

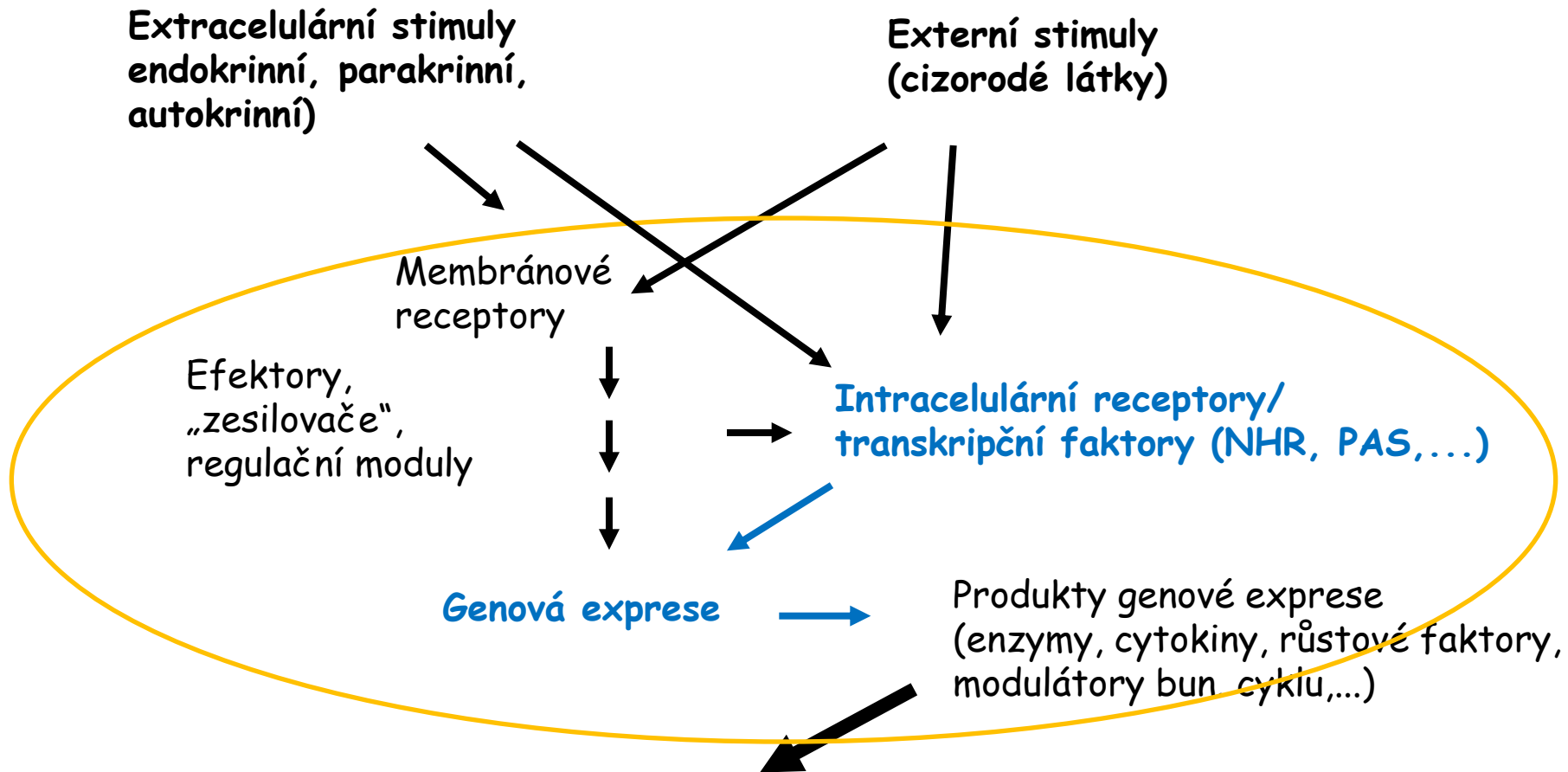
Xenobiochemie - úvod

Kontakt: Dr. Miroslav Machala, CSc.
Výzkumný ústav veterinárního lékařství,
Hudcova 70
Brno

machala@vri.cz



Fyziologické aj. funkce (homeostáze, vývoj, diferenciacie, rozmnožování etc.) jsou založeny na KOMUNIKACI - na stovkách různých signálních drah. Jak endogenní signály, tak cizorodé látky (dietární, farmaka, environmentální cizorodé látky) ovlivňují komunikaci a tím regulace v buňkách:



Metabolismus endogenních a cizorodých látek
Buněčný cyklus, proliferace / buněčná smrt, diferenciacie, senescence

Principy metabolické regulace - cíle modulace cizorodými látkami

- **indukce/suprese biosyntézy enzymů** (mRNA, protein, aktivita), aktivace, inhibice, fosforylace / defosforylace, stabilizace a degradace proteinů;
- hormony, růstové faktory a další cytokiny, neurotransmitery, buněčná interkomunikace (endokrinní, parakrinní, autokrinní signály; „cell-to-cell communication“ = gap junction, tight junction; adheze); funkce povrchových bun. receptorů, Na⁺/K⁺, Ca²⁺ pumpy);
- **intracelulární signální transdukce** (proteinkinázy, fosfatázy, lipázy), „2nd messengers“ (lipidní signální molekuly jako kys. arachidonová, ceramid; Ca²⁺; eikosanoidy a enzymy kaskády kyseliny arachidonové - PLA₂, LOX, COX, CYP), **intracelulární receptory** (po aktivaci transkripční faktory - AhR, ER, a další ze steroidní „superrodiny“ receptorů,;
- modulace regulátorů buněčného cyklu; proliferace, diferenciacce, apoptóza, nekróza aj. typy buněčné smrti

Principy modulaace cizorodými látkami

- XENOBIOTIKA OVLIVŇUJÍ REGULACI BUNĚČNÝCH, BIOCHEMICKÝCH A MOLEKULÁRNĚ BIOLOGICKÝCH PROCESŮ
- JEDNOTLIVÉ CIZORODÉ LÁTKY PŮSOBÍ ŘADOU MECHANISMŮ TOXICITY
- REÁLNÁ EXPOZICE VŽDY VELMI KOMPLEXNÍ SMĚSÍ DIETÁRNÍHO, ENVIRONMENTÁLNÍHO EVENT. MEDICÍNSKÉHO PŮVODU

Úvod - jednotlivé třídy cizorodých látek

PŘÍRODNÍ LÁTKY

- biogenní aminy, heterocyklické aminy, alkaloidy, peptidy, polyfenoly, přírodní barviva, terpenoidy;
- bakteriální toxiny, toxiny sinic, mykotoxiny aj.

ANTROPOGENNÍ LÁTKY

- průmyslové kontaminanty (PCDD/Fs, PCB, PAHs, ftaláty, detergenty), pesticidy (herbicidy, insekticidy), anorganické polutanty;
- aditiva v potravinách, xenobiotika vzniklá úpravou a skladováním potravin (heterocyklické aminy, biogenní aminy);
- farmaka a jejich rezidua

Přehled xenobiotik, které moduluji fyziologické, celulární, biochemické a molekulárně biologické procesy

KLASIFIKACE CIZORODÝCH LÁTEK PODLE PŮVODU:

- přírodní látky (peptidy, biogenní aminy, alkaloidy, polyfenoly, xanthofyly aj. barviva, terpenoidy, bakteriální toxiny, mykotoxiny);
- syntetická farmaka (farmaka vegetativního nervového systému, např. β -blokátory nebo inhibitory AChE, analgetika, cytostatika atd.);
- průmyslově produkováné cizorodé látky (pesticidy, PCB, ftaláty, detergenty);
- průmyslové kontaminanty prostředí (dioxiny, PAH)
- anorganické látky (kovy, oxidy kovů, oxidy dusíku, dusičnany a dusitany aj.)

