DNA - klíčová molekula života

- pečlivá kontrola struktury (a funkce)

## DNA všech organismů často mutuje:

- základ přirozené variability, adaptací, evoluce

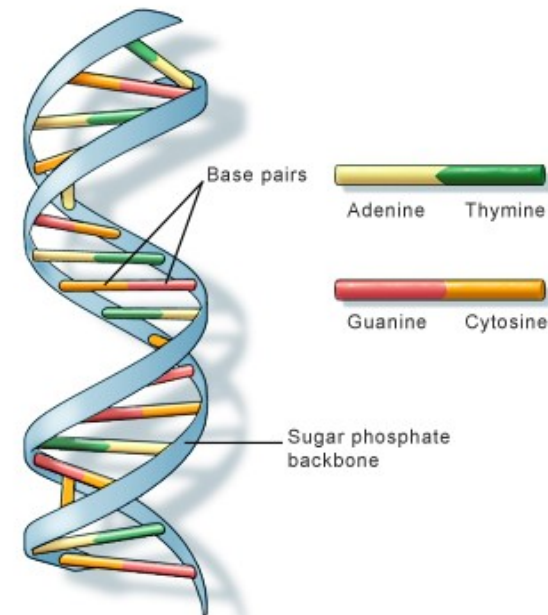
Naprostá většina případných mutací je opravena

Neopravitelné změny

→ 99.9% řízená smrt buňky (apoptóza)

→ minimum změn zůstane zachováno

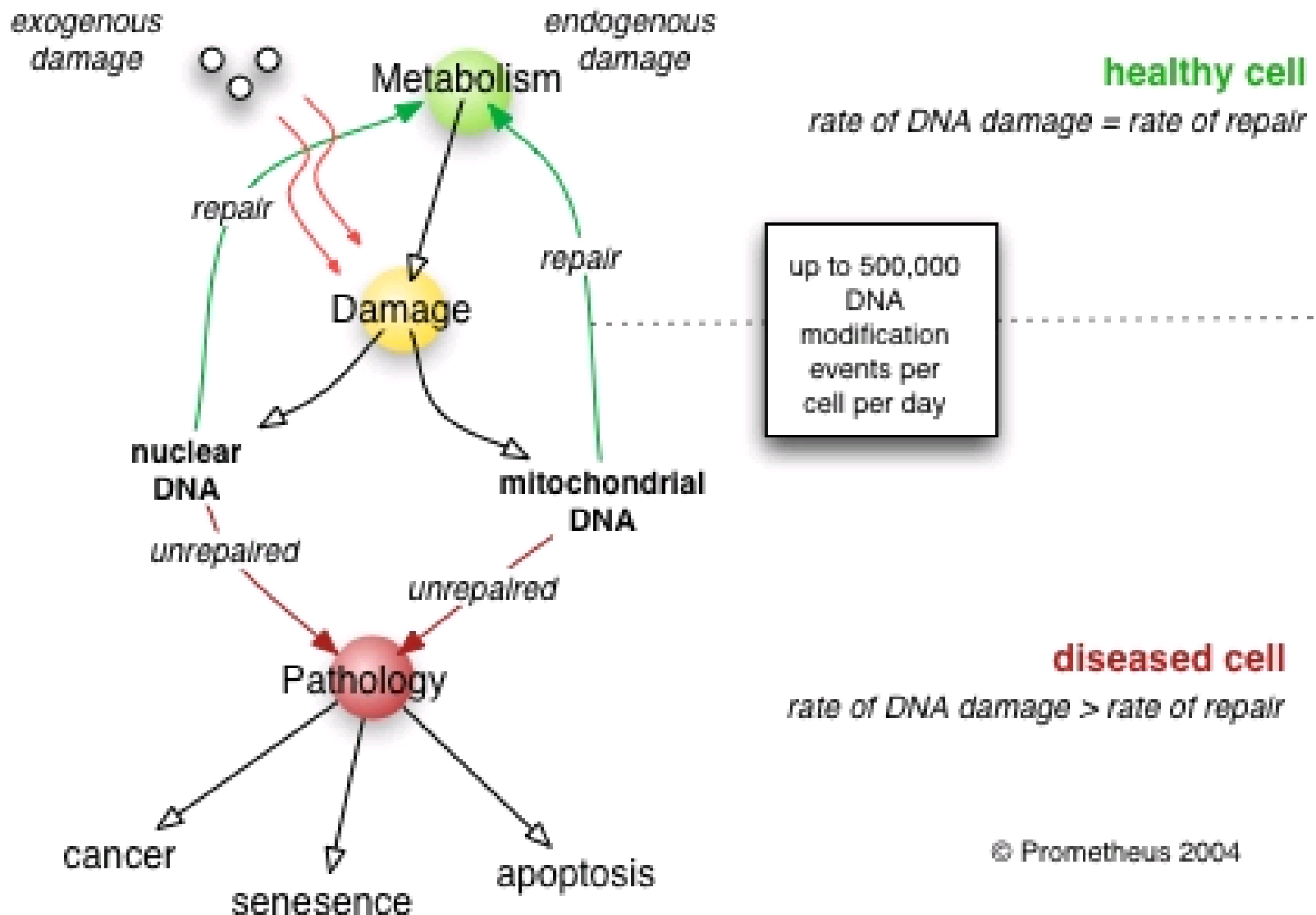
→ projevy (adaptace, evoluce ... genotoxicita)



U.S. National Library of Medicine



# - Mutagenita a genotoxicita -



© Prometheus 2004



## - Mutagenita a genotoxicita -

### Chemické látky mohou indukovat poškození DNA

**mutageny** = látky způsobující mutace  
(změny/alterace na DNA a chromosomech)

**genotoxiny** = látky poškozující DNA

**klastogeny** = látky vyvolávající chromosomální zlomy

- terminologie není jednotná / přechody ...



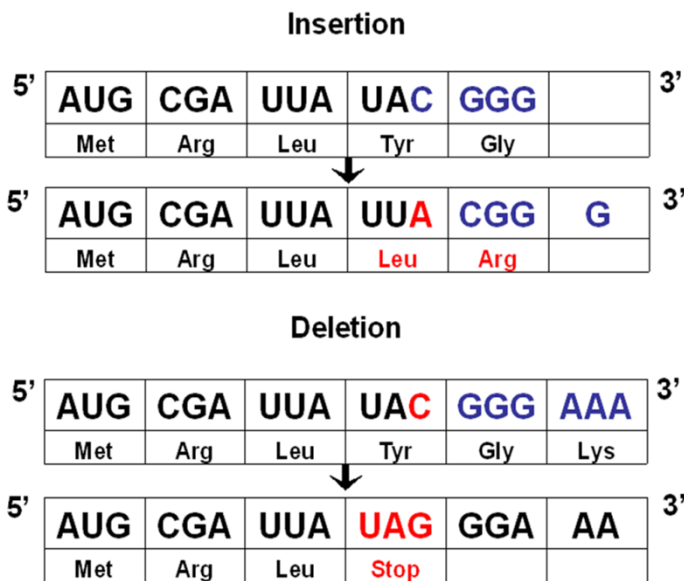
# - Mutagenita a genotoxicita -

## Typy mutací – znát principy

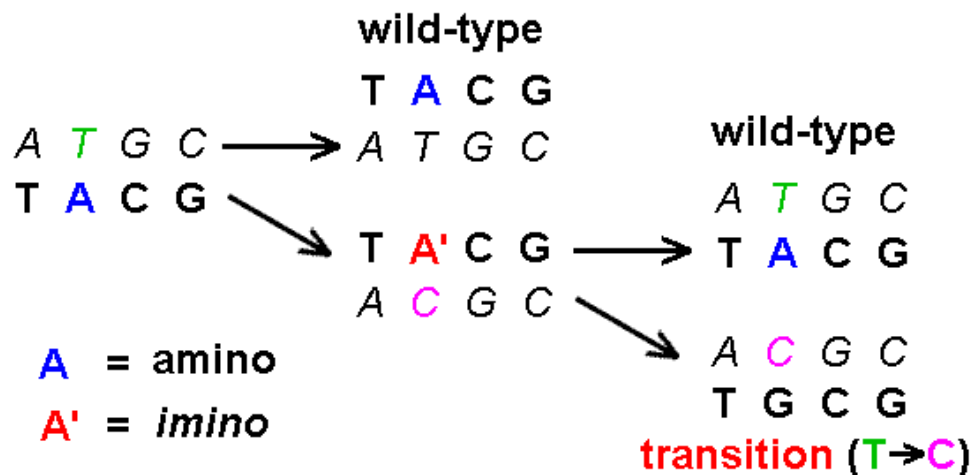
### 1) Bodové

: *delece, adice* (zpravidla změna čtecího rámce: smrt)

: *záměny* (změna jednoho otripletu (jedné aminokyseliny))



