



Centrum pro výzkum  
toxických látek  
v prostředí

# Živé systémy v ekotoxikologii - úvod -

Luděk Bláha, PŘF MU

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



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

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

## **Znát a vysvětlit pojmy a chápat význam v ekotoxikologii pro ...**

- úrovně a hierarchie biologické organizace
- základní strukturní elementy živé hmoty
- základní funkce živé hmoty
- základní procesy (zejm. toky energií) v živých systémech

## **Rovnováha a stres u živých systémů**

- Udržování rovnováhy
- Energie a rovnováha
- Stres - primární a sekundární reakce, adaptace / evoluce



# Život

## Hierarchie



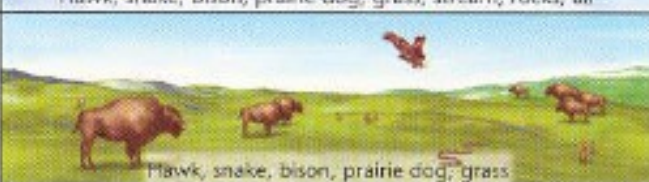



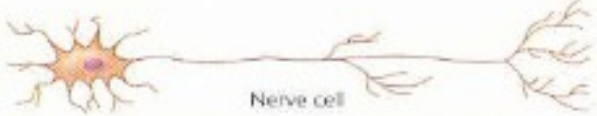
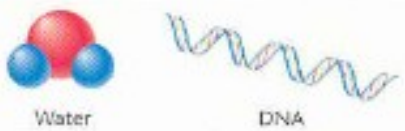
*... a význam v ekotoxikologii*



# Organizace života

→ působení látek  
na různých úrovních

*! U studentů se zde předpokládá, že znají definice jednotlivých úrovní „života“*

Biosphere	The part of Earth that contains all ecosystems	
Ecosystem	Community and its nonliving surroundings	 Hawk, snake, bison, prairie dog, grass, stream, rocks, air
Community	Populations that live together in a defined area	 Hawk, snake, bison, prairie dog, grass
Population	Group of organisms of one type that live in the same area	 Bison herd
Organism	Individual living thing	 Bison
Groups of Cells	Tissues, organs, and organ systems	 Nervous tissue → Brain → Nervous system
Cells	Smallest functional unit of life	 Nerve cell
Molecules	Groups of atoms; smallest unit of most chemical compounds	 Water      DNA



# BIOLOGICKÉ SYSTÉMY V EKOTOXIKOLOGII

## Chemická látka v prostředí a její toxicita

→ Vnější prostředí

- environmentální OSUD

→ Živý systém

- osud v organismu TOXIKOKINETIKA

→ Dosažení „cílového místa“: molekula

→ interakce – TOXIKODYNAMIKA

→ projev toxicity ...ÚČINEK

## Toxické účinky

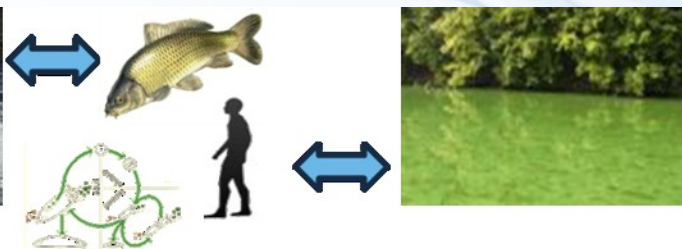
Toxické efekty se odehrávají VŽDY nejprve **nejnižších úrovních**  
**MOLEKULY**

... ale mohou se projevit i na vyšších úrovních

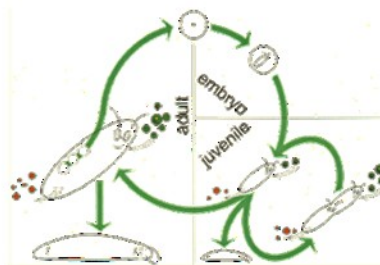
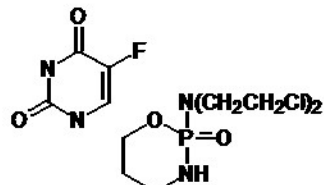
→ tkáň, organismus, populace, společenstva



# Mechanistické porozumění účinkům (& predikce toxicity) AOPs – Adverse Outcome Pathways (Dráhy škodlivého účinku)



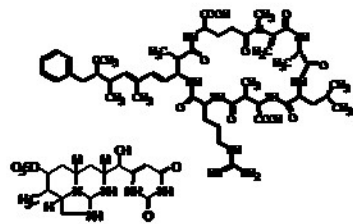
**Společenstva  
a ekosystémy**



Účinky na **populace**



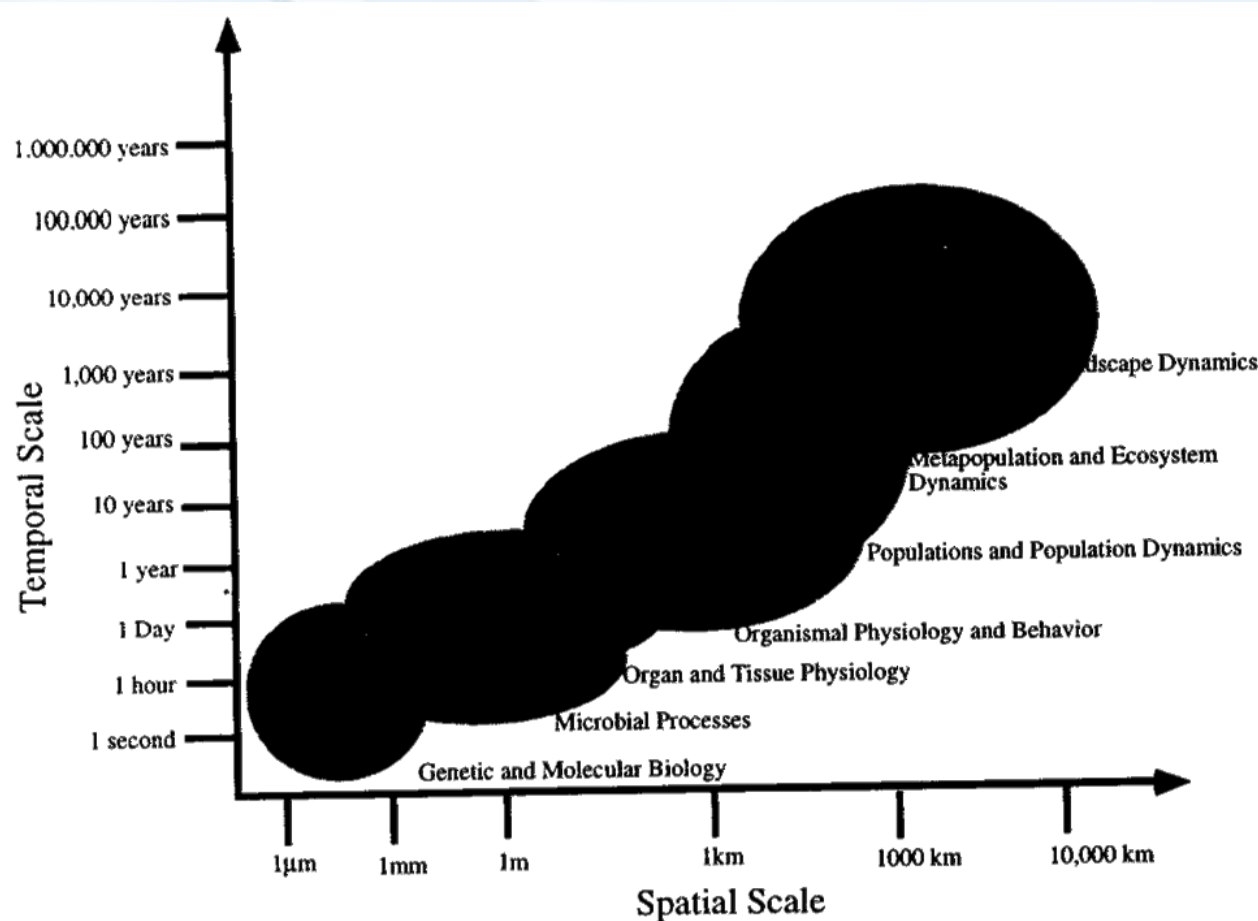
Účinky na **jednotlivce**  
(organismus)



Toxikodynamika  
(**mechanismus** působení)



## Změny na molekulární úrovni (chemické interakce) se projeví v ekosystémech



**Figure 2.3** The overlap of spatial and temporal scales in environmental toxicology. Not only are there scales in organization, but scales over space and time exist. Many molecular activities exist over short periods and volumes. Populations can exist over relatively small areas, even a few square meters for microorganisms, and thousands of square kilometers for many bird and mammal populations. Although often diagrammed as discrete, each of these levels are intimately connected and phase one into another along both the space and time scales.