KLASIFIKACE PODLE ÚČINKU:

- genotoxiny, tumorové promotery, chemické karcinogeny;
- endokrinní disruptory;
- neurotoxické látky (inhibitory AChE, Ca^{2+} , dopamin aj.);
- imunomodulační látky;
- chemoprotektivní látky (antioxidanty, inhibitory enzymů signální transdukce, inhibitory CYP atd.)

Expozice a metabolismus xenobiotik

- farmakokinetika, příjem a vylučování xenobiotik;
- základní reakce metabolismu cizorodých látek (oxidace, redukce, hydrolýza, štěpení aromatických jader, cyklizace, konjugační reakce); **1., 2., 3. fáze biotransformace:**
- **monooxygenázy** (cytochromy P450 (CYP), flavinmonooxygenázy, reakční mechanismy); metody studia CYP enzymů, evoluce a polymorfismus CYP, klasifikace CYP enzymů a mezidruhové rozdíly v substrátové specifitě; význam CYP ve farmakologii, toxikologii a ekotoxikologii; **reduktázy, esterázy**
- UDP-glukuronyltransferázy, glutathion-S-transferázy a další **konjugační enzymy** (sulfatace, acetylace, methylace, tvorba kyseliny merkapturové);
- „multidrug resistance“ systémy (= **ABC transportéry**)

Hlavní mechanismy toxicity xenobiotik

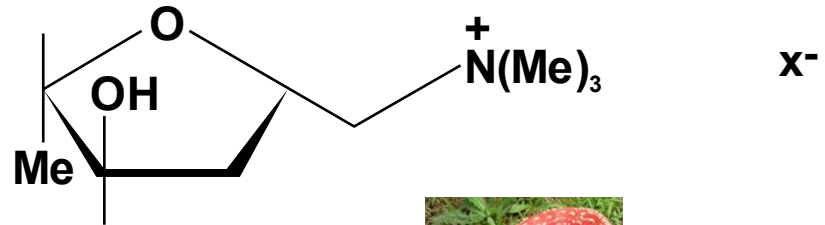
- genotoxicita - metabolická aktivace promutagenů, vznik aduktů DNA; chromosomální aberace;
- Ah receptorem-mediovaná „dioxinová“ toxicita;
- oxidativní stres: reaktivní formy kyslíku, redoxní cyklování semichinonů, ...; efekty: peroxidace lipidů, oxidativní poškození DNA, proteinů a cytoskeletonu);
- další receptor-dependentní mechanismy toxicity (peroxisomální proliferace, endokrinní disruptory - estrogény, androgeny aj.);
- inhibice mitochondriálních funkcí, apoptotické procesy;
- hlavní mechanismy neurotoxicity a imunotoxicity (Ca^{2+} , AChE, apoptóza);
- poruchy metabolismu endogenních látek po expozici xenobiotiky (např. „obesogeny“).

Chemická karcinogeneze, cytostatika, chemoprotektivní látky

- iniciace (genotoxické efekty), promoce karcinogeneze, biomarkery karcinomů;
- cytostatika - mechanismy účinku (antimetabolity aj. inhibitory syntézy nukleových kyselin, poškození DNA, inhibitory proteosyntézy, protinádorové účinky hormonů a jejich analogů);
- další xenobiotika ve výzkumu a léčbě rakoviny (inhibitory signální transdukce, induktory diferenciaci a apoptózy, modulátory buněčného cyklu, inhibitory aromatázy, inhibitory získané resistance buněk, supresory imunity, chemosensibilizátory aj.);
- chemoprotektivní látky (inhibitory enzymů metabolické aktivace, antioxidanty aj.).

Přírodní látky odvozené z biogenních aminů

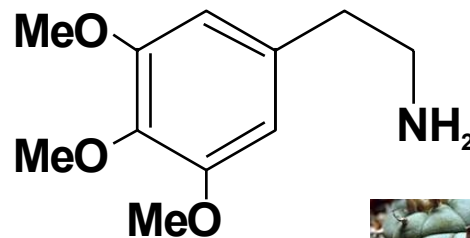
Muskarinové
cholinergní
receptory
(působí na
G proteiny...)



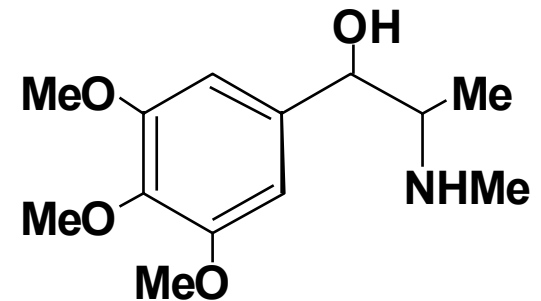
muskarin



interference
s neurotransmitery
- se serotoninem
a adrenalinem
(„psychomime-
tika“)



meskalin

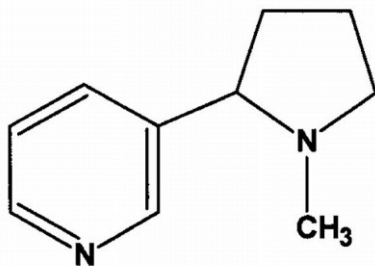


D(-)efedrin
(redukcí OH: pervitin)