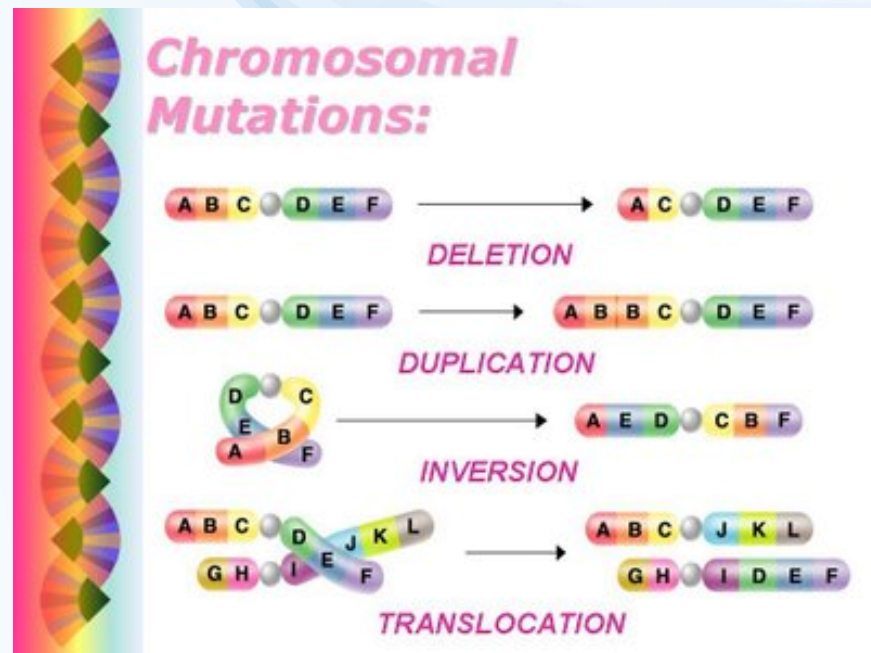
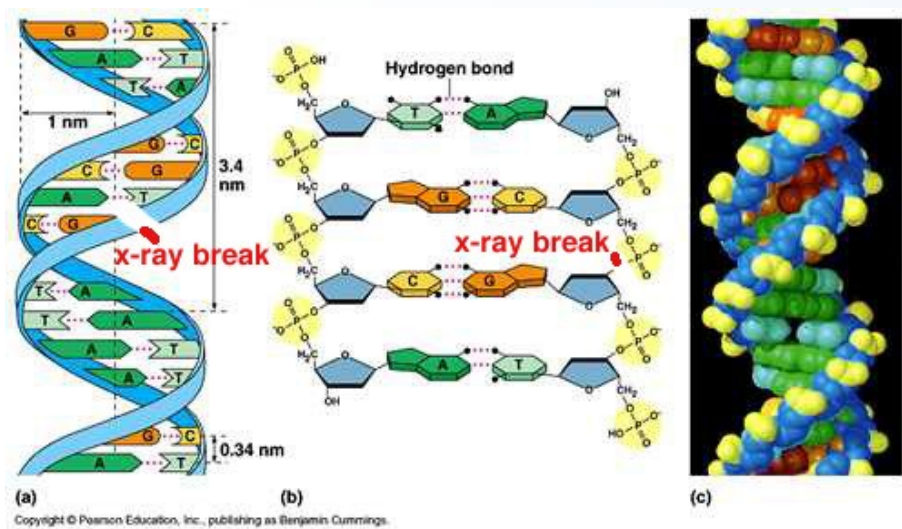
### Záměna T (Purin) → C (Pyrimidin)



# - Mutagenita a genotoxicita -

## Typy mutací – znát principy

### 2) Zlomy + chromozomové mutace





## - Mutagenita a genotoxicita -

### Mutageny jsou:

#### 1) elektrofilní malé molekuly

(vyhledávají nukleofilní/bazická místa ... např. v NK)

#### 2) další reaktivní látky - alkylující, acylující nebo arylující látky

=> kovalentní adukty s DNA

→ 1+2: „nespecifické“ reaktivní mechanismy

#### 3) interkalátory DNA

=> cross-linking řetězců DNA

→ 3: „specifický“ mechanismus (jen látky s definovanou strukturou, velikostí...)



# Mutageny – příklady (1)

**Produkty vznikající z vody a kyslíku (chemikálie s nejvyšší koncentrací)**

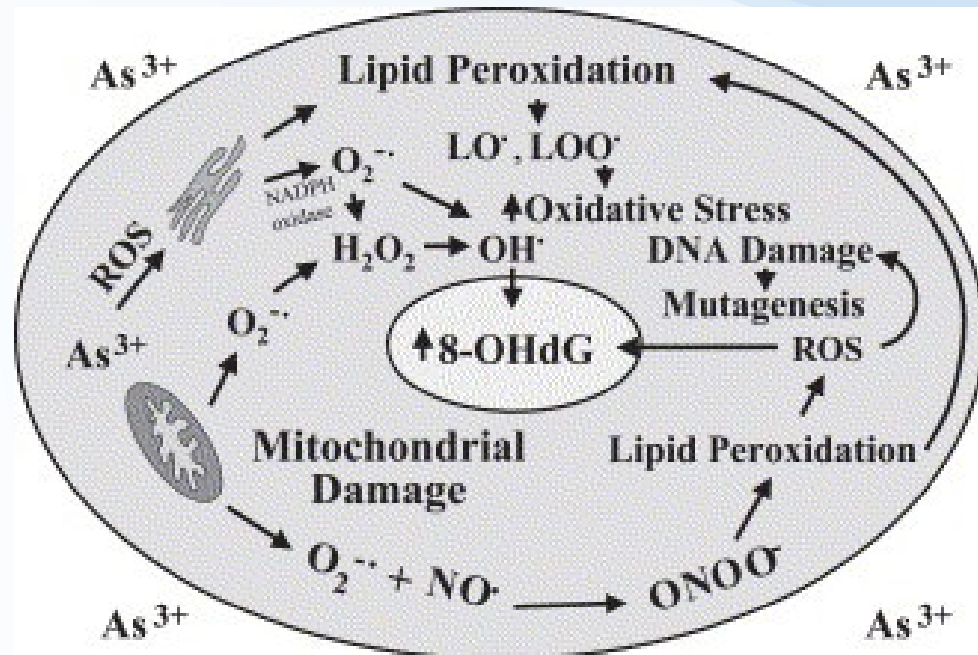
radikály kyslíku:  $\cdot\text{OH}$ ,  $\text{O}_2^{\cdot-}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$

vznik v průběhu metabolismu (viz dále),

v přítomnosti reaktivních látek (radikálové reakce)

v přítomnosti toxických kovů

radiací



# Mutageny – příklady (2)

Kontaminanty, jejich metabolity, toxiny

PAHs

Plísňové toxiny atd.

**Reaktivní organické toxikanty**

epoxidy, episulfidy, laktony, aminy

chinony

azo-látky (heterocyklické PAHs)

aromatické nitro-látky (NO<sub>2</sub>-PAHs)

**Znát příklady:**

**Aflatoxin B1 (po aktivaci CYP)**

**BaP (po aktivaci CYP)**

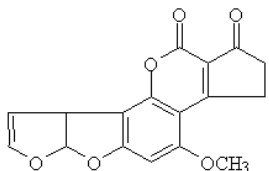
2-AA, 2-AF

(vznik pečením/gril, aktivace CYP)

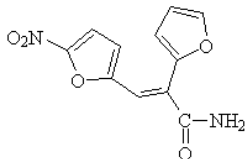
**Přímé mutageny:**

Nitromočovina (alkylace)

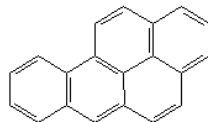
EMS (alkylace)



