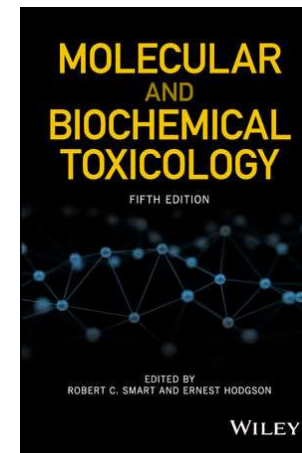
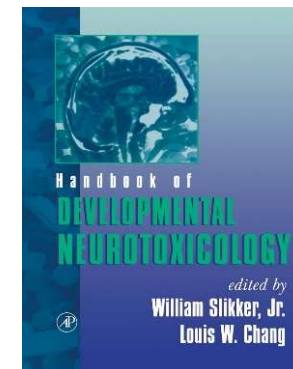
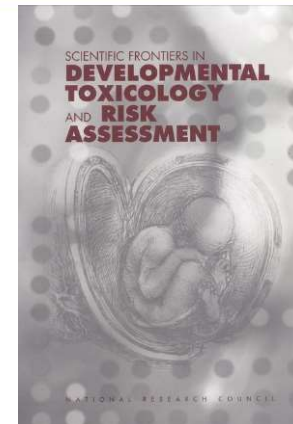