# Život

## Struktura a Funkce

*... a význam v ekotoxikologii*





# Život na nejnižší úrovni: základní struktura ?

## Toxické látky reagují s biologickými makromolekulami a ovlivňují jejich funkce

Voda (H<sub>2</sub>O) – 70% hmoty – účastní se řady „toxických“ reakcí

### Hlavní biologické makromolekuly

- nukleové kyseliny
- proteiny
- fosfolipidy
- polysacharidy

*- spíše zásobní funkce: méně významné pro toxicitu*

*! U studentů se zde předpokládá, že znají základní chemickou povahu bio-molekul*

Další „malé“ molekuly, se kterými mohou toxické látky interagovat a působit tak toxicky

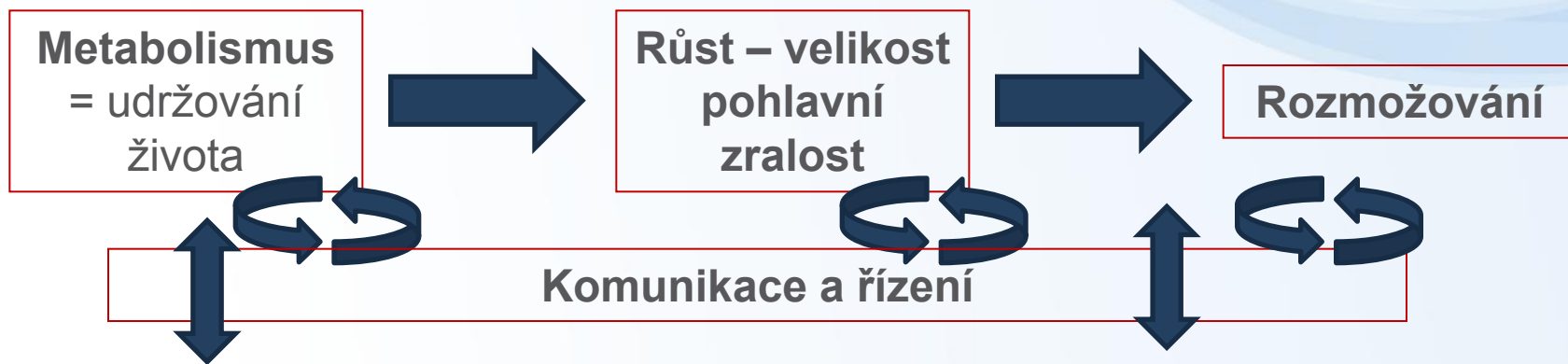
- voda ☺
- nízkomolekulární hormony a neurotransmitery (např. steroidy, dopamin)
- ochranné (protektivní) látky – glutathion (endogenní), antioxidanty (dietární)

# Živý organismus – základní funkce ?

## Základní vlastnosti živé hmoty

- Metabolismus (udržování existence za využití energie)
- Růst a pohlavní dozrání
- Rozmnožování
- Vnímavost / dráždivost a komunikace (uvnitř i s okolím)

(za normálních podmínek jsou funkce v rovnováze)



## Toxické látky (a další stresory) ovlivňují tyto hlavní funkce

- účinky na molekulární úrovni propagují → buňka → organismus... Společenstvo
- S různými důsledky pro vyšší úrovně

# Rovnováha & distribuce energie



Energie  
*hv*  
*potrava*



Ztráty  
*teplo*  
*fekálie*



Existence  
(udržování,  
*maintenance*)



Metabolismus



Řízení, kontrola,  
vnímání  
& reakce  
na podněty



Ochrana před  
patogeny,  
parazity,  
predátory



Ochrana před  
toxikanty



**Vliv  
chemické látky  
stres**

Růst,  
pohlavní  
zralost



Rozmnožování



**Chemický stres:**  
vyšší nároky / alokace energie  
→ „nedostatek“ energie jinde

Energie  
*hv*  
*potrava*



Ztráty  
*teplo*  
*fekálie*



Metabolismus



Vnitřní řízení,  
kontrola, vnímání  
& reakce  
na podněty



Ochrana před  
patogeny,  
parazity,  
predátory



Ochrana před  
toxikanty



Existence  
(udržování,  
*maintenance*)



Růst,  
pohlavní  
zralost



Rozmnožování



**Chemický stres**  
+ nedostatek  
„energetických vstupů“  
(např. potravy)

Energie  
*hv*  
*potrava*



Ztráty  
*teplo*  
*fekálie*



Existence  
(udržování,  
*maintenance*)



Metabolismus



Vnitřní řízení,  
kontrola, vnímání  
& reakce  
na podněty



Ochrana před  
patogeny,  
parazity,  
predátory



Ochrana před  
toxikanty



Růst,  
pohlavní  
zralost

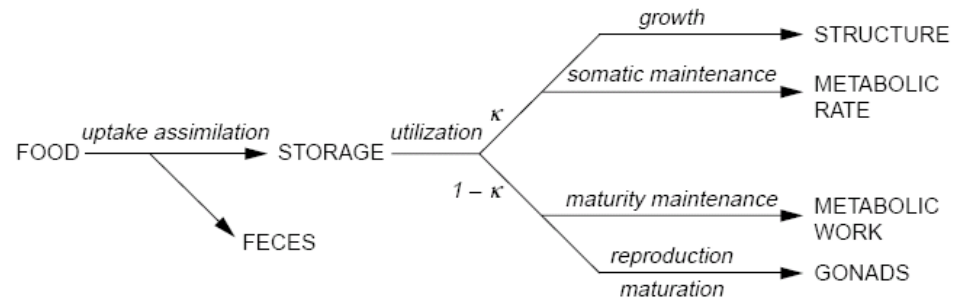


Rozmnožování



# Rozdělování energie mezi hlavní funkce organismu

- Udržování života (*délka života*)
- Růst (zvětšování vlastní hmoty)
- Rozmnožování
- Signály a jejich zpracování