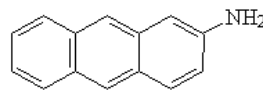
Aflatoxin B1 312.27



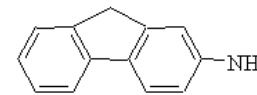
AF-2 (furylfuramide) 248.19



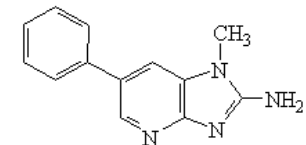
benzo[a]pyrene (BaP) 252.31



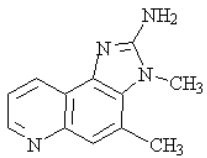
2-aminoanthracene (2-AA) 193.24



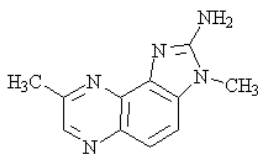
2-aminofluorene (2-AF) 181.23



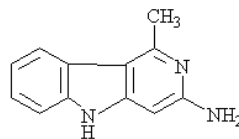
PhIP 224.26



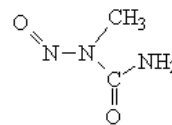
MeIQ 212.25



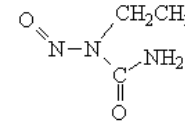
MeIQx 213.24



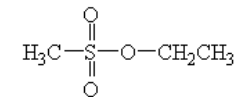
Trp-P-2 197.23



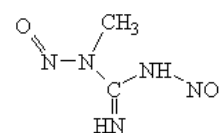
MNNU 103.08



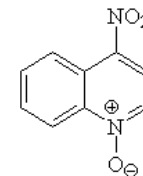
ENU 117.10



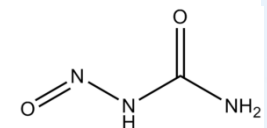
ethyl methane sulfonate (EMS) 124.15



N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) 147.09



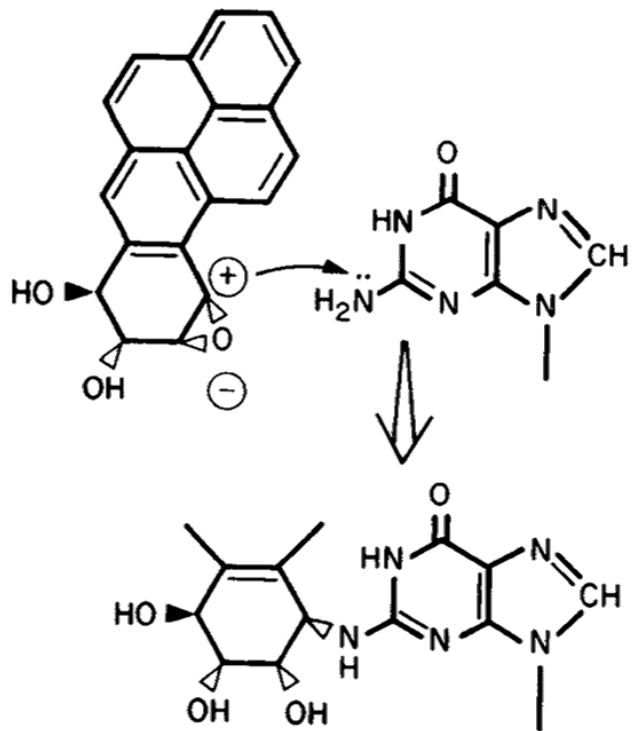
4-nitroquinoline-1-oxide (NQO) 190.15



Nitromočovina



# „Arylace“ (benzo[a]pyren)



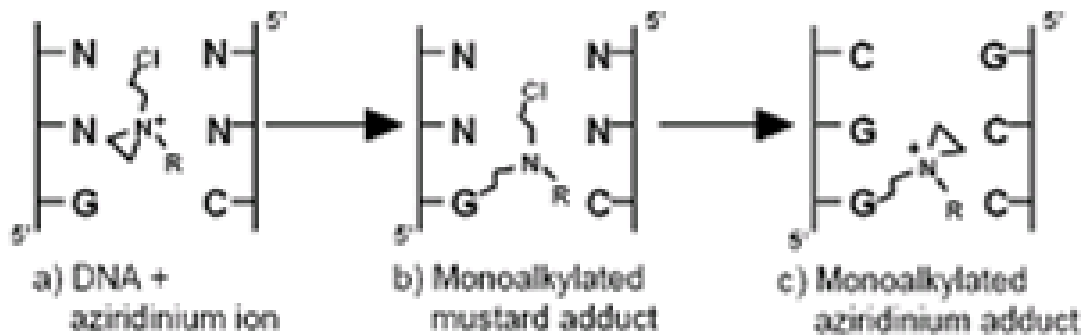
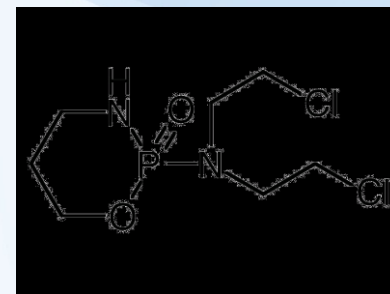
Scheme 5.5. Interaction of 7,8-dihydrodiol-9,10-epoxide of benzo[a]pyrene with the amino group of guanine.

## Příklady reakci

BaP

Cyklofosfamid

## „Alkylace“ cytostatikum cyklofosfamid



a) DNA +  
aziridinium ion

b) Monoalkylated  
mustard adduct

c) Monoalkylated  
aziridinium adduct



# Interkalační činidla

Využití v experimentální biologii – značení DNA (ethidium bromid)

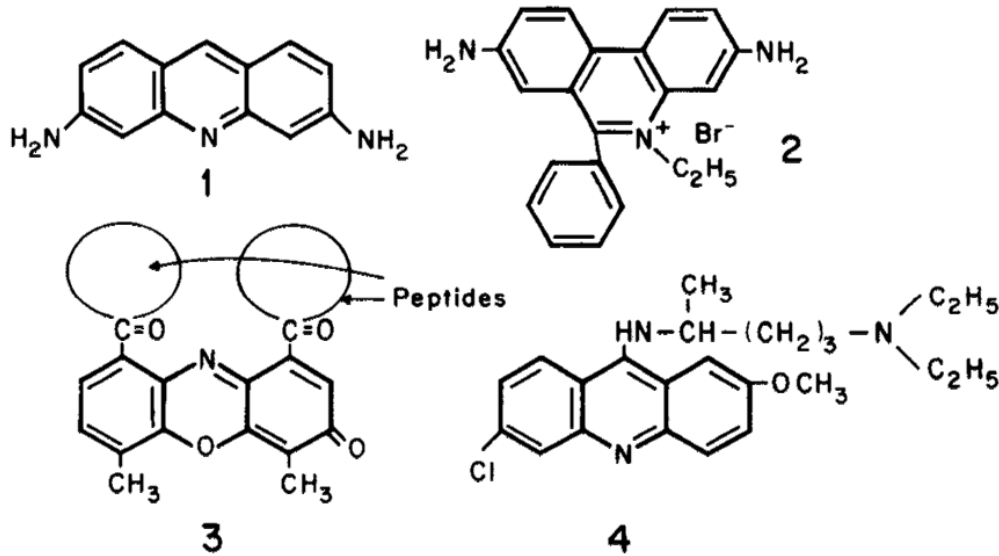
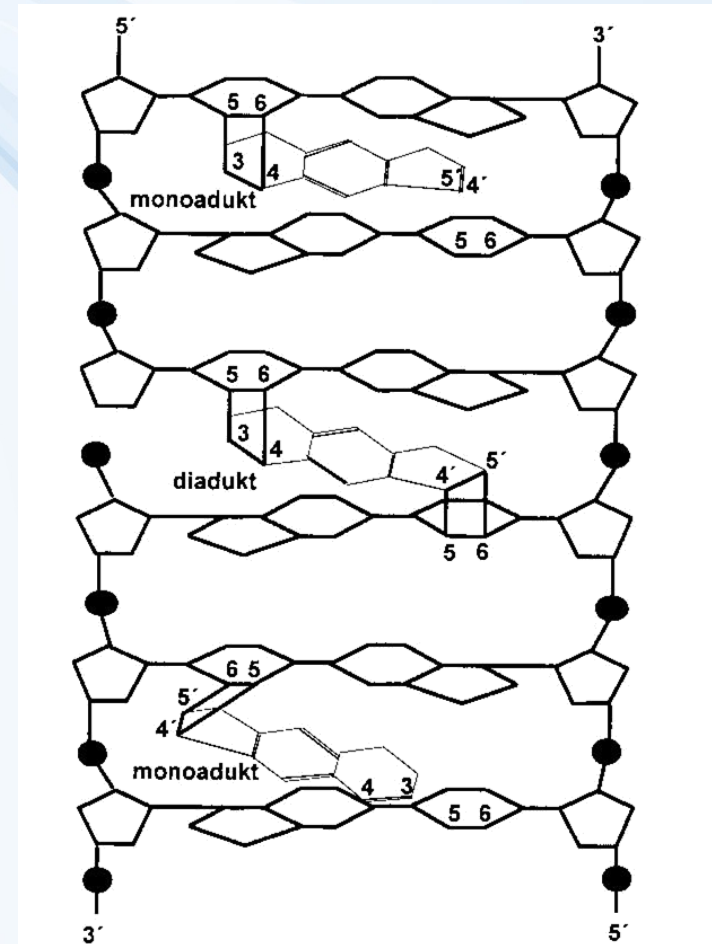


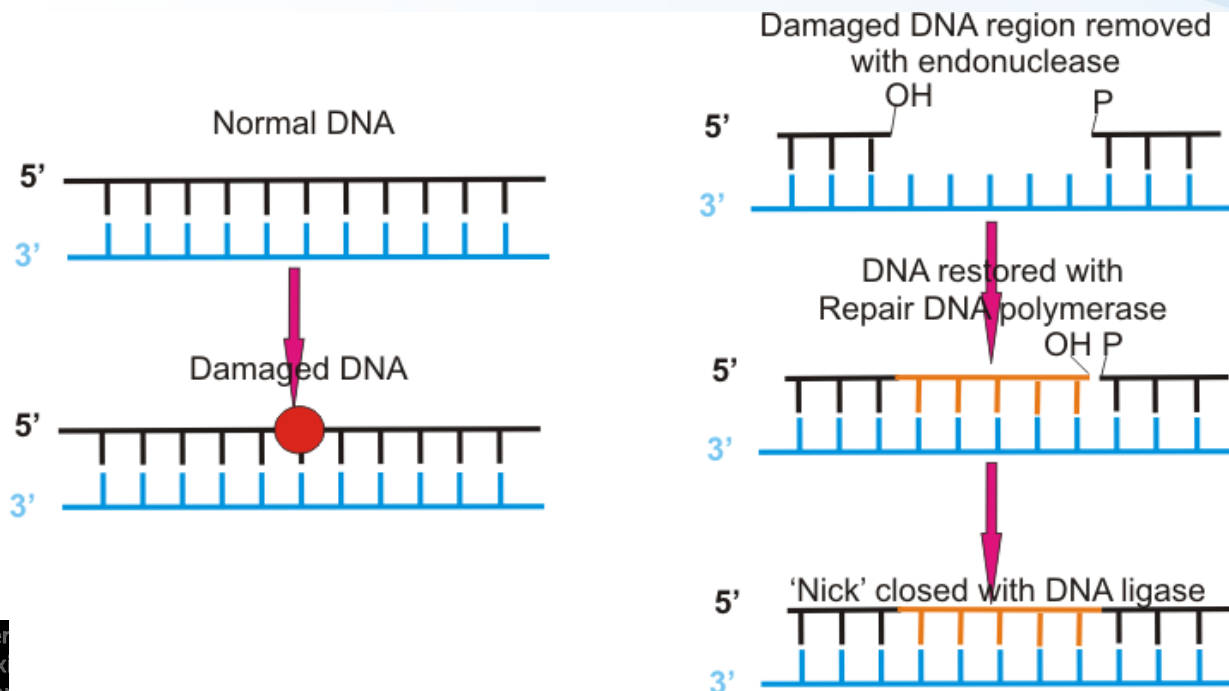
Chart 5.8. Examples of intercalating agents. Key: 1, acriflavine; 2, ethidium bromide; 3, actinomycin; 4, quinacrine.



Interkalace: **psoralen**

# REPARAČNÍ MECHANISMY DNA

- v organismu existuje rozsáhlý soubor reparačních mechanismů
- reparační enzymové aparáty
  - některé jsou exprimovány **konstitutivně** (*nízké úrovně*)
  - některé jsou indukovány **změnami v DNA** (mutace)  
*SOS repair, excisní reparace ...*



# Důsledky mutací / genotoxicity

## 1) Důsledky u lidí a zvířat

### Mutace tělních buněk (somatické mutace)

→ první krok **karcinogeneze a dalších patologií**  
(karcinogeneze, teratogenita: viz další přednášky)

### Mutace pohlavních buněk

→ přenos mutací na další generace (evoluce?)