## Deregulace signální transdukce cizorodými látkami (20.2.23)

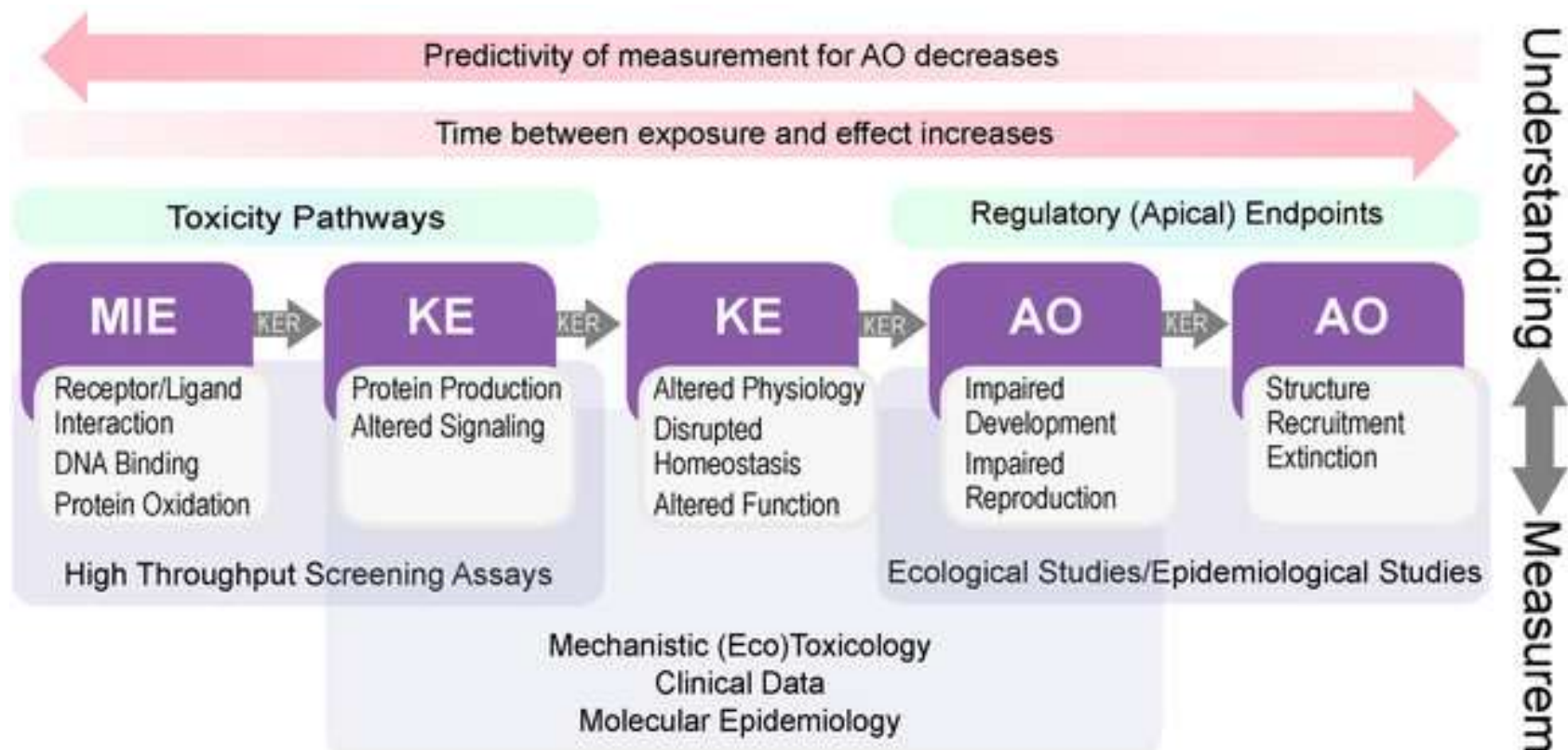
J. Procházková



## AOP koncept

- “Adverse Outcome Pathway”
- princip zhromažďování informací vedoucí k propojení znalostí, které popisují mechanismus účinku určité chemické látky s praktickým stanovením rizika a nastavením regulačních norem
- komponenty AOP:
  - *MIE – molecular initiating event*
  - *KE – key event*
  - *AO – adverse outcome*
  - *MOA – mode of action*

# AOP koncept



## Deregulace signální transdukce

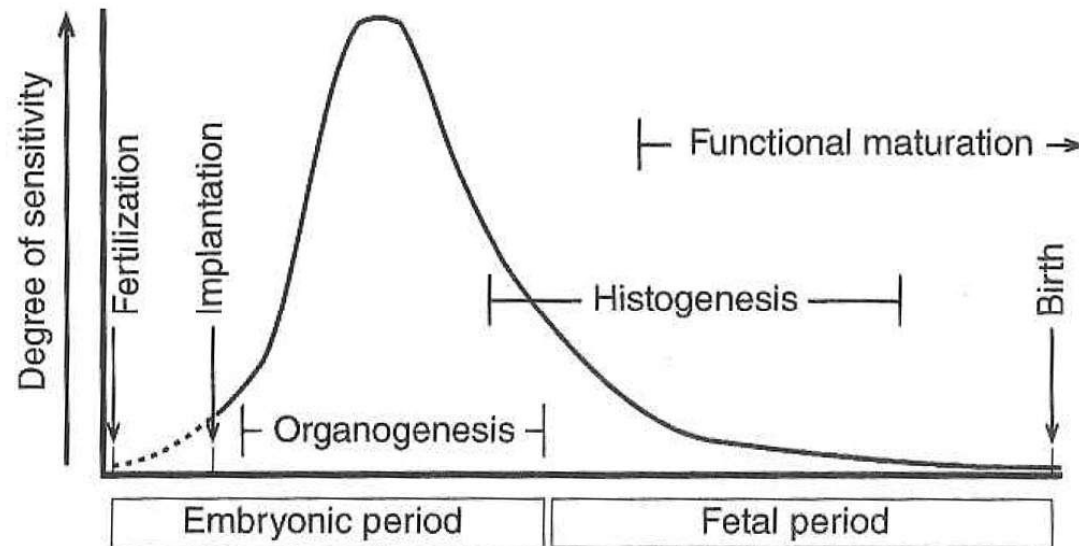
- různé úhly pohledu:
  - dle stádia zralosti organismu (vyvíjející se vs. dospělý vs. stárnoucí)
  - dle tkáně (játra, nervový systém, gastrointestinální trakt, plíce ...)
  - dle délky časového okna působení toxické látky (akutní vs. chronická expozice)
  - dle typu a povahy toxické látky (kovy, organické látky, částice ...)

## Deregulace signální transdukce během vývoje

- Citlivost plodu vůči působení cizorodých látek se liší v průběhu jeho vývoje
- během organogeneze orgány vykazují své specifické „okno“ citlivosti