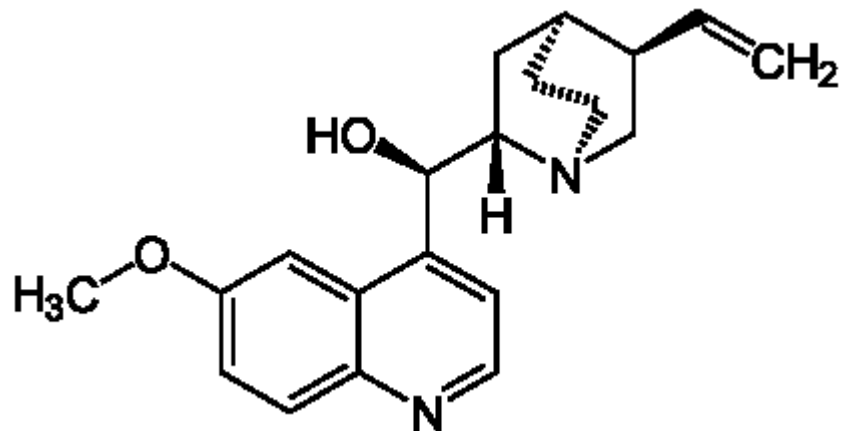
adrenergní
receptory



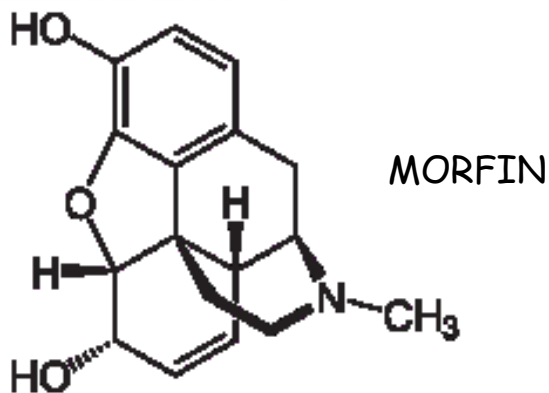
Alkaloidy



NIKOTIN



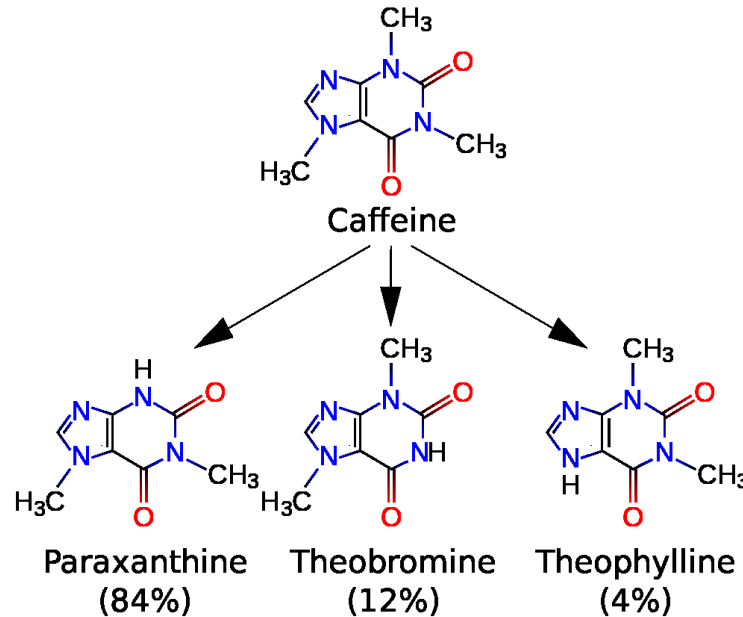
CHININ



MORFIN

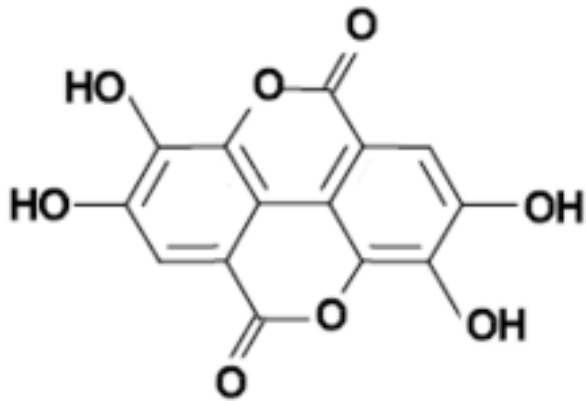
- nikotin - nikotinové (cholinergní) receptory v gangliích
- morfin - opioidní receptory (analgetický a euforický efekt)

Alkaloidy: xanthiny

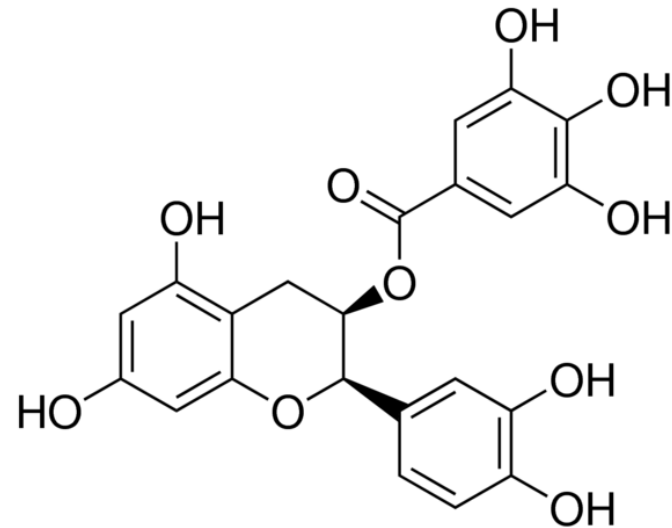


- antagonisté adenosinového receptoru (brání účinku adenosinu, který vyvolává spánek)
- inhibice fosfodiesterázy (zabrání hydrolýze cAMP - stimulace cAMP-dependentních kináz - regulace glykogenu, metabolismu cukrů a lipidů, zvýšené uvolňování katecholaminů (noradrenalinu a dopaminu) - mírná stimulace CNS a kardiovaskulárního systému)

Polyfenoly



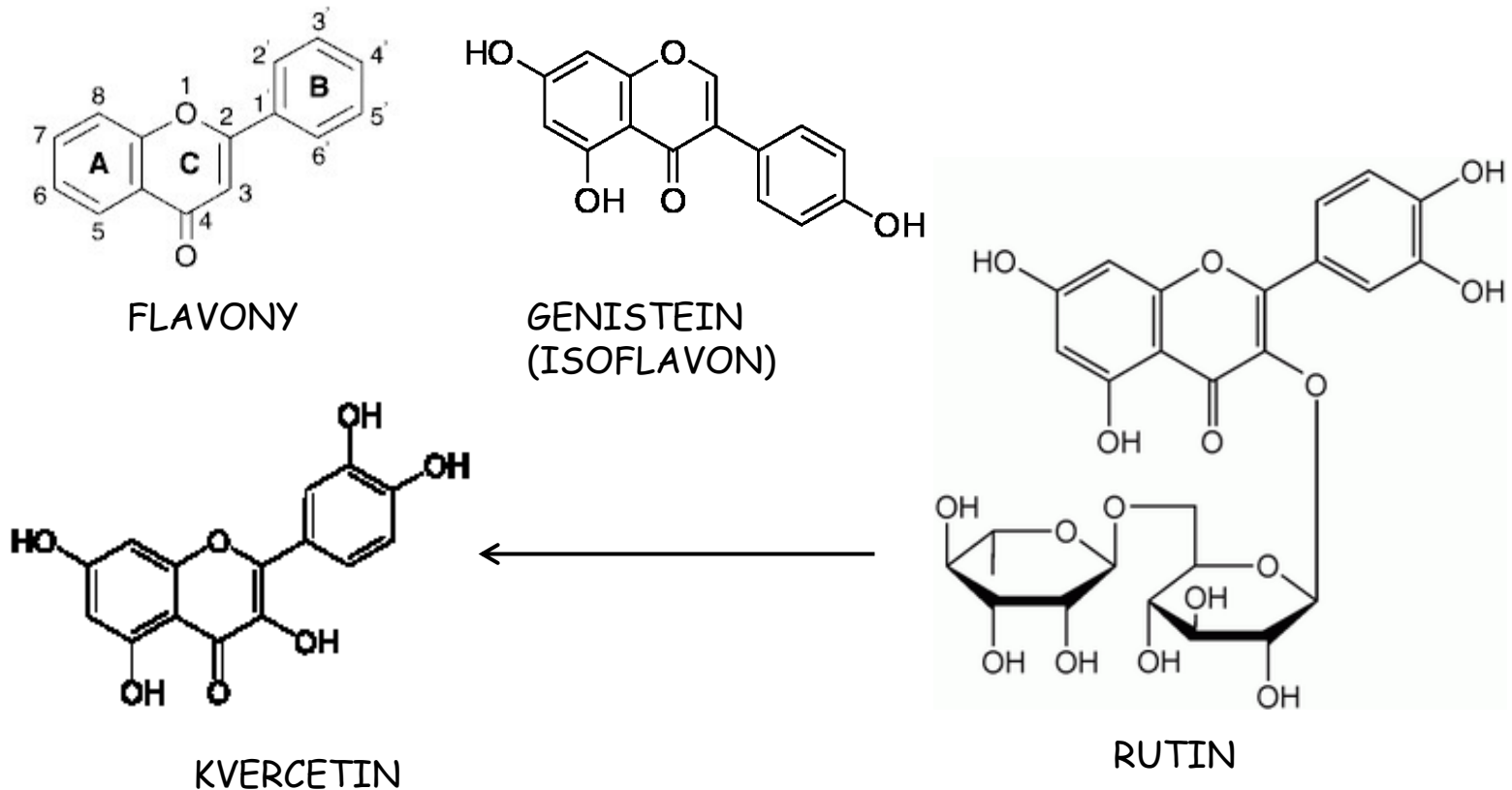
KYSELINA ELLAGOVÁ



EPIGALLOCATECHINGALLATE

- kys. elagová - příklad polyfenolických antioxidantů
- EGCG - hlavně v zeleném a bílém čaji