## 2) Důsledky pro ekosystémy

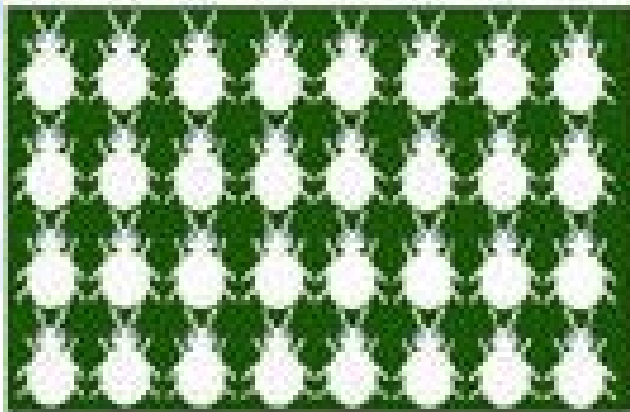
> změny genomu/genofondu přírodních organismů  
> **adaptace** na změny v prostředí → **evoluce**

*Příklady:*

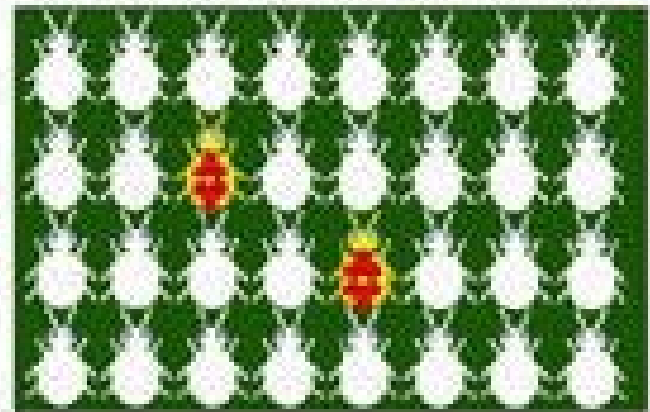
*Pesticidy → vznik rezistentního hmyzu*

*Antibiotika → ATB-rezistentní bakterie*

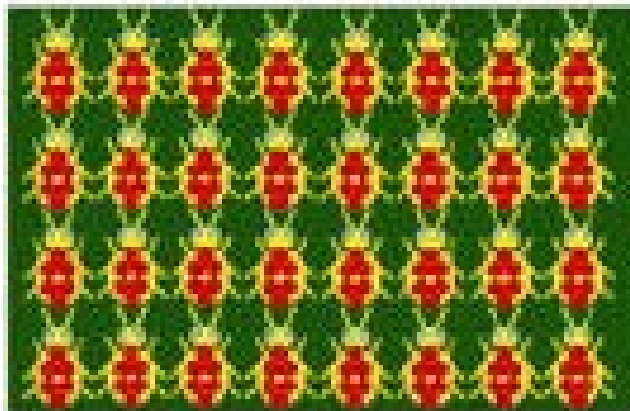




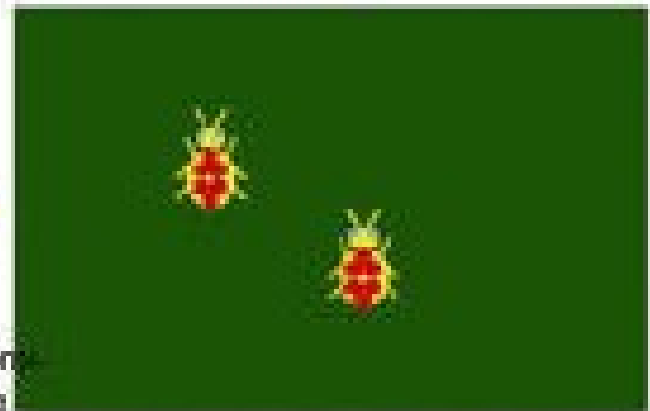
The first individuals with reduced susceptibility to a given insecticide appear as a result of a random mutation



All susceptible individuals are killed by the insecticide, leaving only resistant insects in the population



Resistant individuals multiply, eventually becoming numerous enough to cause economically significant damage





# Inhibice enzymových aktivit

# Inhibice enzymových aktivit

Řada (eko)toxikantů působí jako specifické inhibitory řady enzymů  
inhibice reverzibilní (nekovalentní)  
ireverzibilní (kovalentní)

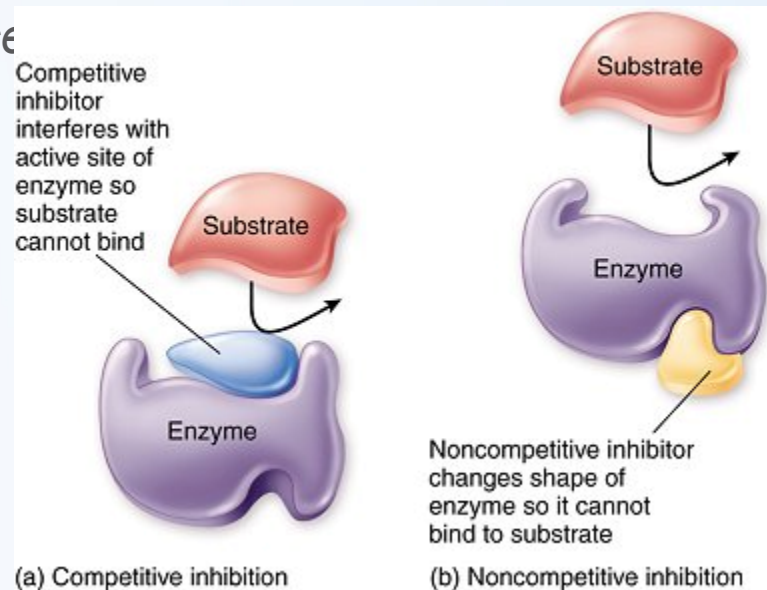
inhibice **kompetitivní**

(v aktivním místě, na úrovni substrátu: viz příklady dále)

inhibice **nekompetitivní/alosterické**

(kovalentní vazby na jiném místě

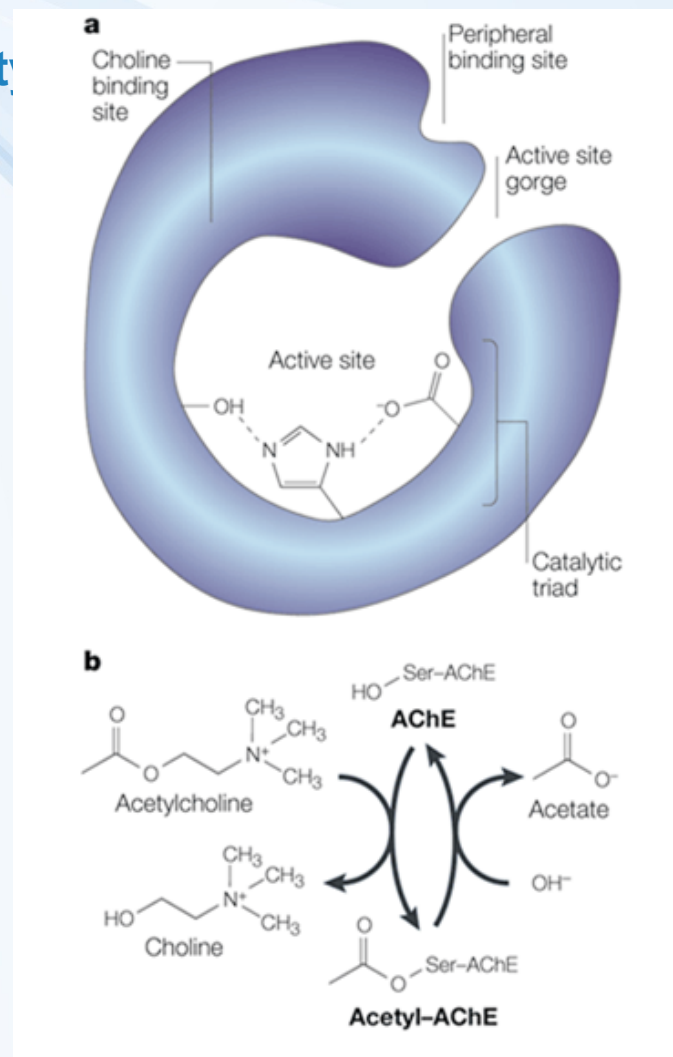
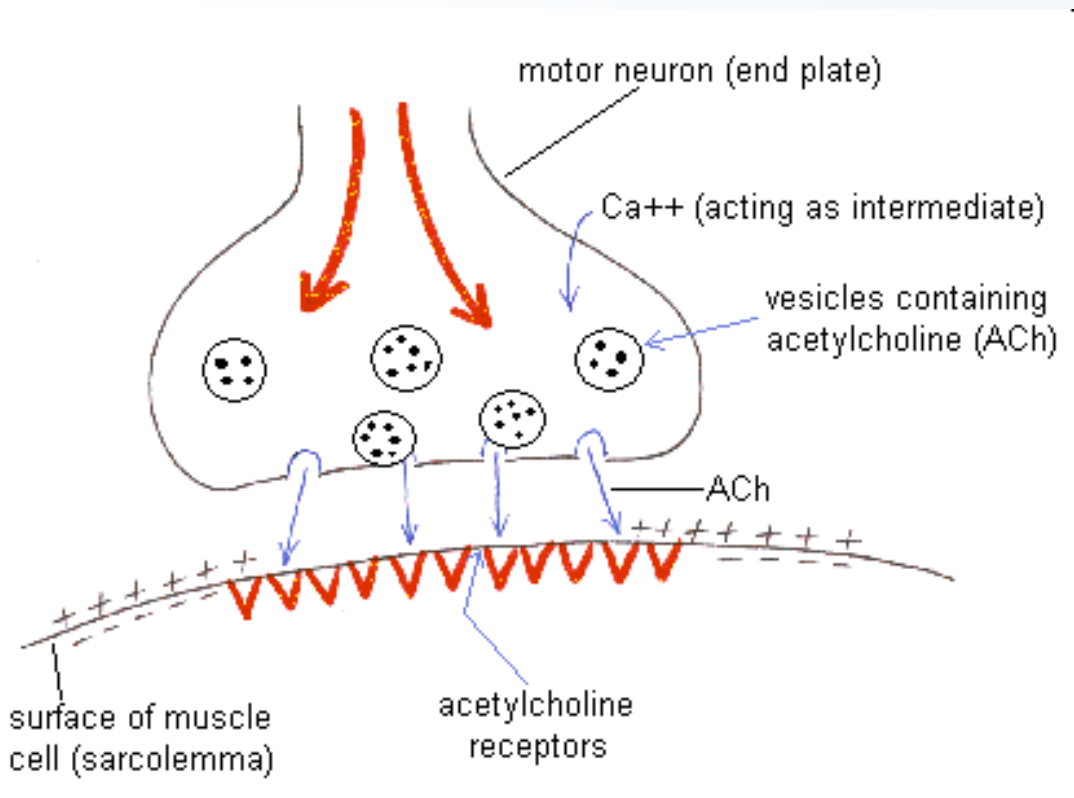
→ nespecifická změna struktury/funkce