# Deregulace signální transdukce během vývoje

862 | 25 Molecular Mechanisms of Developmental Toxicity

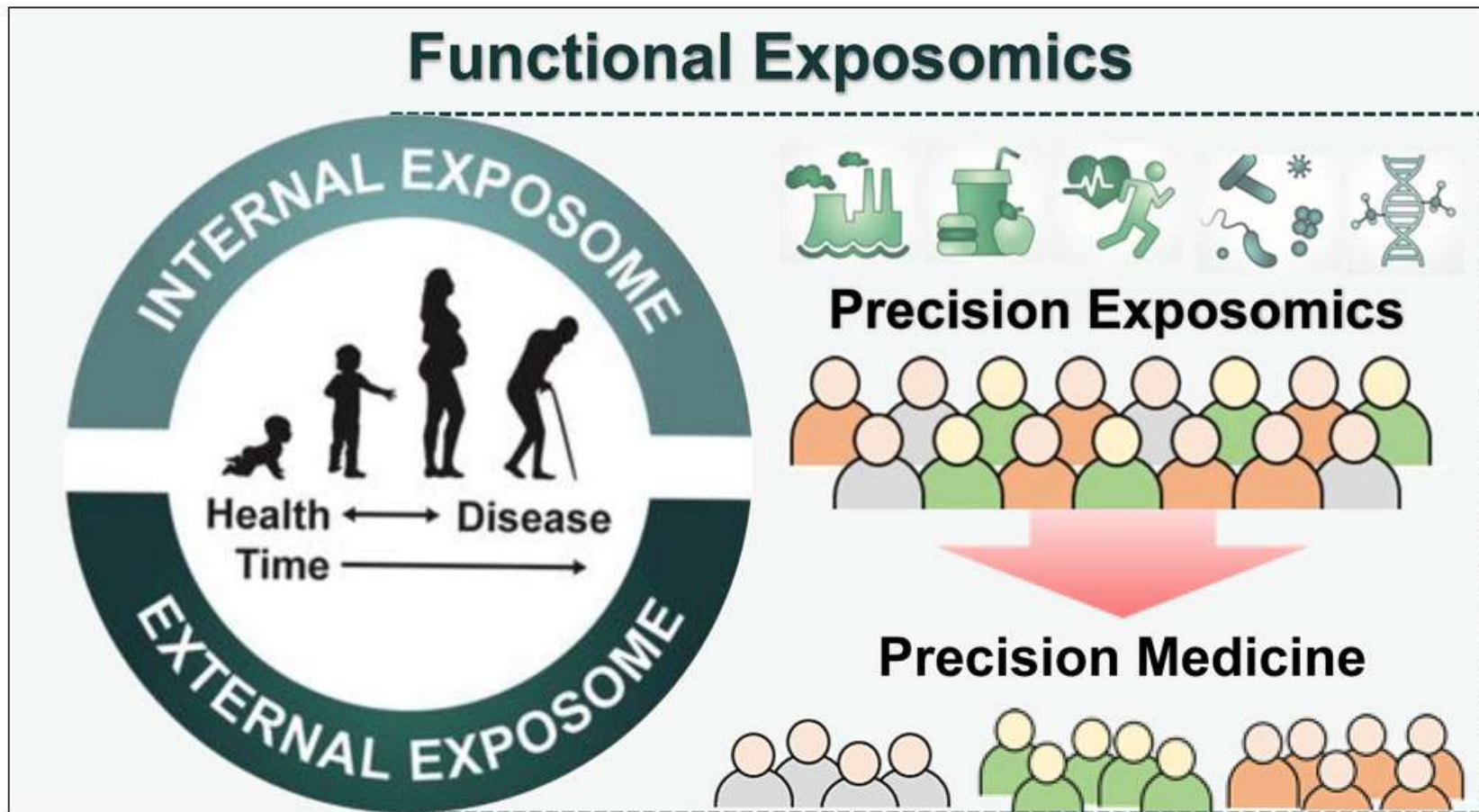


**Figure 25.1** Sensitivity of the developing mammalian fetus to structural defects by xenobiotics over the course of gestation. *Source: Wilson, J. G. (1973) Environment and Birth Defects. Academic Press, New York. Reproduced with permission of Academic Press.*

## Deregulace signální transdukce v pozdním věku

- stárnutí významně ovlivňuje citlivost organismu vůči xenobiotikům
- oslabení orgánových bariér (střevo, BBB, kůže atp.)
- xenobiotika mohou indukovat chronický zánět a přispívat k aberantní stimulaci imunitního systému
- bioakumulace environmentálních polutantů roste s věkem