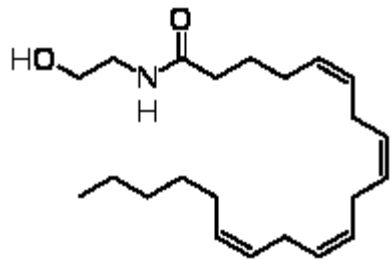
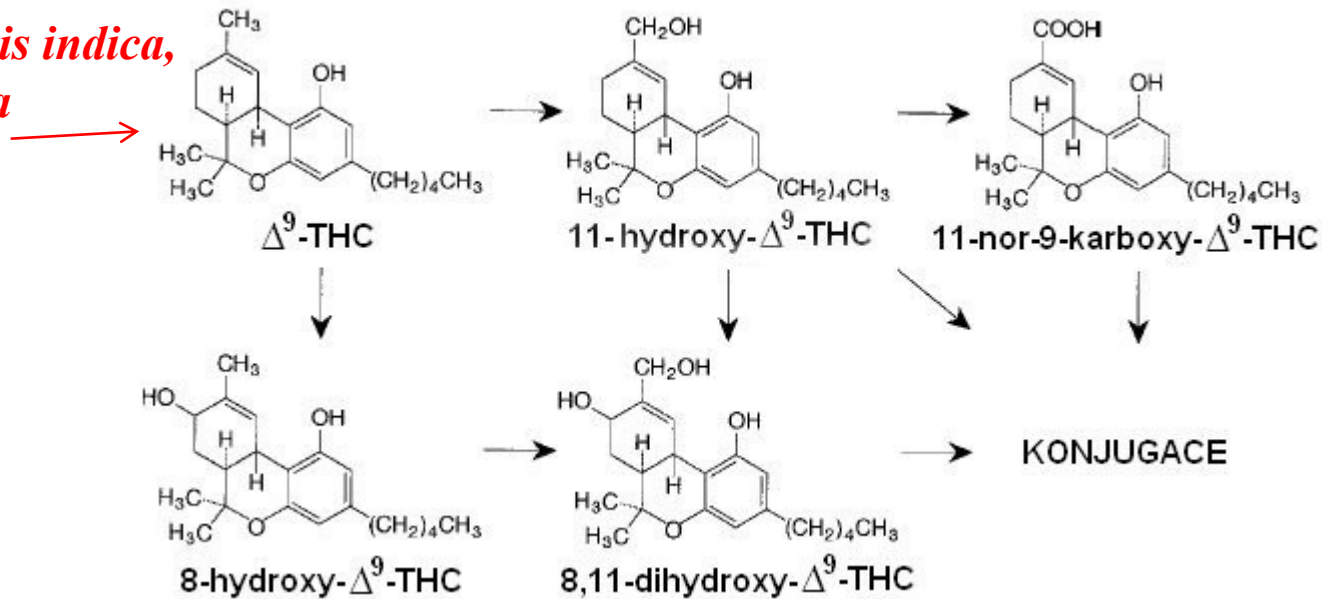
Polyfenoly: flavonoidy



- Chem. struktura: flavony, isoflavony, flavanony
- Zástupce fytoestrogenů - genistein (sója)
- Flavonoidy - antioxidanty, inhibitory MAPK, (anti)estrogeny
- Flavonoidy v přírodním stavu obsahují cukernou složku (rutin)

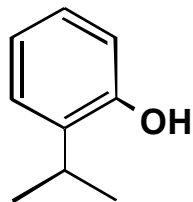
Tetrahydrocannabinol (THC)

Cannabis indica,
C. sativa

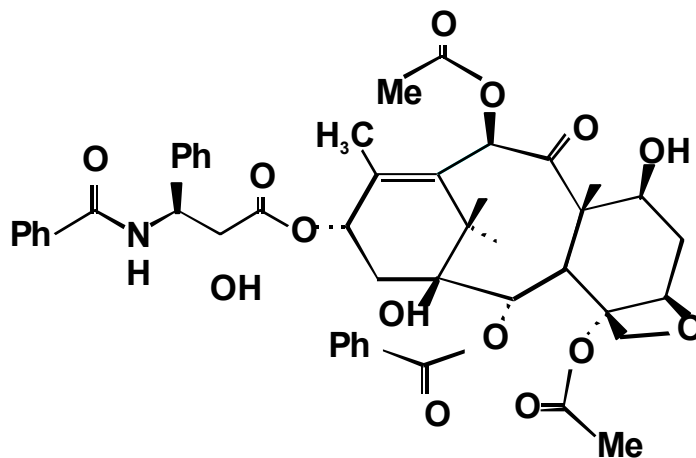


anandamide (endogenous cannabinoid neurotransmitter)

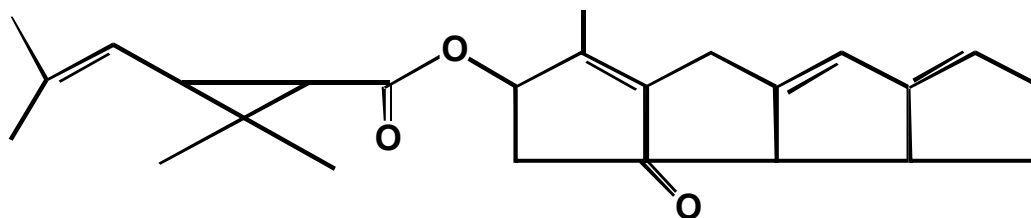
Terpenoidy: vonné látky, léčiva, přír. pesticidy



Mentol

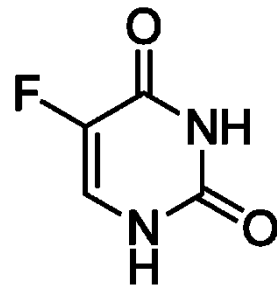
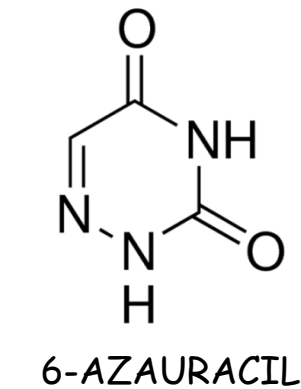