# Specifické inhibice enzymů - příklady

## acetylcholinesteráza

- klíčový enzym v přenosu nervových signálů (mezi neurony, mezi neuronem a svalem)
- Inhibice Ach (**organofosfátové pesticidy, karbamáty**)  
→ křeče, udušení



# Specifické inhibice enzymů - příklady

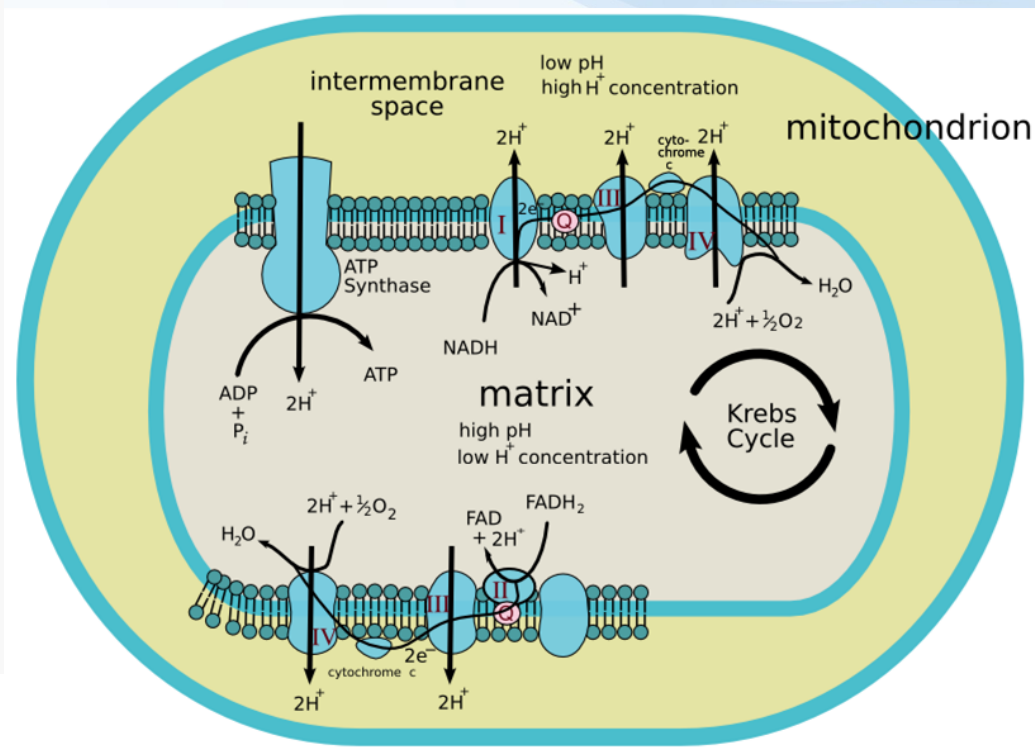
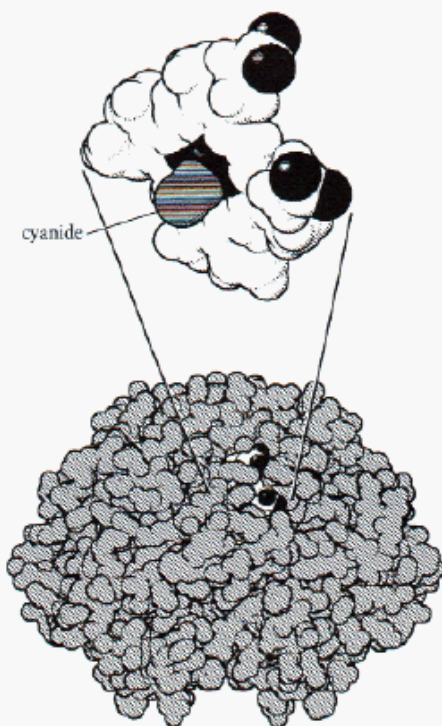
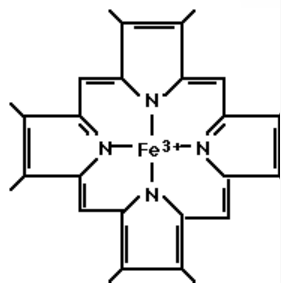
## inhibice enzymů respiračních řetězců

- Respirace & tvorba ATP - klíčový metabolický proces

- **Kyanid** ( $C\equiv N$ ), **CO** vazba na hemový komplex

→ nejrychlejší toxicita – mitochondrie

→ také v hemoglobinu, CYP450 atd.



# Nespecifické mechanismy (reaktivní): denaturace

## Účinky látek na sekundární a terciární strukturu proteinů (včetně enzymů)

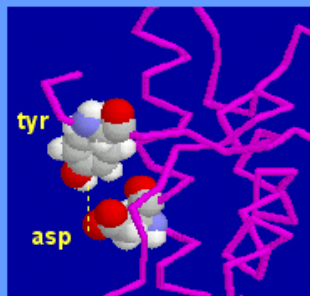
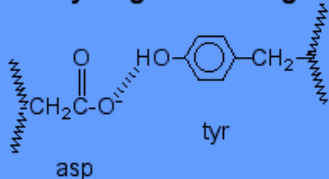
**Narušení H-můstků  
Iontové vazby**

alkoholy, aminy  
kyseliny (COOH), zásady (aminy)  
toxické (těžké) kovy -  $Hg^{+2}$ ,  $Pb^{+2}$ ,  $Cd^{+2}$ ,  $Ag^{+1}$   $Tl^{+1}$ ,  
toxické kovy (reakce se sírou HS-)

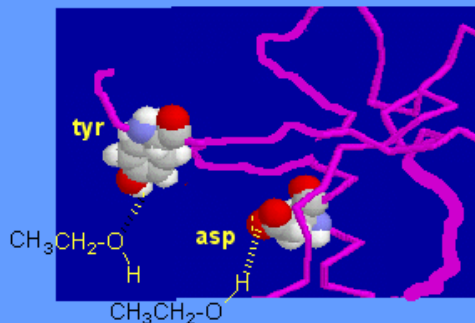
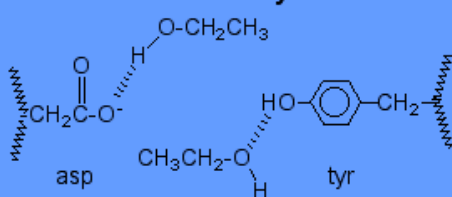
**S-S můstky**

**Detaily (domácí úkol):** <http://www.elmhurst.edu/~chm/vchembook/568denaturation.html>

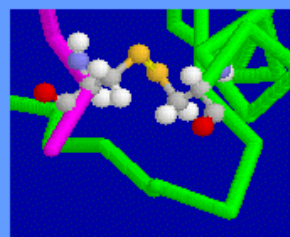
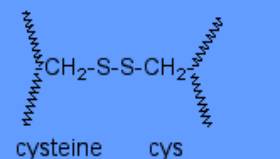
**Tertiary Structure -  
Hydrogen Bonding**



**Denaturation by Alcohol**

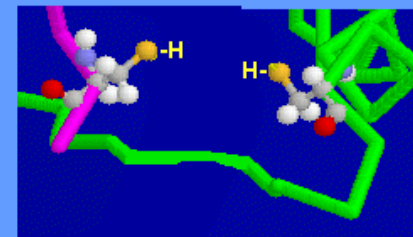


**Tertiary Structure -  
Disulfide Bonds**



Join two chains

**Denaturation by Reducing Agents**



# Změny redox-potenciálu

## Oxidativní stres



# DALŠÍ EFEKTY NA BIOCHEMICKÉ ÚROVNI

## Změny redox-potenciálu

- v buňce se přirozeně udržuje určitý stav redox-potenciálu
- rovnováha **oxidanty/antioxidanty**
- narušení rovnováhy → **oxidační stres**

### **-antioxidanty:**

*kyselina lipoová, beta-karoten, **glutathion, kys. askorbová (vitamin C)***

### **- přirozeně vznikající oxidanty + radikály:**

- **kyslík** (!) a jeho deriváty
- = ROS (reactive oxygen species)  $\cdot OH$ ,  $O_2 \cdot^-$ ,  $H_2O_2$