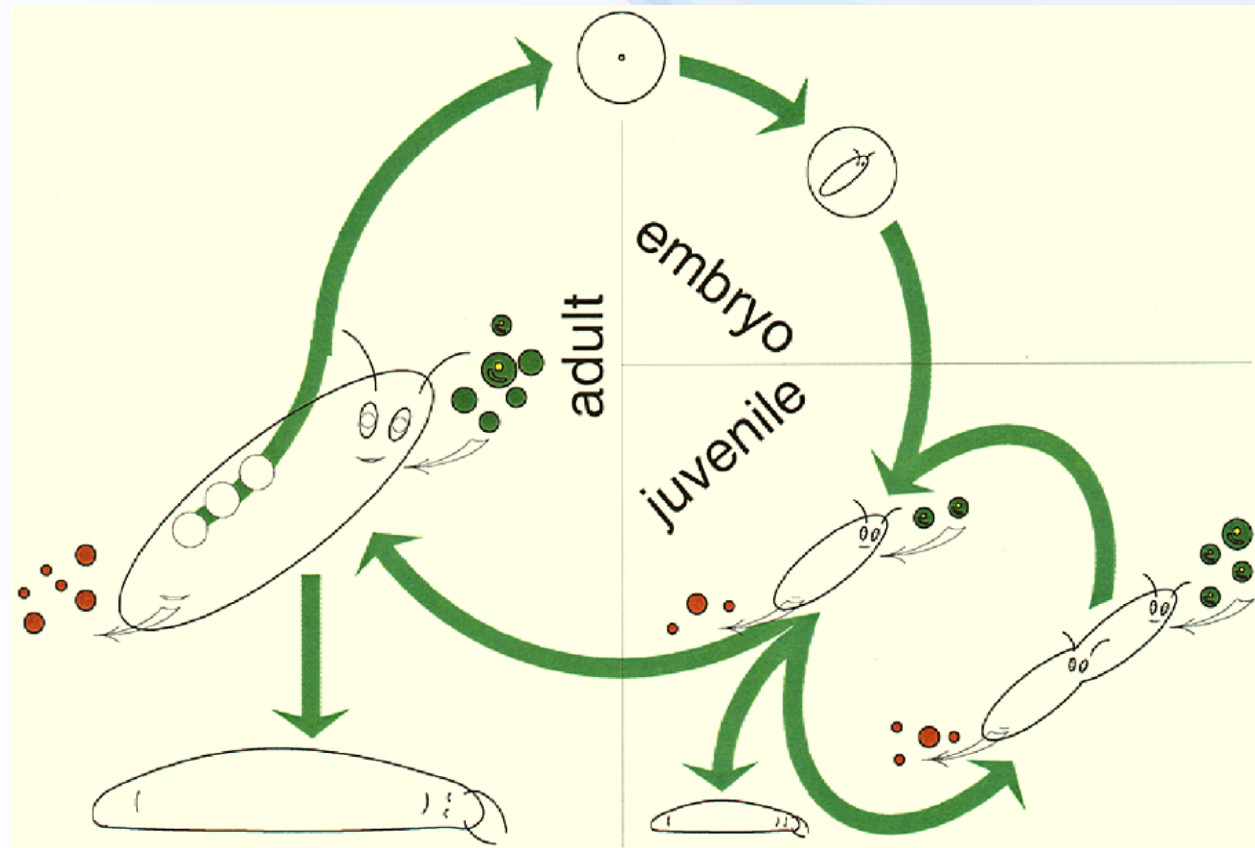
## MODELOVÁNÍ & předpovědi

## Teorie dynamických zásob energie

DEB

Dynamic Energy Budget

[www.debttox.info](http://www.debttox.info)



# Udržování rovnováhy & stres





# Homeostáza: akce/reakce

Existence živé hmoty = **udržování „rovnováhy“**

**Zobecnění – toky energie**

→ příjem energie

→ zpracování energie

: hlavní funkce živých organismů

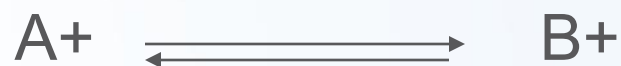
: ukládání / ztráty energie



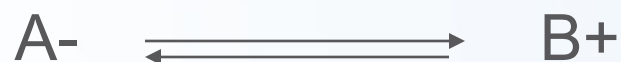
# Mechanismy udržování rovnováhy

## ZPĚTNÉ VAZBY

pozitivní = nárůst „B“ způsobuje nárůst „A“



negativní = nárůst „B“ způsobuje pokles „A“



**Podnět („akce“)** mimo hranice homeostázy (např. dlouhodobé působení „stresového faktoru“ (vč. chemických)

→ vyvolává **„reakce“**

(nutně doprovázené zvýšenou potřebou energie)

# STRES

## Definice 1

**Stav** mobilizace obraných a nápravných procesů vůči podnětům přesahujícím obvyklé rozpětí homeostázy (*na něž je obvykle dobře adaptováno*)

## Definice 2

**Odpověď (reakce)** na podněty, které vytváří abnormální podmínky; stresorem jsou např. chemické látky apod.

## Stresor

*Každý faktor/situace nutící mobilizovat vnitřní rezervy a používat abnormální výdaje energie pro udržení homeostázy*

# TEORIE STRESU – vychází z experimentů s živočichy

## Obecná teorie stresu

- 1) různé podněty vyvolávají stereotypní („nespecifické“) reakce
- 2) průběh reakce určuje velikost, trvání a frekvence podnětu
- 3) existují podstatné odlišnosti v reakcích jednotlivců stejného druhu
- 4) odolnost je geneticky fixována, ale může být individuálně změněna

*Existují analogie i v dalších úrovních biologické hierarchie*

: př. Ekosystém: Požár / smršť / havárie / imise SO<sub>x</sub> -> +/- stejná odpověď



# TEORIE STRESU – vychází z experimentů s živočichy

## Procesy dobře popsány u živočichů (platí obecně)

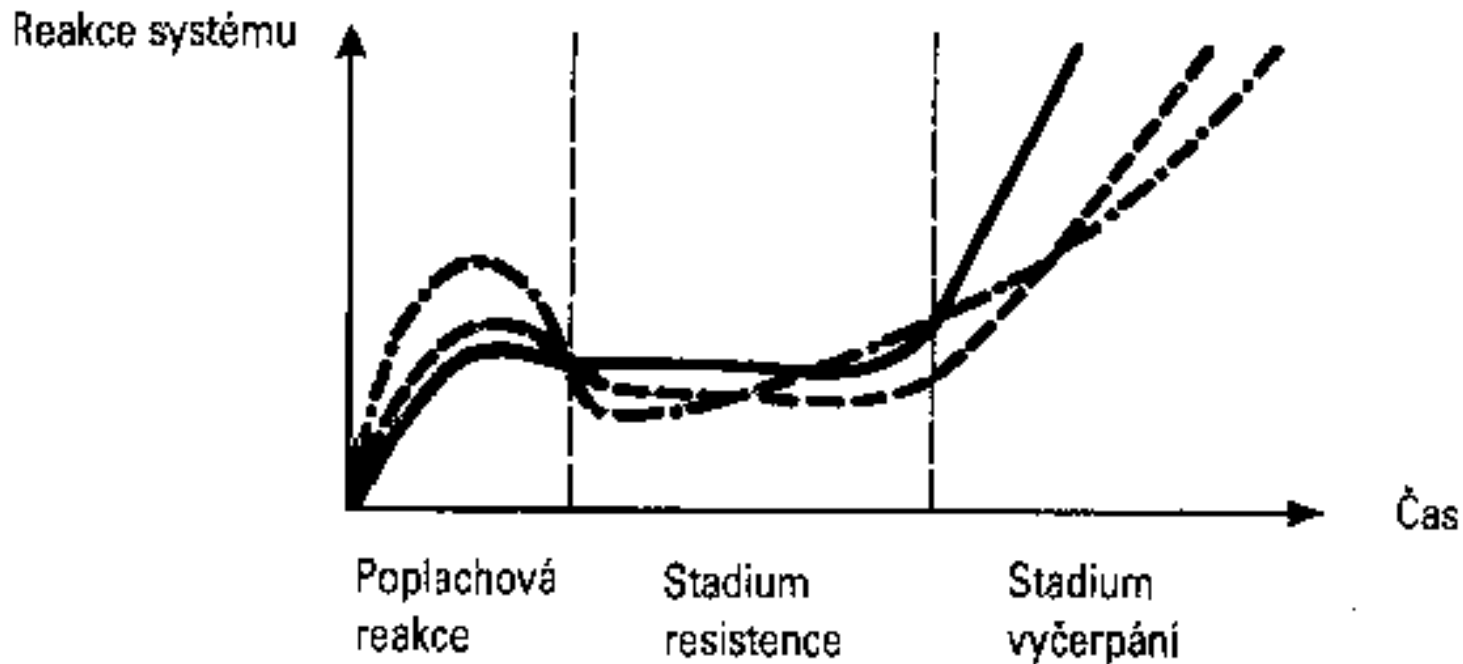
- 1) Primární stresová/záchranná reakce = příprava na obranu/útěk  
*Zvýšení koncentrace adrenalinu, zvýšení tlaku, snížení aktivity trávicího traktu*
- 2) Sekundární (dočasné) přizpůsobení – **fyziologické změny (fyziologická adaptace: ADME!)** (*změny metabolismu, zvýšení hladin detoxikačních enzymů apod.*)
- 3) Dlouhodobá adaptace = **evoluce (evoluční adaptace)**

... ale obdobné procesy platí obecně (u různých organismů a také na všech úrovních biologické organizace: buňky → společenstva)