Taxol

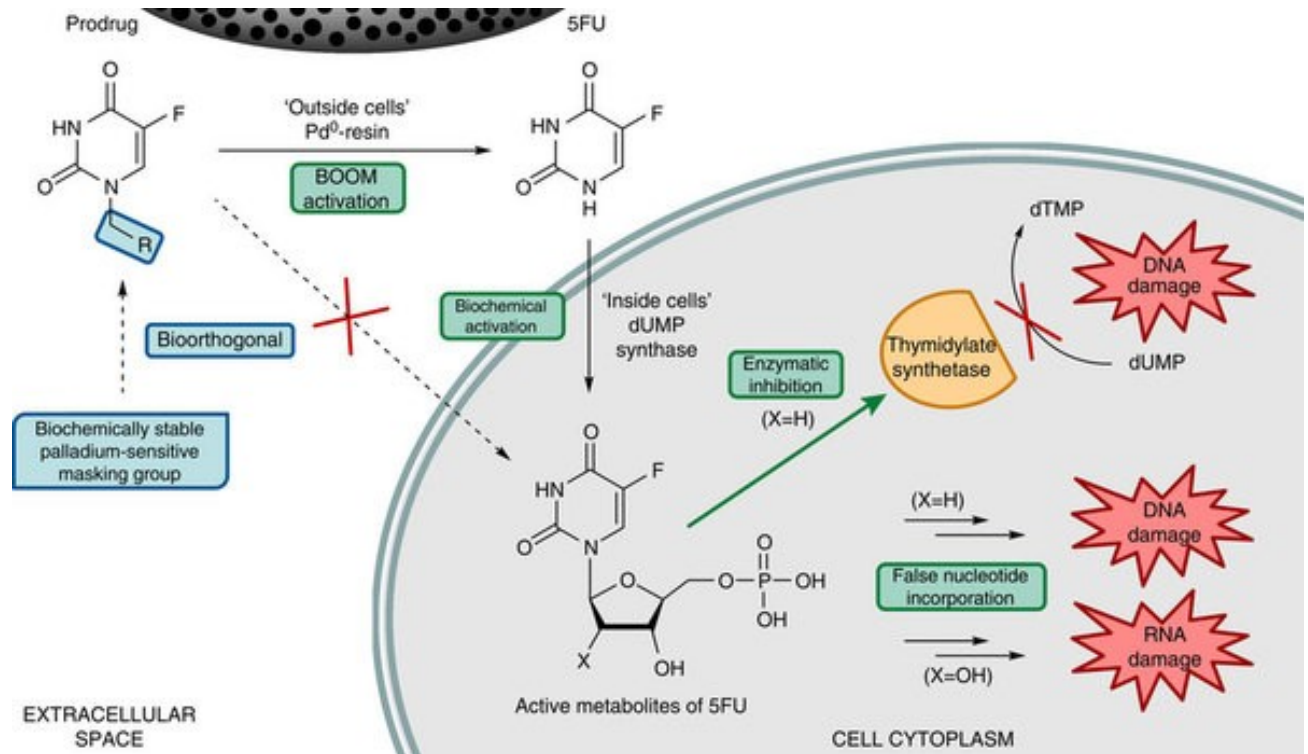


Pyrethriny

Příklady farmak: cytostatika



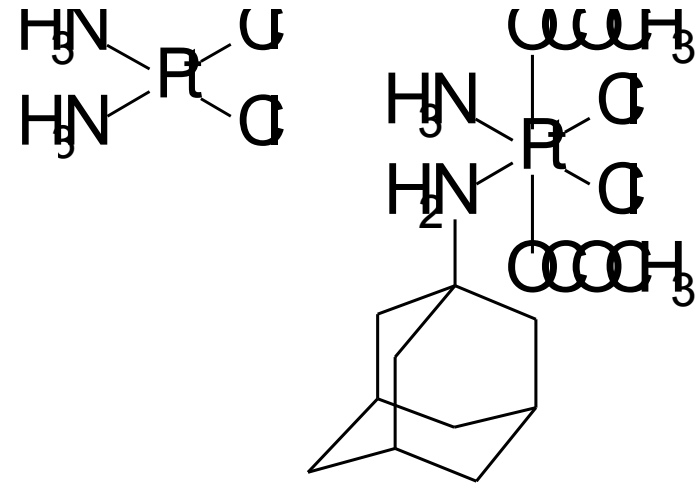
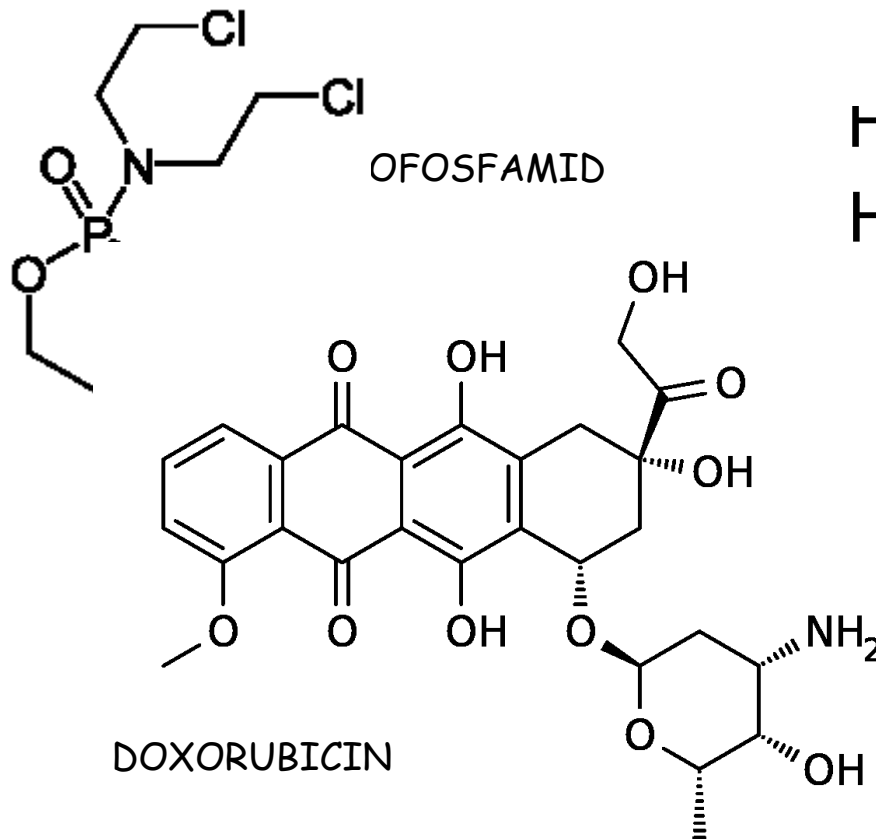
Mechanismy účinku 5-FU



5-FLUOROURACIL

- cytostatika - řada mechanismů účinku; př. „antimetabolitů“ (azapyrimidinů) - inhibice syntézy DNA, chybná inkorporace do RNA - užití tam, kde převládají rychle proliferující buněčné populace

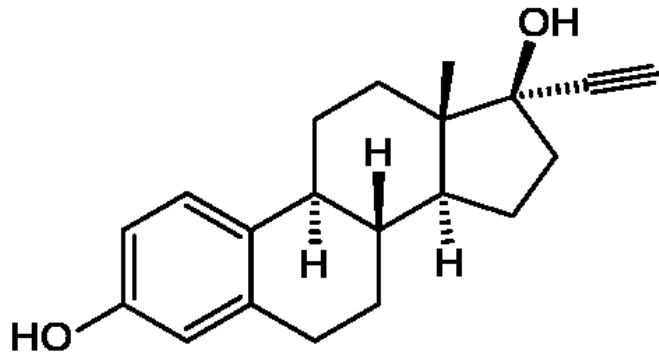
Příklady farmak: cytostatika



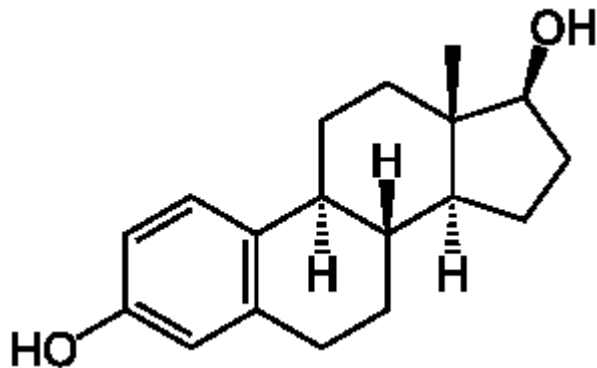
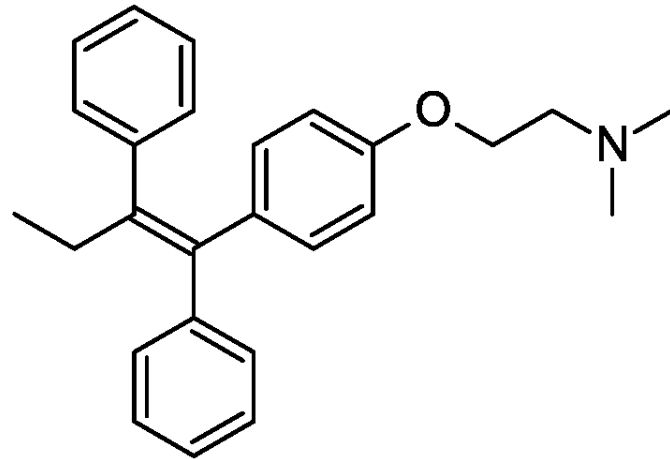
Deriváty CISPLATINY

- Cytostatikum ukazuje guaninovou bázi; aktivní je až 4-OH-metabolit; využití v experim. výzkumu (blokuje biosyntézu)
- Cisplatin - kovalentní vazba s puriny; různá účinnost a cytotox. derivátů
- Doxorubicin - blokuje topoisomerasu 2; oxidativní stres.