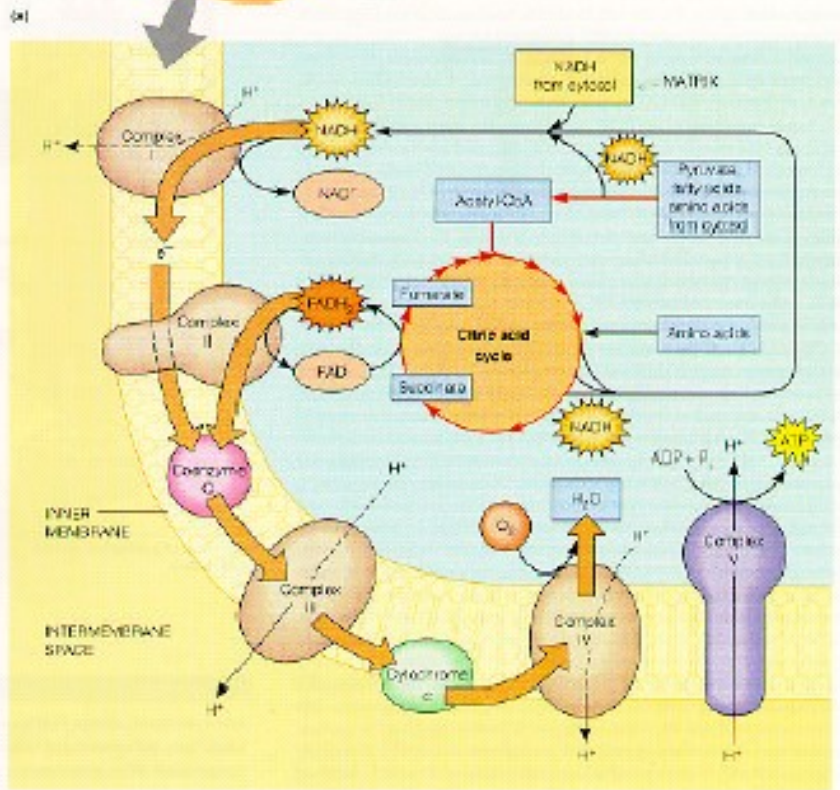
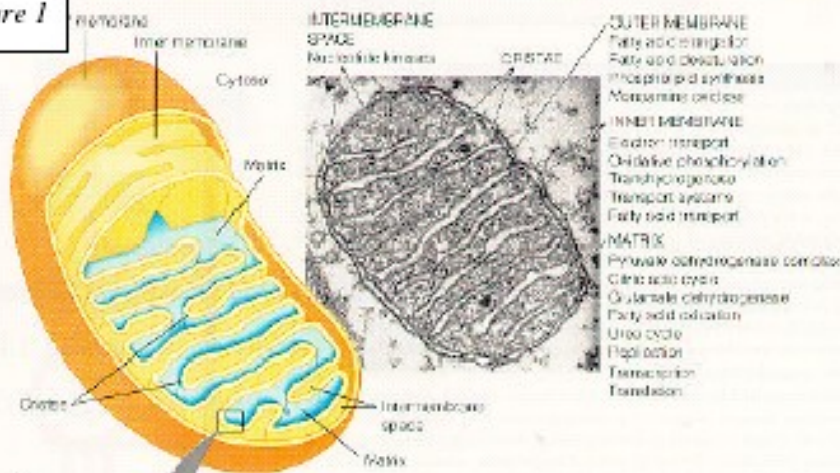
**Přirozené zdroje oxidantů v buňce:**

**mitochondrie**

oxidázy, CYP450 = **detoxifikace**



Figure 1

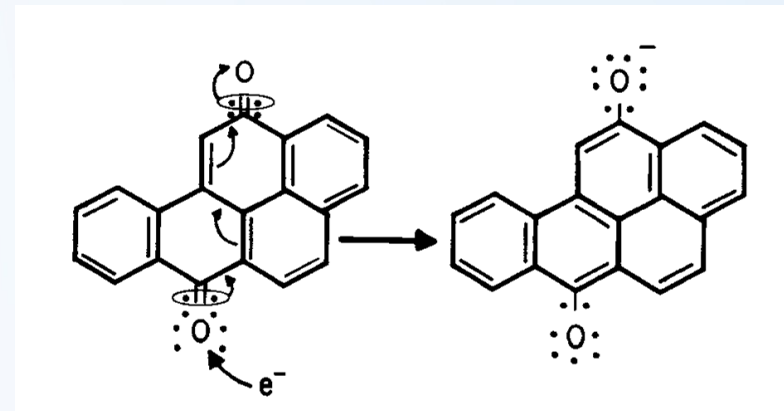


## Respirační řetězec v mitochondriích - zdroj elektronů → zdroj ROS

### V řetězcích přirozeně zapojeny **CHINONY**

- Cizorodé chinony
  - interference
  - (rozpojení toku elektronů)
  - produkce dalších ROS

### Př. Chinony benzo[a]pyrenu





# Další zdroje „oxidantů“ v buňce

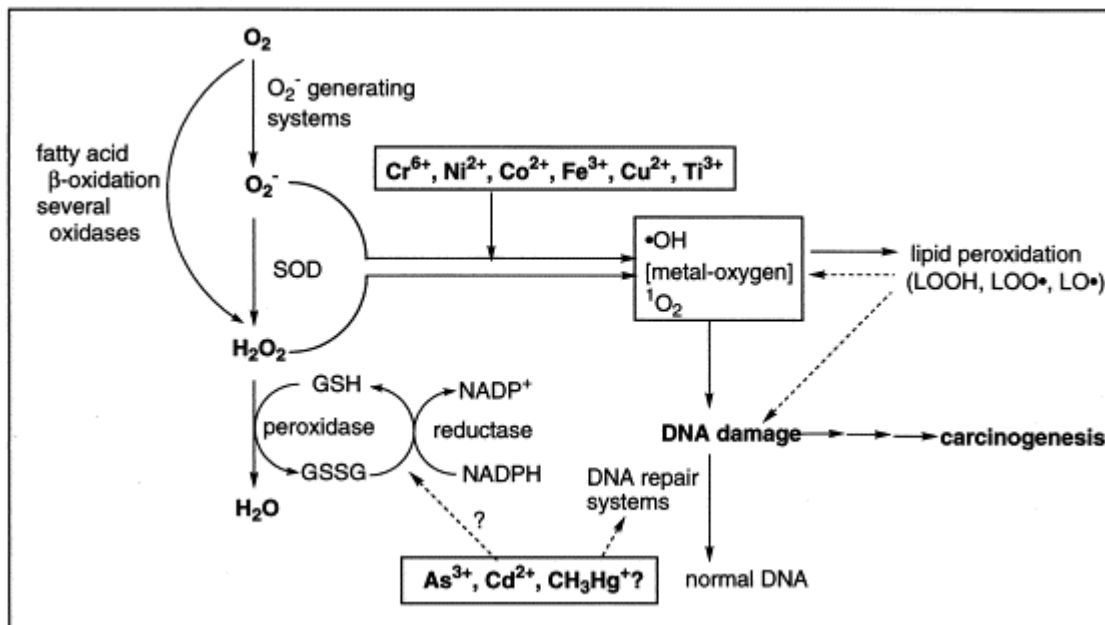
## Xenobiotika

- **reaktivní toxické látky** (epoxidy ...)
- **metabolity** vznikající při transformacích (detoxifikaci)
- toxické **kovy** (Fentonova reakce – katalýza rozkladu  $H_2O_2 \rightarrow OH^*$ )
- redoxní cyklátory – např. **chinony**

## Ionizující záření

**reakce s vodou v buňkách  $\rightarrow$  produkce ROS**

$\rightarrow$  základní mechanismus toxicity způsobené zářením !



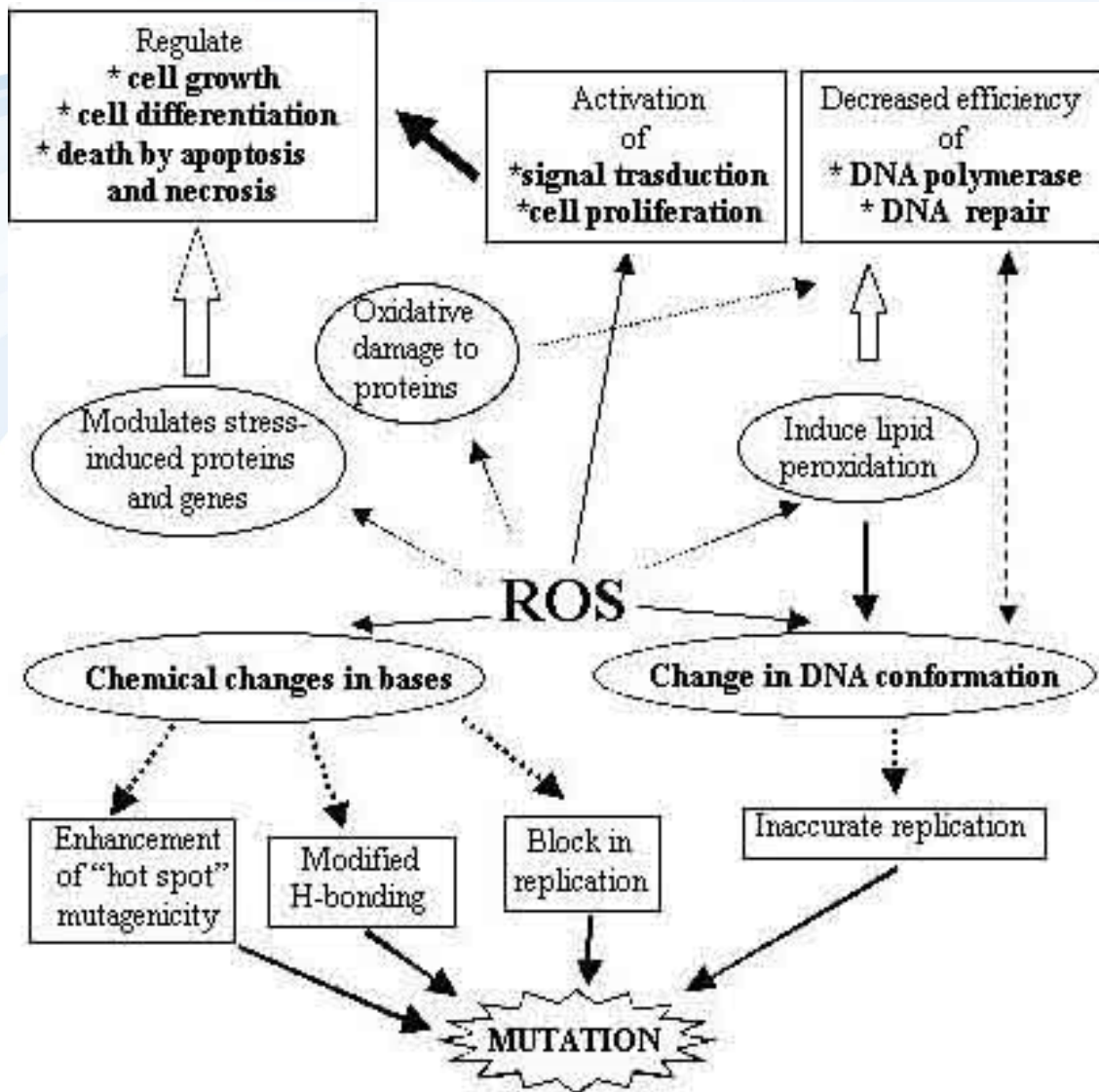
# Oxidativní stres = narušení rovnováhy oxidanty/antioxidanty

## Oxidační stres vzniká:

- Zvýšením koncentrací oxidantů
- Odstraněním antioxidantů (chronický oxidační stres)
  - velmi obecný mechanismus vyvolaný toxickými látkami
  - **důsledky**: chronické efekty – **nemoci, rakovina, stárnutí** ...