# TEORIE STRESU

Trvalé působení stresu = kontinuální odpověď

- poplachové stadium
- stadium rezistence
- stadium vyčerpání (a/nebo evoluce)



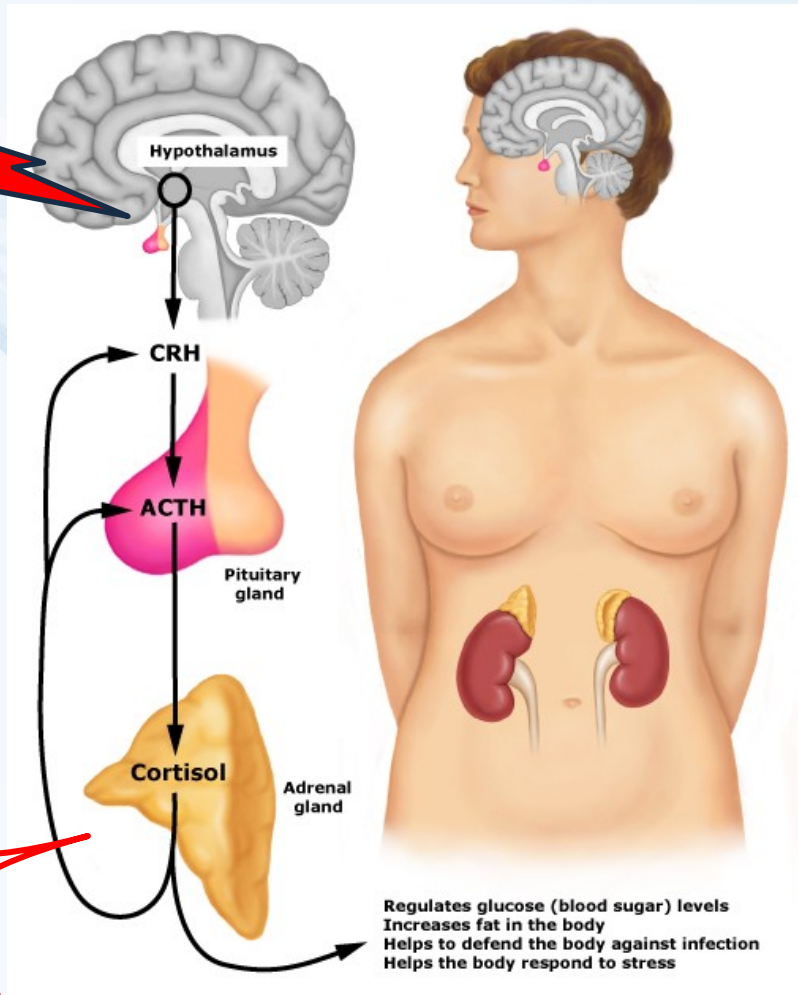
**38** Obecné schéma reagování živého systému za setrvalého působení stresoru o intenzitě, která nepřesahuje jeho rezilienci, a změny jeho odolnosti. Různé čáry vyznačují různé hypotetické varianty reakcí systému.



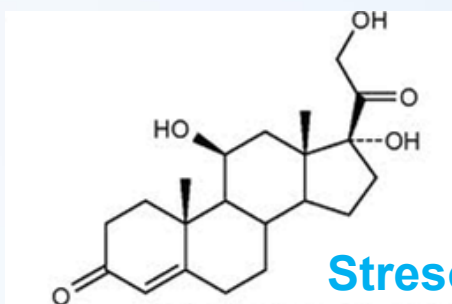
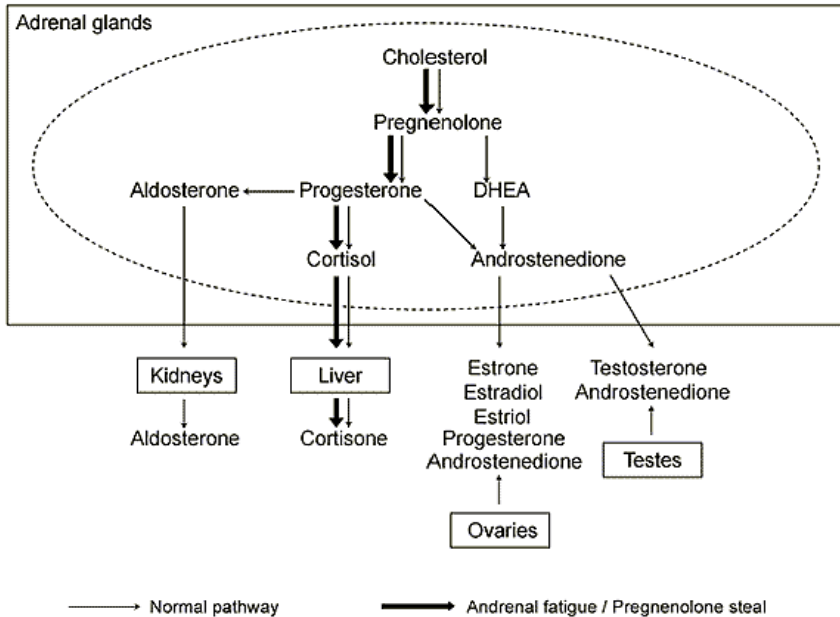
# Stres - příklad

= poplachová reakce u živočichů

- signál k útěku, mobilizace zásob energie
- Modulace / Inhibice dalších (při „útěku“ méně potřebných a významných funkcí): imunitní systém, rozmnožování apod.



## Steroid Hormone Synthesis Pathways



Stresový hormon  
**KORTIZOL**

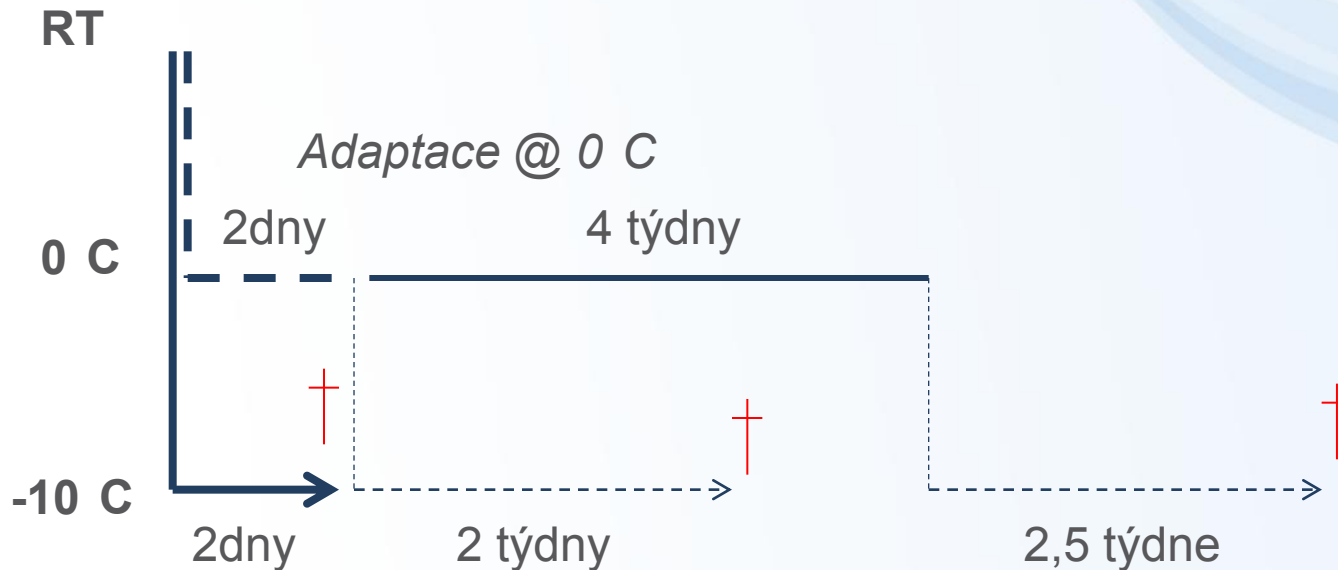
# Příklad reakce na působení stresu (stres vs energie)

Příklad - přežívání potkanů při -10 C

- Adaptace 0 C (žádná vs. 2 dny vs. 4 týdny)