Estrogeny / antiestrogeny



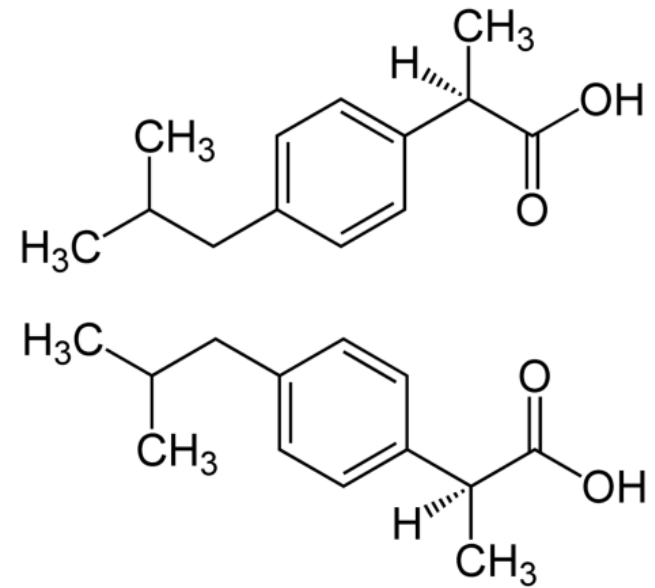
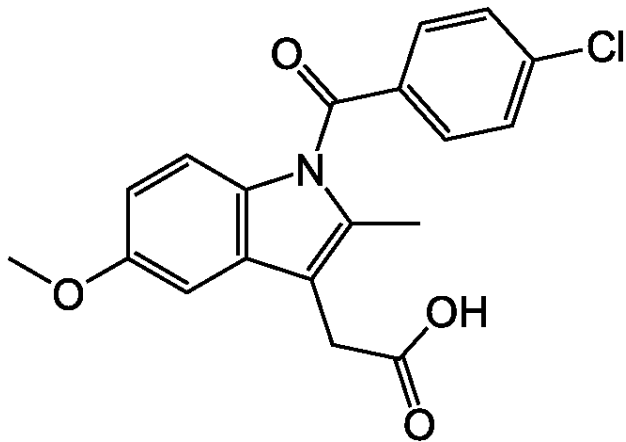
17 α -ethinylestradiol



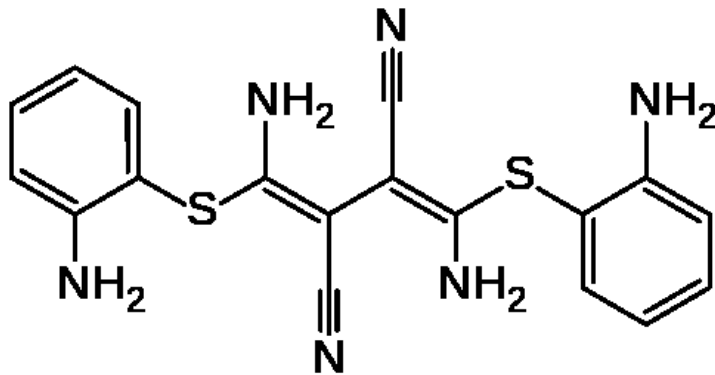
17 β -ethinylestradiol

- 17 α -ethinylestradiol - první semisyntetický estrogen (aktivuje ER);
- Tamoxifen - antiestrogenní

Inhibitory enzymů signální transdukce



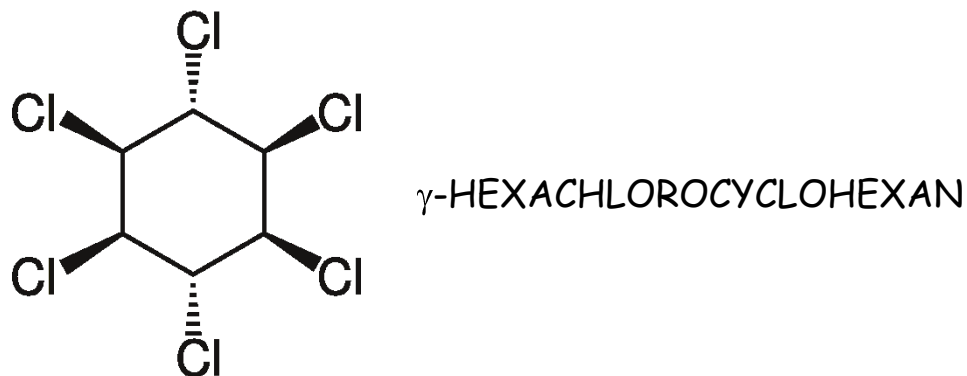
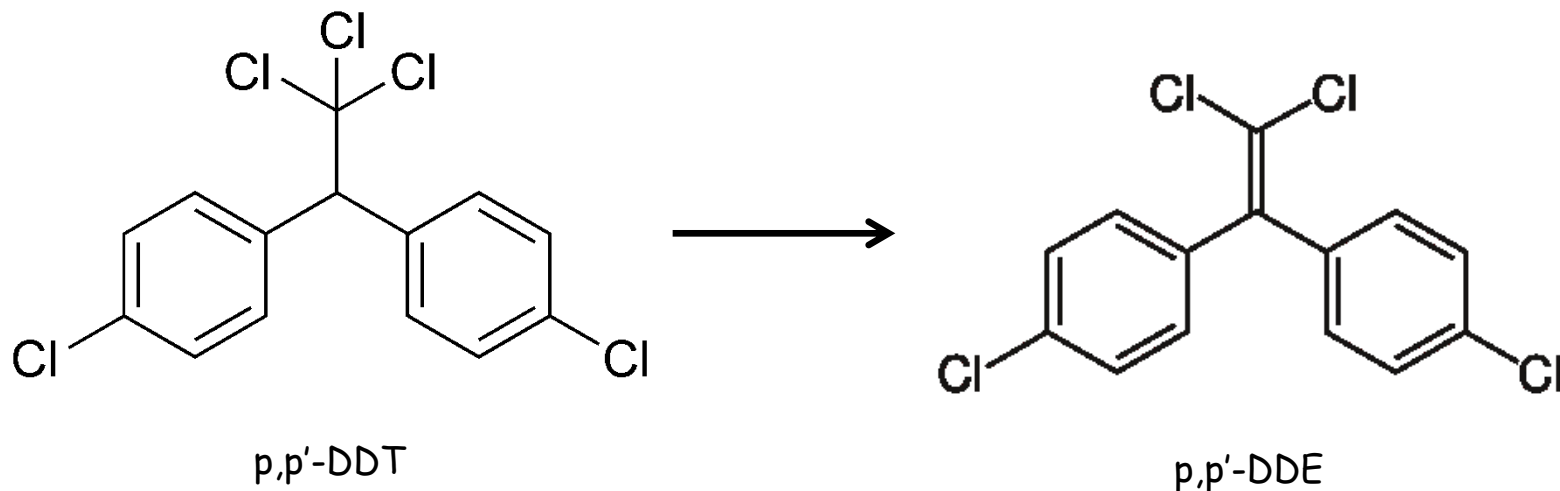
IBUPROFEN (enantiomery)