*Pozn: Druhý extrém narušení rovnováhy:*

*? Snížení koncentrací oxidantů - málo prostudováno (anoxie - častý stav v nádorech)*

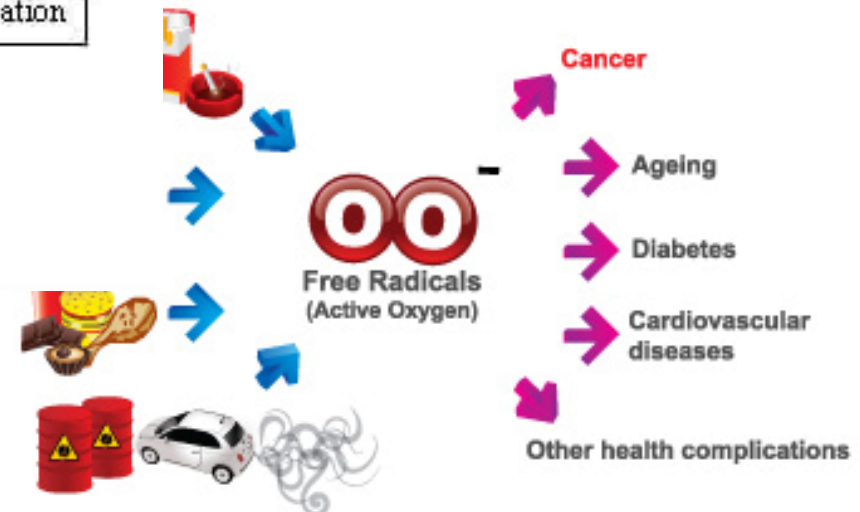


## ROS a oxidace na molekulární úrovni

- DNA
- proteiny
- fosfolipidy

### Důsledky:

→ Přímá toxicita, stárnutí, nemoci



# Další specifické mechanismy

- Změny gradientů na membránách
- Intracelulární receptory



# Změny gradientů na membránách / semipermeabilita

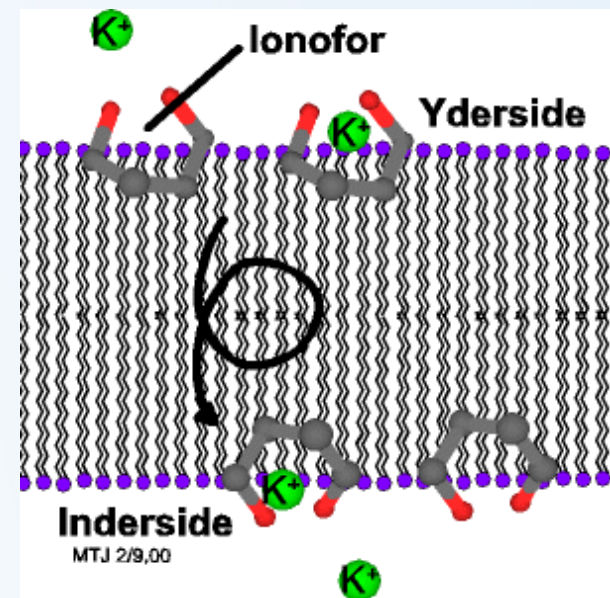
- v buňce se přirozeně udržují gradienty iontů  
(*plazmatická membrána, ER, mitochondrie*)

## Význam gradientů:

- zajištění semipermeability
- zajištění správného signálování (*nízké koncentrace  $Ca^{2+}$* )
- gradienty  $H^+$  pro tvorbu ATP

## Toxické látky narušující gradienty

- **ionofory** - *usnadněný přenos iontů (např. antibiotika)*
- **další mechanismy** – viz dříve
  - *rozpojování toku elektronů z respiračních řetězců (chinony)*
  - *blokace přenosu v respiračních řetězcích (kyanidy)*



# Kompetice toxických látek s přirozenými ligandy

Interakce chemických látek s receptory pro přirozené ligandy  
= reakce **s proteinovými receptory**

## PROTEINOVÉ RECEPTORY

### A) Membránové receptory

- přirozené ligandy

- velké hormony (inzulin):

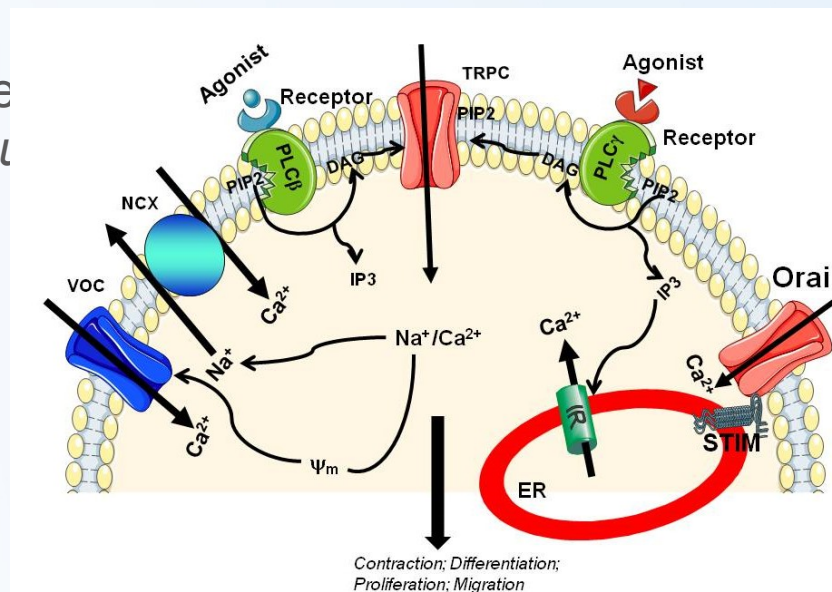
menší význam toxických látek

- malé signální molekuly (neurotransmitery)  
*strukturně blízké malým mk toxikantů*