(**FYZIOLOGICKÁ ADAPTACE**)

- Stále stejné dávky potravy (energie)



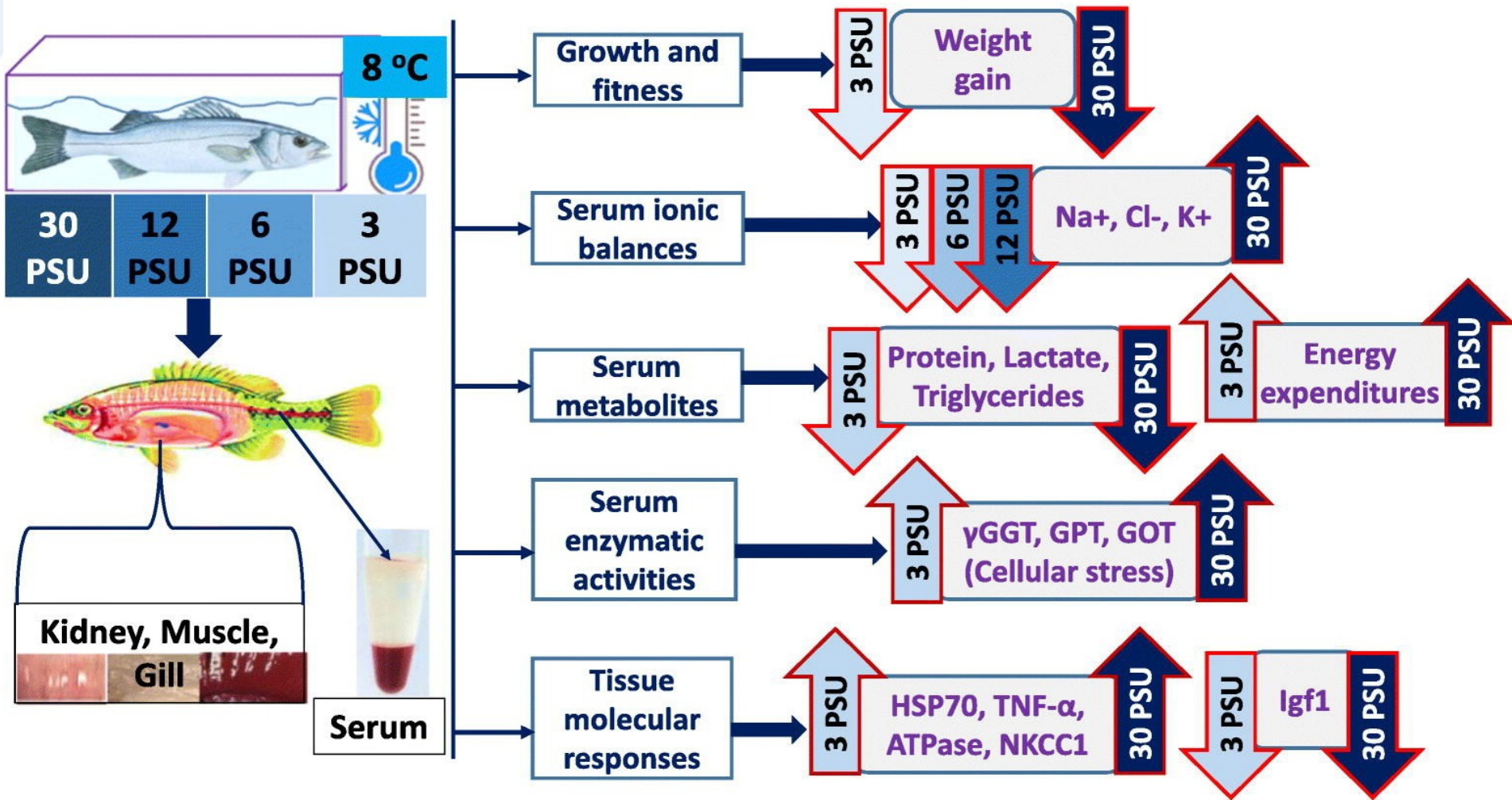
*Adaptační fáze umožnila (dočasně) delší přežití,  
ale současně vyšší spotřeba dodávané energie → uhynutí*



Extreme winter cold-induced osmoregulatory, metabolic, and physiological responses in European seabass (*Dicentrarchus labrax*) acclimatized at different salinities

Md Jakiul Islam <sup>a, b, c, R</sup>, Andreas Kunzmann <sup>a</sup>, Matthew James Slater <sup>b</sup>

## Climate Change Induced Cold Adaptation in Aquaculture



# Adaptace - evoluční

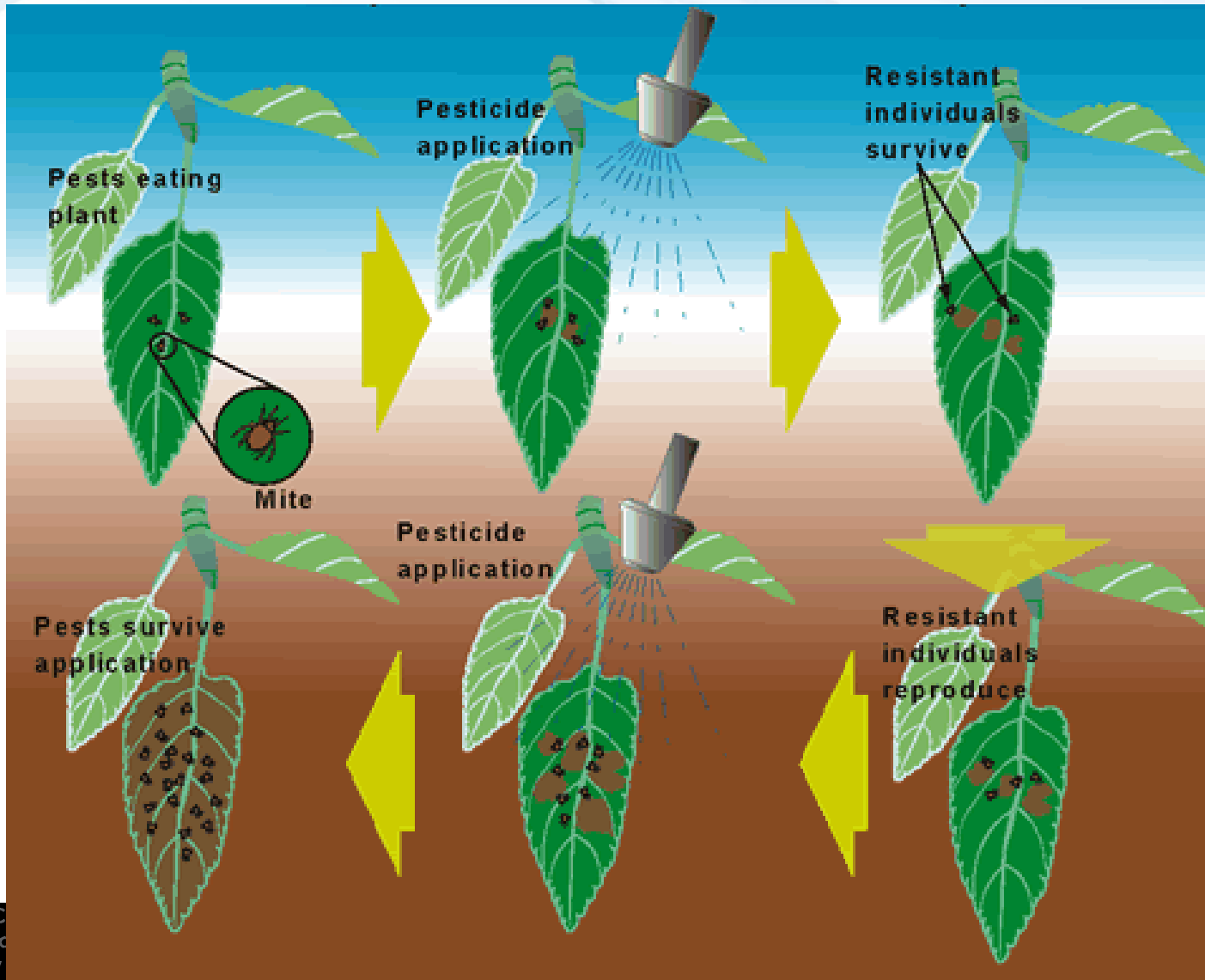


## Evoluční adaptace a její podstata

- Adaptace je **evoluční proces**, ve kterém se organismus (resp. DRUH) přizpůsobuje vnějším podmínkám a dalším faktorům (včetně chemického stresu), které panují v areálu jeho výskytu.
- Přizpůsobování probíhá procesem **přírozeného výběru** (na úrovni jedinců → populací)
  - vznikají „účelné“ vlastnosti
- Přírozený výběr selektuje **ze všech náhodně vznikajících mutací** ty, které jsou výhodné a užitečné za daných vnějších podmínek