U0126

- Indomethacin, ibuprofen - inhibitory cyklooxygenáz (inhibice syntézy prostaglandinů);
- U0126 - inhibitor proteinkináz MEK1/2 (signální dráha vedoucí k aktivaci ERK1/2)

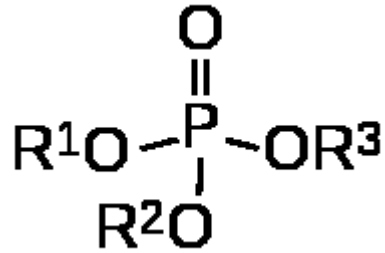
Průmyslové kontaminanty: organochlorové pesticidy



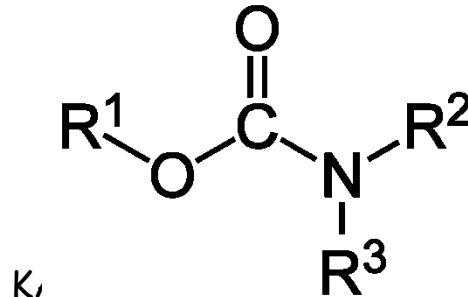
- DDT - otvírá sodíkové kanály v neuronech hmyzu; **vysoce persistentní** (persistentní je i metabolit DDE), **bioakumulace**;
- HCH aj. - široce používány v 1950-1970.

Průmyslové kontaminanty: moderní pesticidy

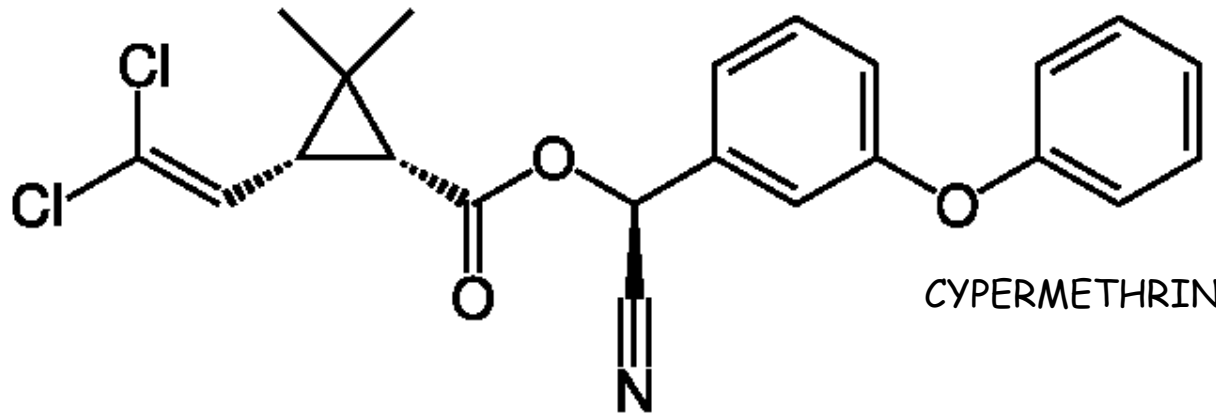
(tlumení a hubení rostlinných a živočišných škůdců - herbicidy, insekticidy, fungicidy - vys. účinnost i degradace)



ORGANOFOSFÁTY

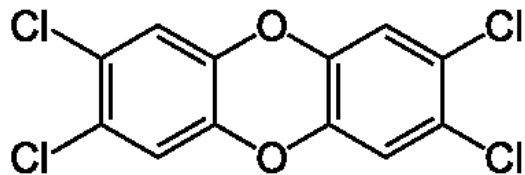


K,

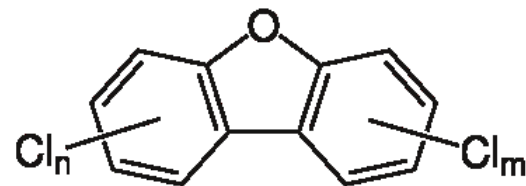


- Organofosfáty - ireversibilní inhibice acetylcholinesteráz
- Karbamáty - reversibilní inhibice AChE
- Pyrethroidy (př. cypermethrin) - vysoce účinné insekticidy, odvozené od přírodního pesticidu kys. chrysantémové

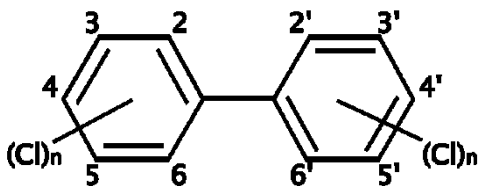
Polychlorované dibenzo-p-dioxiny, dibenzofurany a bifenyly



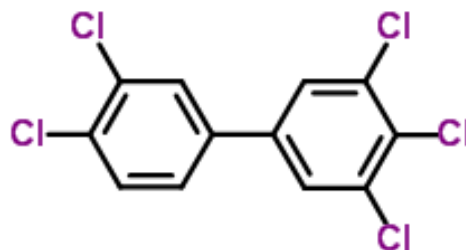
2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin



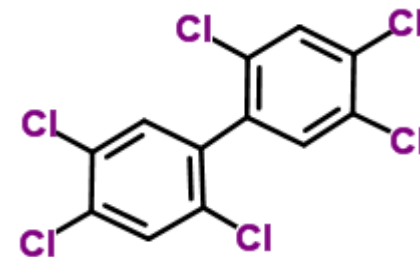
Polychlorované dibenzofurany



Polychlorované bifenyly
(209 různých kongenerů)



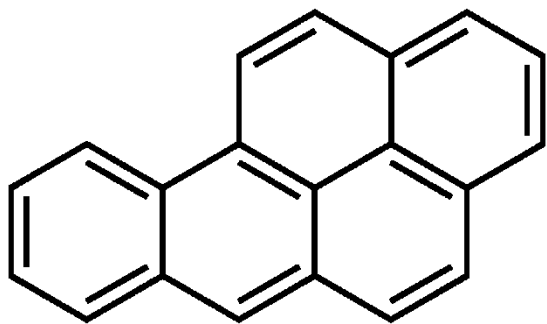
PCB 126 (koplanární,
podobný dioxinům)



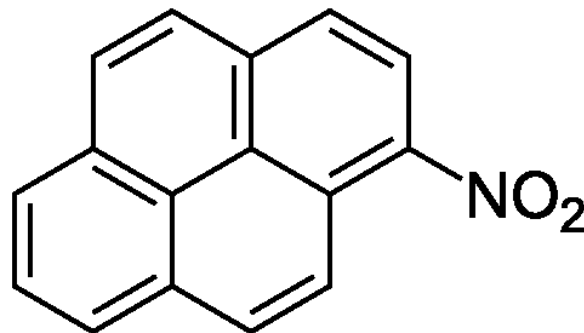
PCB 153 (nekoplanární,
jiné mechanismy působení)

- **Vysoce persistentní a bioakumulující látky;** planární kongenery (PCDD, PCDF, některé PCB jako např. PCB 126) působí přes aryluhlovodíkový receptor - „dioxinová“ toxicita
- Nekoplanární PCB - efekty na steroidní receptory, plasmatickou membránu aj., vede k nádor. promoci a endokrinní disrupci.