# Deregulace signální transdukce v pozdním věku



*Risher, 2010, Rev Environ Contam Toxicol*

*Tanner, 2020, Int J Hyg Environ Health*

*Zhang, 2021, Environ. Sci. Technol. Lett.*



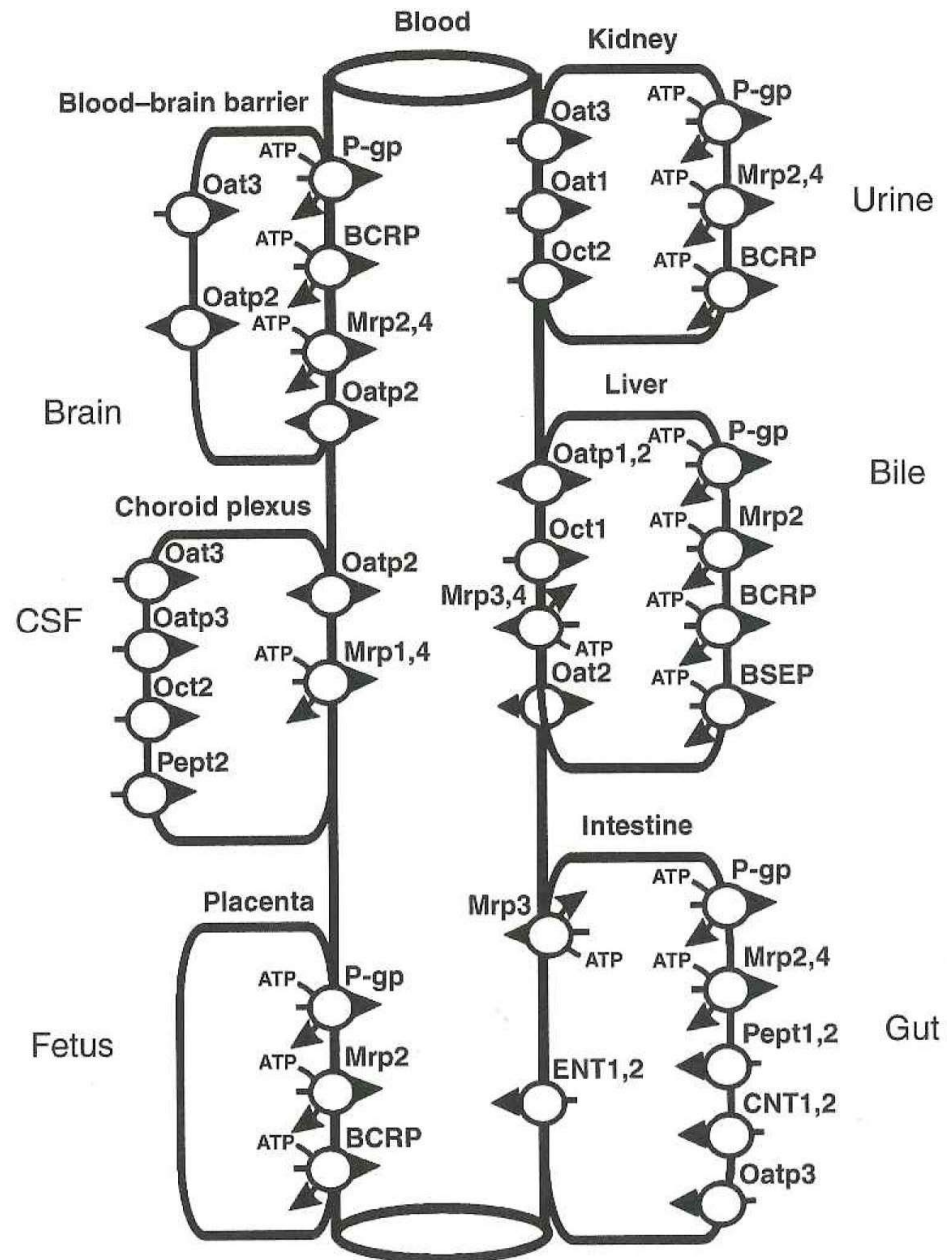
## Toxicita v kontextu fyziologie

- O charakteru signální disrupce rozhoduje do značné míry intenzita a způsob metabolizace xenobiotika a tkáň ve které k expozici došlo
- Xenobiotika mohou spouštět nežádoucí toxicitu pouze v určitém stádiu vývoje organismu disrupcí specifické signalizace
- Dávka xenobiotika se rovněž významně podílí na určení typu a rozsahu signální disrupce