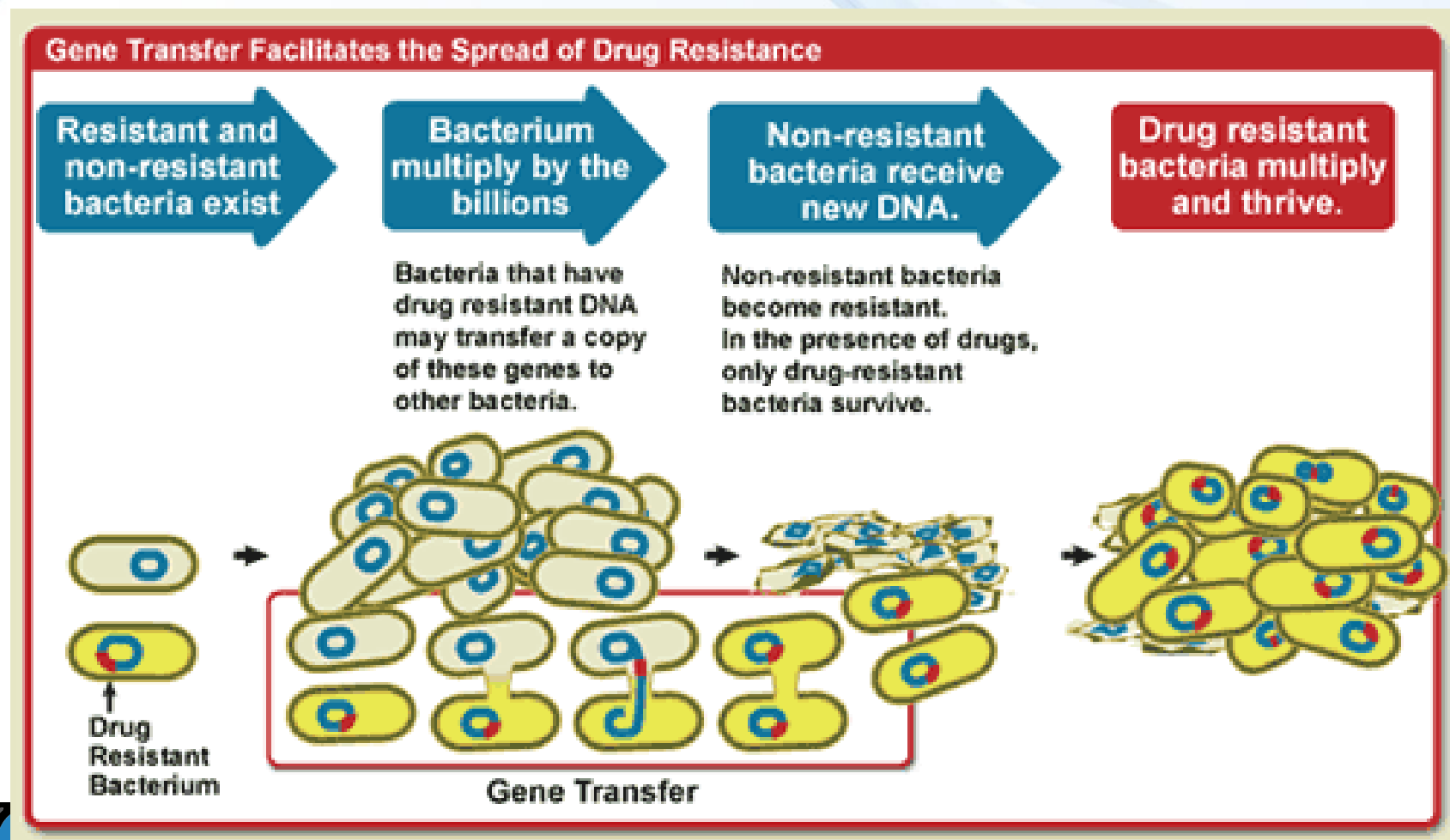


# Příklad evoluční adaptace: selekce populací roztočů rezistentních na pesticidy



## Příklad evoluční adaptace: vznik bakterií rezistentních na antibiotika

ATB: nemocnice → prostředí: další šíření „mutací“ (i horizontální transfer genů)  
ATB přímo v prostředí → rezistentní kmeny v sedimentech, na ČOV atd.