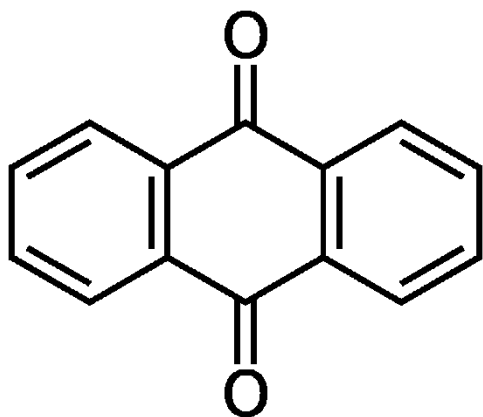
Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAH) a jejich deriváty



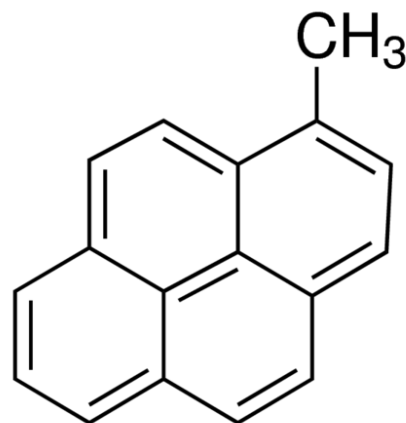
Benzo[a]pyren



1-NITropyren



inon

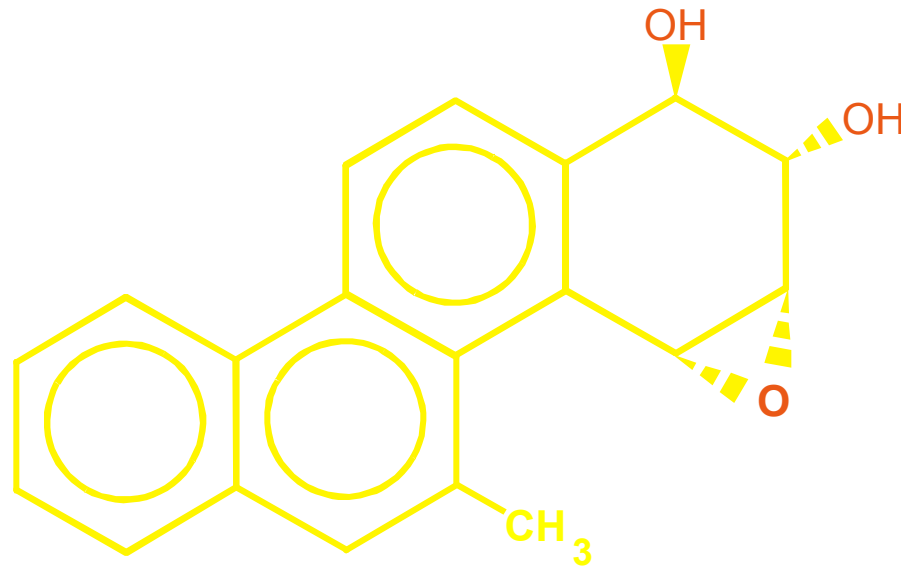


1-Methylpyren

- PAH - nejsou nebo málo persistentní; **metabolizují se na genotoxické a karcinogenní intermediáty**; ale popsány i efekty na AhR a další **negenotoxické mechanismy toxicity**.

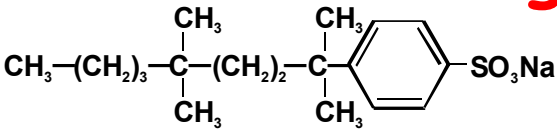
PAHs nejsou persistentní, metabolizují se
na genotoxické intermediáty

GENOTOXICKÝ METABOLIT 5-METHYLCHRYSENU:

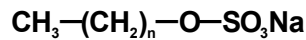


1,2-DIHYDROXY-3,4-EPOXY-5-METHYLCHRYSENE

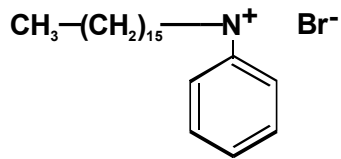
Průmyslové kontaminanty: nové neionogenní detergenty (nejsou na bázi sulfonátů a fosfátů)



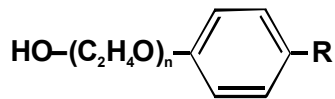
Tetrapropylénbensensulfonatan sodný



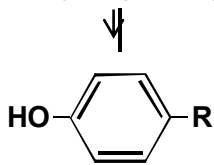
Alkylsulfonatan sodný



Cetylpyridiumbromid



Polyglykolétery alkylovaných fenolů

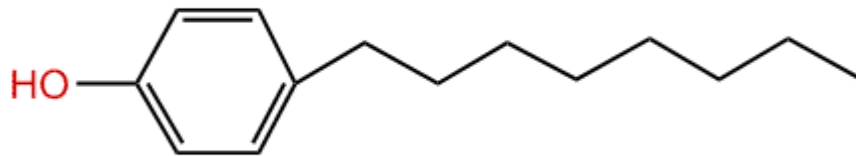


Alkylfenoly

Polyglykoétery alkylovaných fenolů

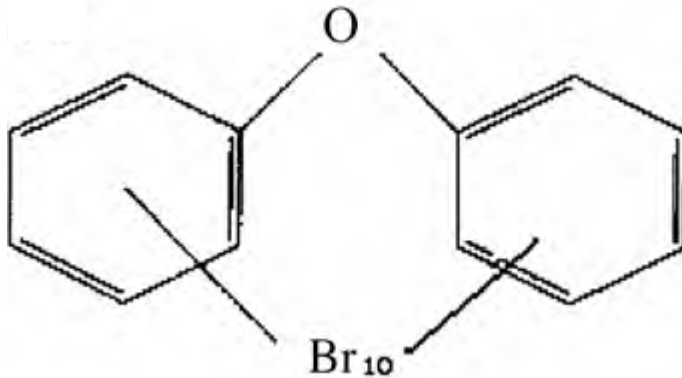


Alkylfenoly

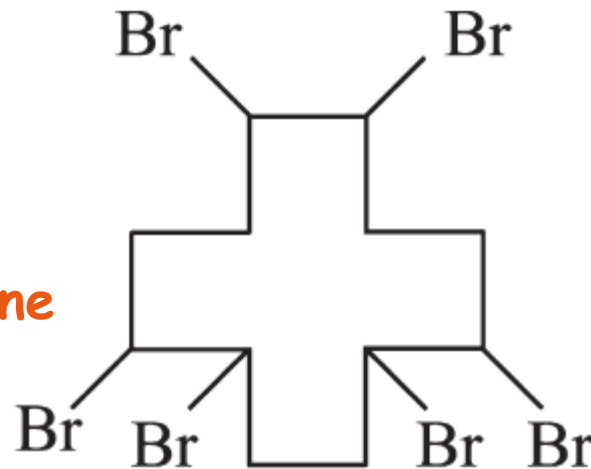


- degrađační produkty (4-nonyl-, oktylfenol) jsou toxické (narkotický účinek, efekty na steroidní receptory apod.) a relativně persistentní v prostředí

Novel ("emerging") contaminants: Brominated flame retardants



Decabromodiphenyl ether (BDE-209)



Hexabromocyclododecane

REGULACE BUNĚČNÝCH PROCESŮ

- ☛ **Regulace tvorby aktivního enzymu:** regulace mRNA, indukce/suprese biosyntézy (negat., pozitivní kontrola transkripce, mutace), regulace enzymové aktivity (allosterická regulace, de/fosforylace, zpětno-vazebná regulace produktem metabolismu), stabilizace a degradace proteinů, nescifické mechanismy (ztráta energie - NAD(P)H, ATP).
- ☛ Typy **signalizace mezi buňkami** (endokrinní, parakrinní, autokrinní, přímé komunikace - GJIC, „adherens junctions“ aj.).
- ☛ **Intracelulární** signální transdukce (bun. povrchové receptory, aktivace enzymů - MAPK, lipázy, sekundární „messengery“, transkripční faktory).
- ☛ **Extracelulární chemické stimuly:** hormony, růstové faktory, cytokiny, xenobiotika, dietární PUFA atd.