### B) Intracelulární receptory

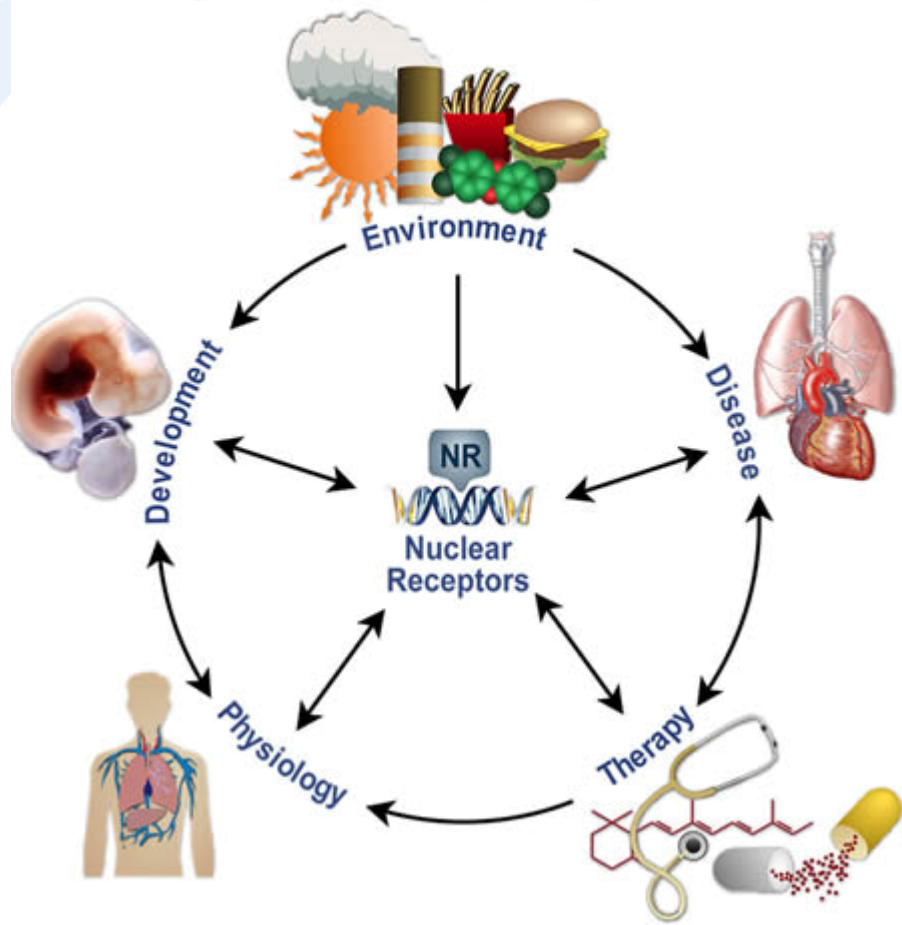
Velký význam v ekotoxicitě

→ viz dále

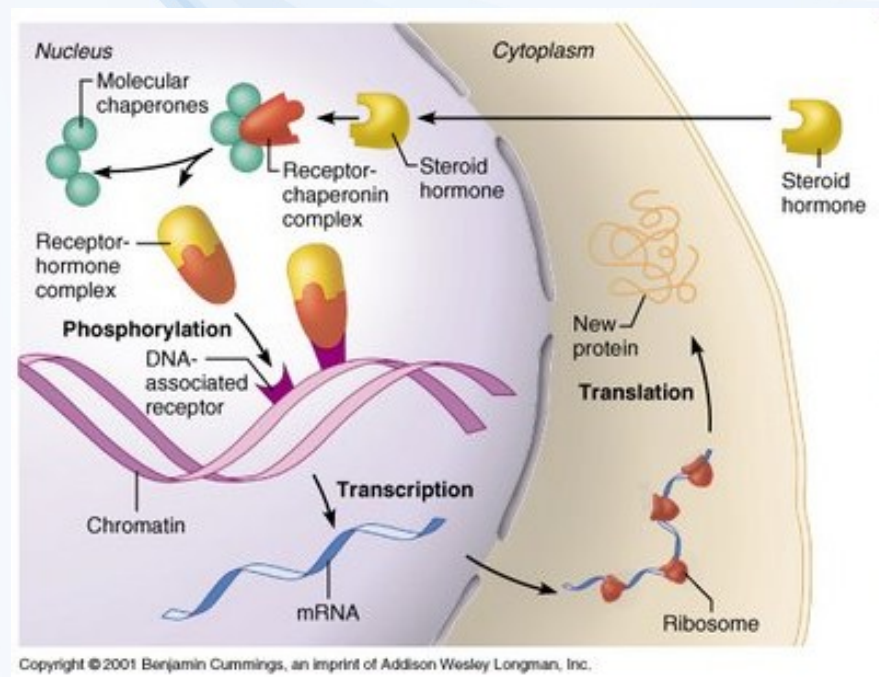


# Intracelulární (nukleární) receptory

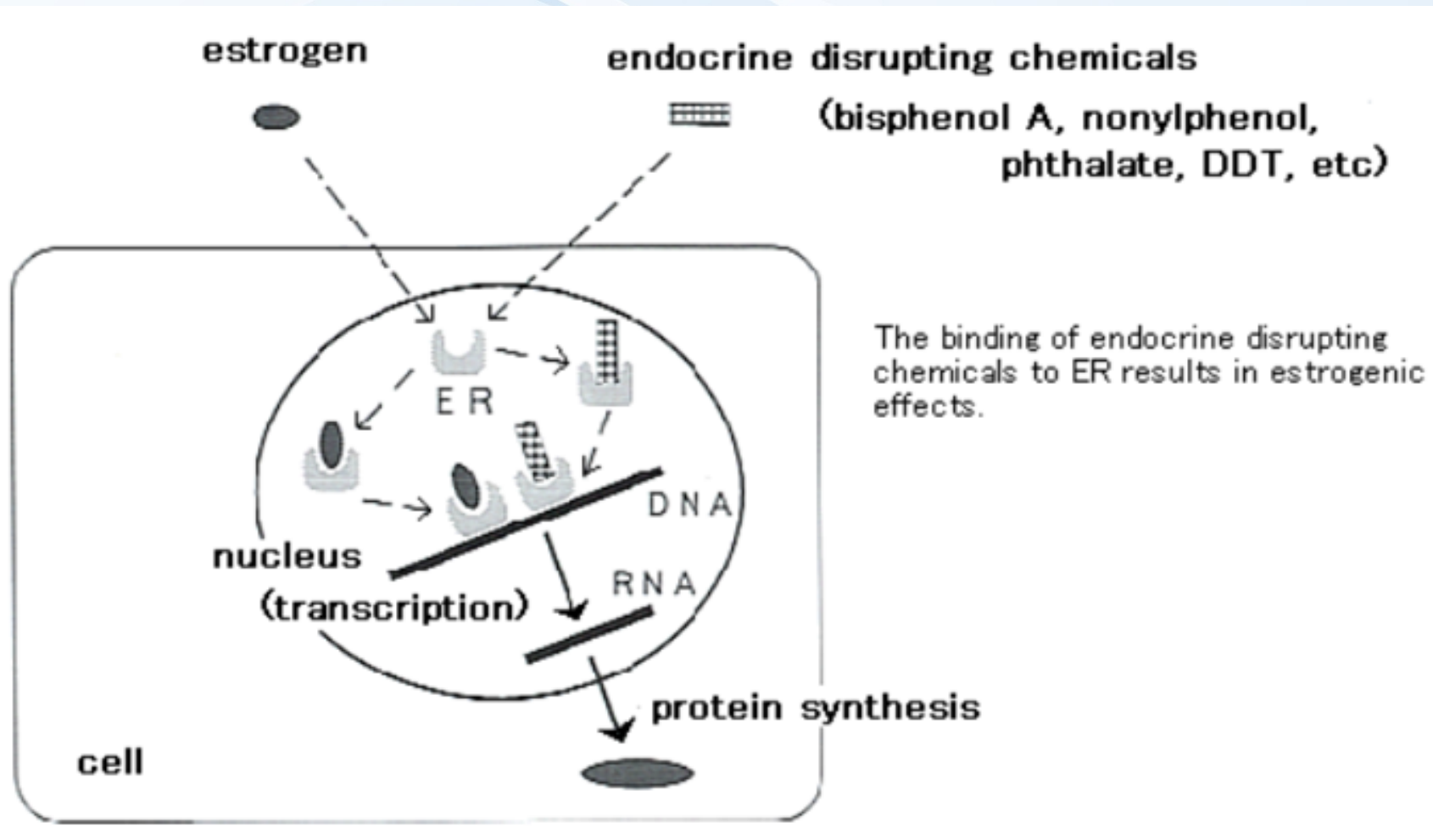
Figure 1. Nuclear Receptors: Ligand Dependent Transcription Factors



Nukleární receptory  
- přímo interagují s DNA  
(transkripční faktory)



# Toxické látky interferují s ligandy nukleárních receptorů



Nukleární receptory





# Intracelulární (jaderné) receptory

## Velký význam v ekotoxikologii !

Ligandy nukleárních receptorů – řada nízkomolekulárních hormonů  
estrogeny, androgeny, thyroïdní hormony ...

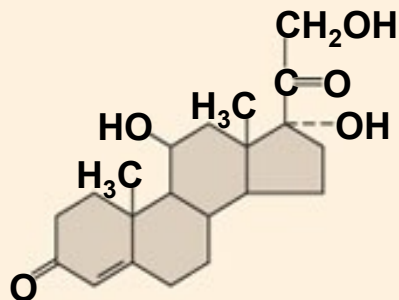
**Organické toxické látky: strukturní podobnost s hormony (!)**

→ Specifické mechanismy a účinky (*efekty při nízkých koncentracích*)

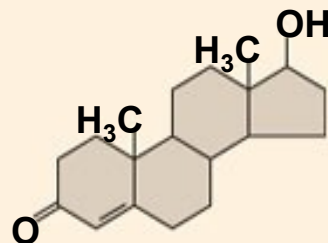
**Důsledky: chronická toxicita velmi významných polutantů**

- **persistentní látky** - PCBs, PCDDs/Fs, DDT,
- **ftaláty a další aditiva (bisfenol A)**
- **detergenty (nonylfenol)**
- nové typy pesticidů atd.

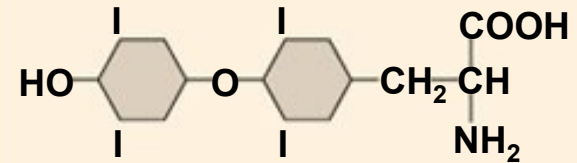
**Cortisol (Hydrocortisone)**



**Testosterone**



**Thyroxine**



# Nukleární receptory významné v ekotoxicitě

AhR – receptor pro aromatické uhlovodíky (arylhydrocarbon receptor)

ER – estrogenní receptor

(také AR – androgenní receptor a další: prostudováno méně)

## Aktivace AhR :

- není znám přirozený ligand, nejsilnějším ligandem TCDD (!)
- po aktivaci:
  - indukce detoxikačních enzymů (CYP1A1)
  - **hyperfosforylace regulačních enzymů**
    - proliferace (! nádory), apoptóza (*imunotoxicita*) ...

## Aktivace ER

- přirozeným ligandem ER jsou estrogeny (17beta-estradiol atp.)
- efekty jsou závislé na typu buněk
  - proliferace (nádory), produkce hormonů, změny aktivit ...
- nefyziologická hyperaktivace ER
  - **xenoestrogenita** (významný proces **endokrinní disrupce**)



# Shrnutí

## **Přehled mechanismů:**

*ke každému znát principy, důsledky, příklady chemických látek*

## Základní typy toxicity

### **Nespecifická toxicita**

- nepolární narkotická toxicita (bazální toxicita)
- polární narkotická toxicita
- toxicita vyvolaná reaktivními látkami

### **Specifická toxicita**

- inhibice enzymů, interakce s receptory apod.

## Konkrétní příklady

- narušení přirozené fluidity membrány
- interakce látek s DNA
- inhibice enzymových aktivit
- narušení redox-potenciálu
- narušení gradientů na membránách
- kompetice se substráty / přirozenými ligandy



## Příkladové otázky

- Co se rozumí pod pojmem receptor v toxikodynamice? Uveďte příklady
- Jaké molekulární interakce nastávají mezi toxickou látkou a cílovým místem? Popište princip hydrofobní interakce (atp.)
- Co je to agonista a antagonist? Co je to specifická a nespecifická inhibice enzymu?
- Vysvětlete na jakých vlastnostech látky závisí nepolární narkoza, genotoxicita atp.
- Popište co to je oxidativní stres, jak vzniká, jaké jsou jeho důsledky?
- Co je to acetylcholinesteráza? Jakou má funkci v organismu? Jaké jsou důsledky její inhibice? Jaké látky ji inhibují?
- Co je to estrogenní receptor? Vysvětlete proč je v toxicitě významnější než např. receptor pro inzulin?
- Jaké jsou důsledky mutagenity u člověka? Jaké jsou důsledky mutagenity u přírodních organismů?