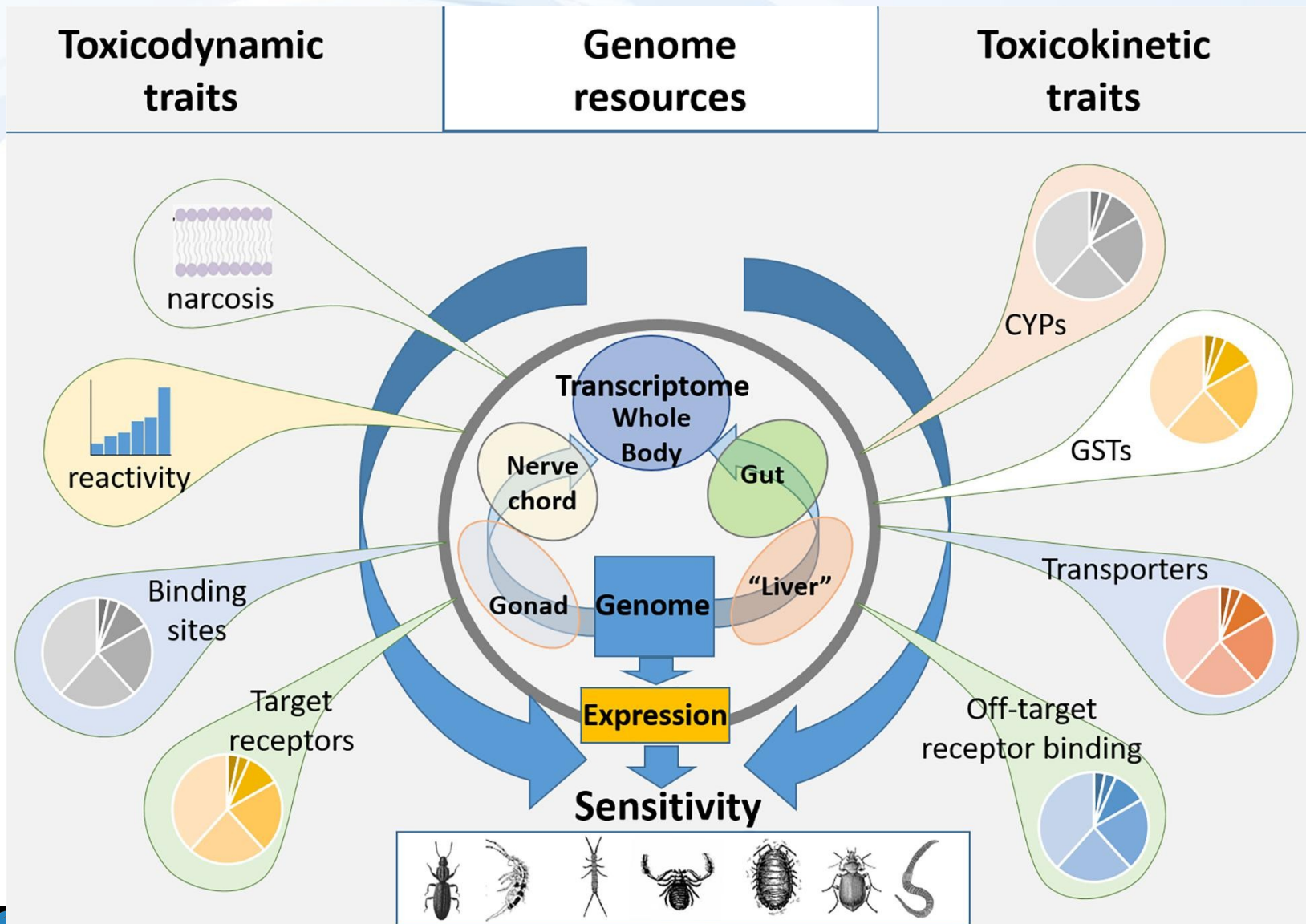


# Jaké parametry určují toxické projevy?

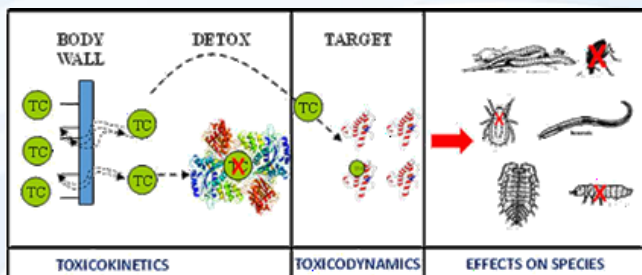
(kombinace vlivu genomu, TK, TD)



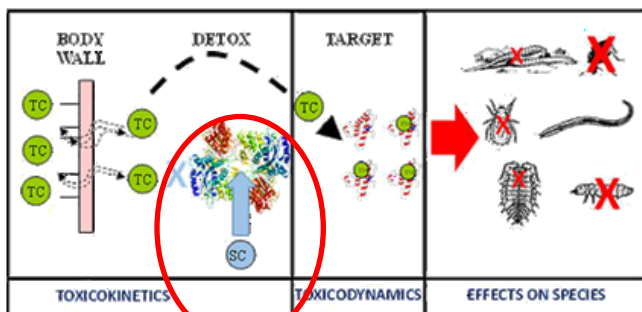
# Vlastnosti ovlivňující výslednou toxicitu (citlivost organismu / druhu) - genetické, TK a TD vlastnosti (traits)



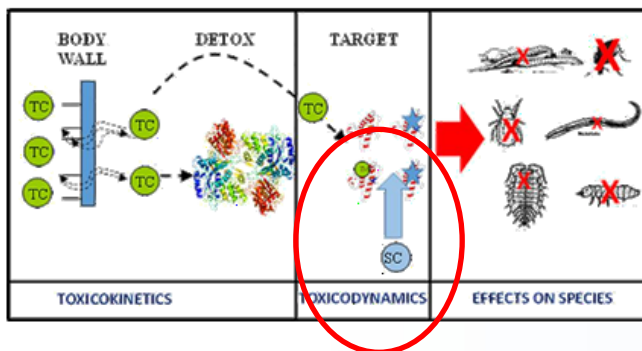
# Parametry ovlivňující výslednou toxicitu (resp. citlivost konkrétního organismu / druhu)



**A** Toxicity results from a combination of toxicokinetics (uptake) and toxicodynamics (target site interactions)



**B** Synergism can occur if one chemical changes the toxicokinetics of another chemical (e.g. block phase I, II and III metabolism so more gets to target site)



**C** Synergism can occur if one chemical changes the toxicodynamics of another (e.g. changes the structure of the target to allow better interaction) again leading to greater effects

*Analogicky vzniká  
ANTAGONISTICKÉ  
působení (viz také  
dále)*

**Figure 4.** (A) Schematic representing the role of TK and TD traits in toxicity, following uptake the chemical may be detoxified by different enzymes or may escape detoxification to bind with the biological target, (B) interactive mixture effects (e.g., synergism can occur if one chemical changes the toxicokinetics of another chemical (e.g., block detoxification so more gets to target site) leading to greater effects on exposed species or (C) when one chemical changes the TD of another (e.g., changes the structure of the target to allow better interaction) again leading to greater effects.



# **Chemické látky (akce) vs. odpovědi živých systémů (reakce: účinky)**

## **- PŘEHLED -**

(detaily budou diskutovány v dalších přednáškách)



# Hierarchie biologických systémů vs. ekotoxicita

Efekty toxikantů (akce)

a odpovědi na různých úrovních organismu (reakce)

na všech úrovních **reparace/adaptace**

**molekulární**

- vazba na DNA, změna struktury, aktivace „inaktivních proteinů“

**buněčná**

- změna profilu proteinů produkovaných buňkou (*nové, mutace*)

**orgánová**

- změna fyziologie (*koncentrace hormonů, tlak krve*)

**organismální**

- změny chování/zdraví, změny reprodukce, růstu -> smrt

**populace**

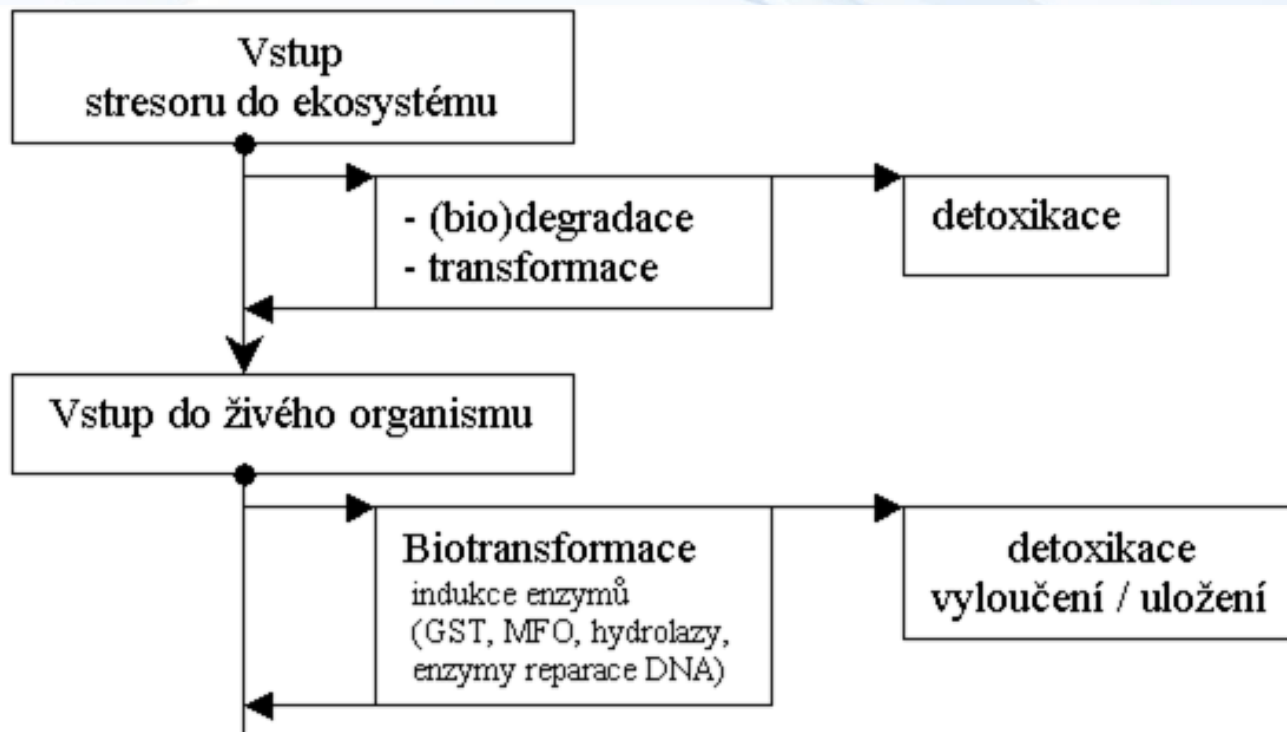
- změny demografie (staří > mladí)

**společenstvo**

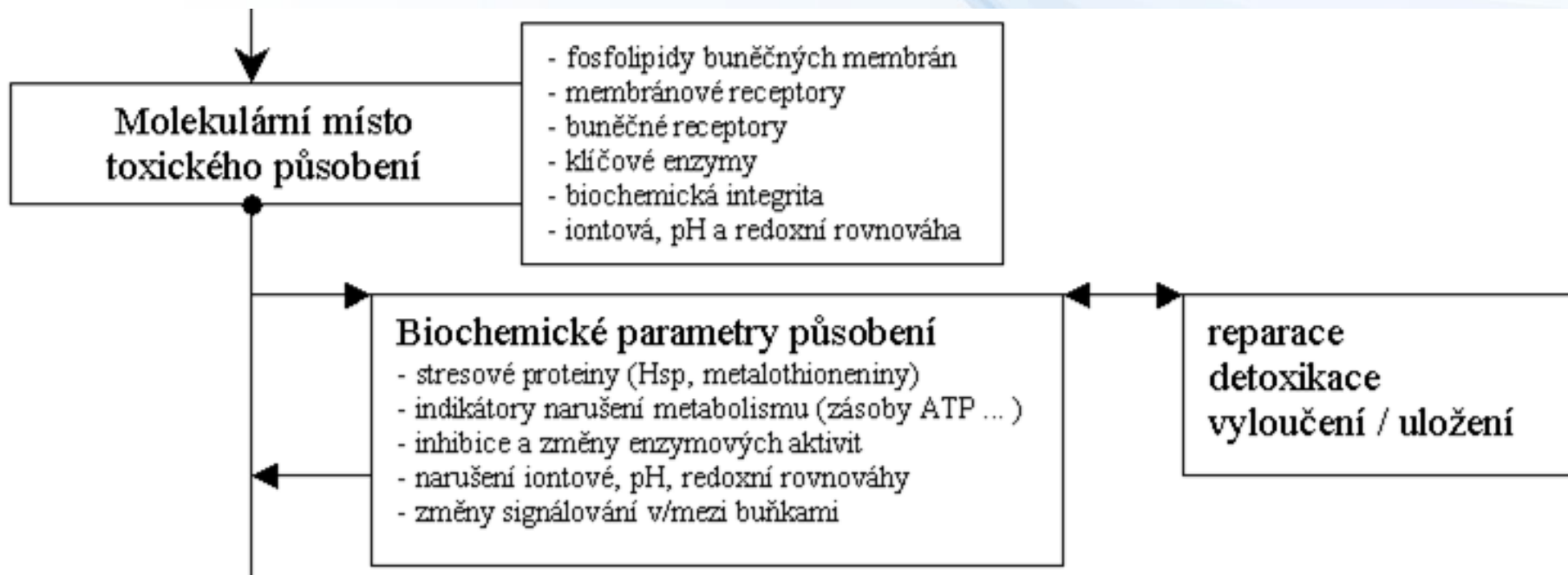
- vymizení druhu



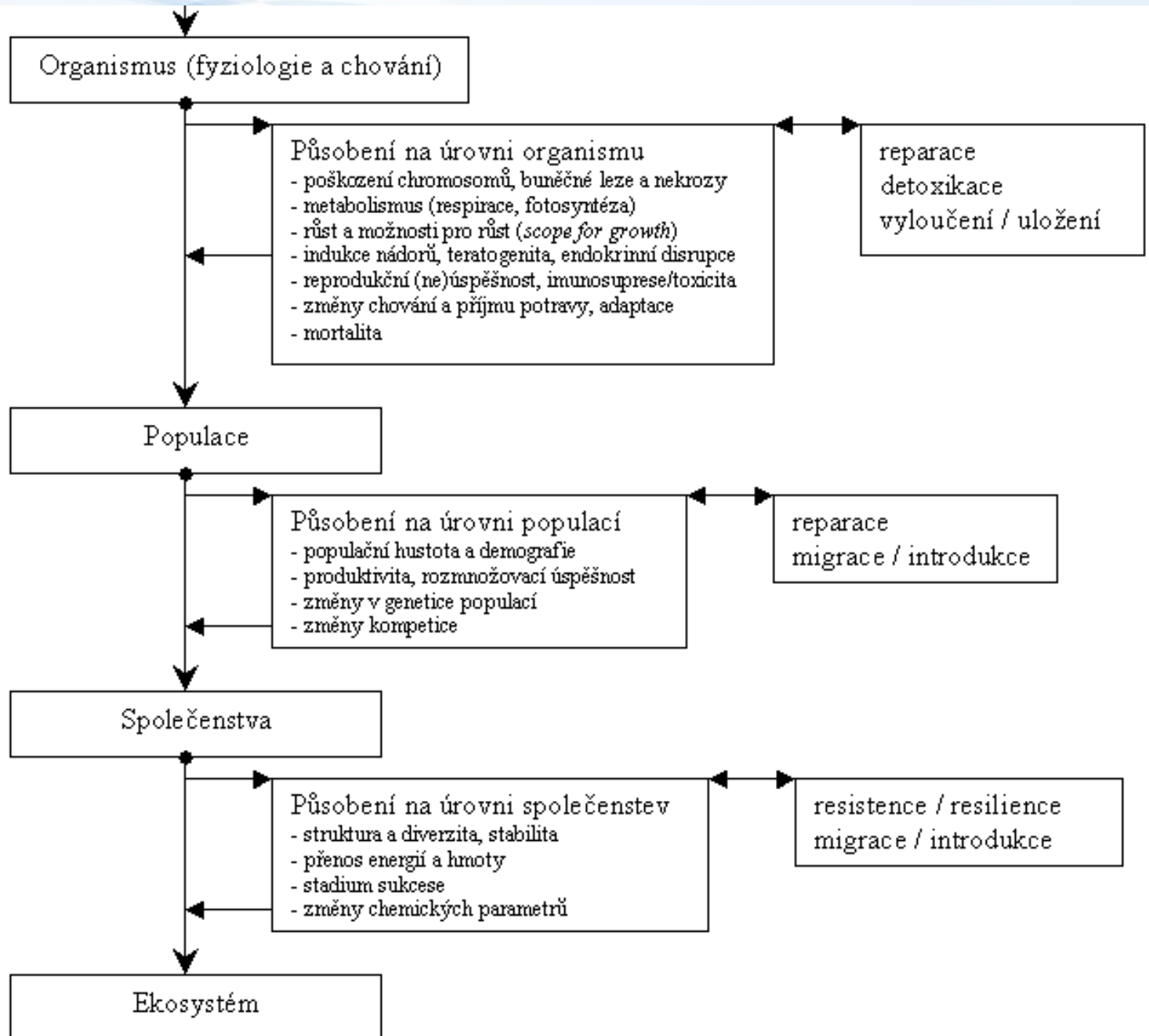
## REPARACE / ADAPTACE v různých stupních osudu/účinků látky (1/3)



# REPARACE / ADAPTACE v různých stupních osudu/účinků látky (2/3)



# REPARACE / ADAPTACE v různých stupních osudu/účinků látky (3/3)



# Otázky

Co je to buňka? druh? populace? Společenstvo? atp.

U rybníku Brčálníku žije populace skokana hnědého. Uveďte z jakých rozdílných jedinců (jaké mezi nimi byli rozdíly?) byla tato populace tvořena v červnu 2012? Z jakých jedinců pak v listopadu 2012?

Popište chemickou podstatu nukleových kyselin? Bílkovin? Fosfolipidů? Co je základním stavebním prvkem každé z těchto makromolekul? Jak v organismech (v buňce) vznikají? Jaké mají funkce?

Jaké jsou hlavní funkce živých organismů? Jak budou tyto funkce ovlivněny u ryb, která bude dlouhodobě vystavena vlivu polycyklických aromatických uhlovodíků (např. Benzo[a]pyren)?

Popište a zdůvodněte hlavní fáze vzniku stresu, vysvětlete význam (a rozdíly) v transformacích energie ve stádiu rovnováhy a dlouhodobého stresu.

Popište jak mohou látky přímo a nepřímo ovlivňovat správné funkce imunitního systému

Vysvětlete pojem „adaptace“ na působení chemické látky. Co je fyziologická adaptace? Co je evoluční adaptace?

Co je to evoluce? Jaký je význam evoluce při dlouhodobém působení chemického stresu? Popište molekulární podstatu evolučních změn. Uveďte alespoň dva příklady chemikáliemi-indukované evoluce?