## Toxicita v kontextu fyziologie

- xenobiotika mohou cílit na disrupci specifické dráhy či buněčného děje
- nebo naopak způsobovat spíše necílenou signální disrupci, jejíž povaha je dána mj. body uvedenými výše

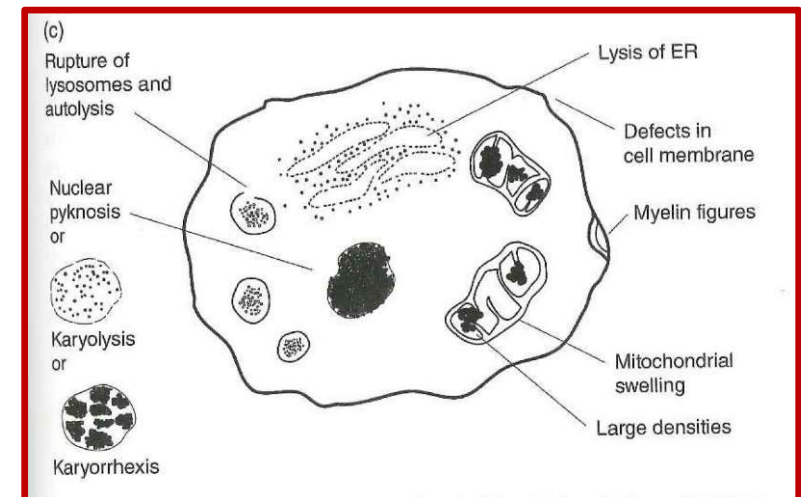
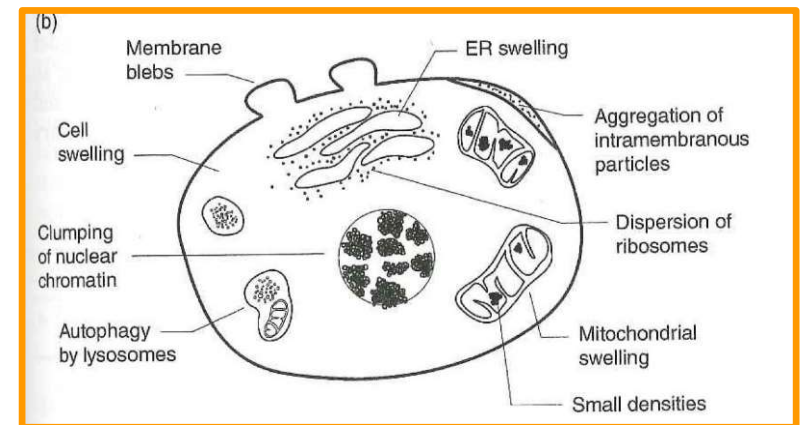
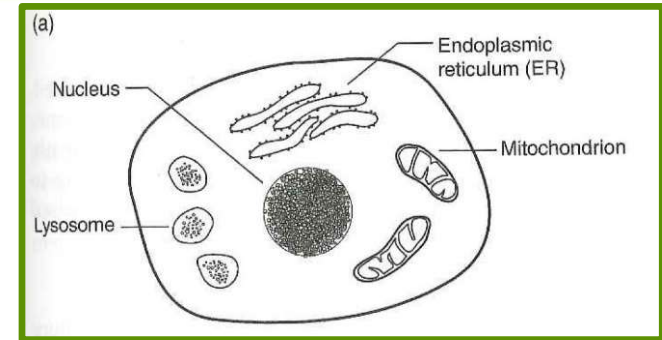
# Toxicita v kontextu fyziologie



př. vizualizace uložení  
transportéru  
xenobiotik

## Toxicita na morfologické úrovni buňky

- ➔ expozice xenobiotikům může ve **zdravé** buňce navozovat **reverzibilní** či **ireverzibilní** morfologické změny, které vedou k buněčné dysfunkci, příp. smrti



## Deregulace signální transdukce xenobiotiky

- povrchové receptory – EGFR, Wnt, NMDAR
- přenašeči signálu z povrchu buňky- G proteiny
- MAPK/p38, MAPK/ERK
- SRC, mTOR
- JAK/STAT, NFκB
- Ca<sup>2+</sup> signalizace
- deregulace buněčné komunikace
- regulátory transkripce - HIF1a, AP1, p53
- **jaderné receptory, lipidy, apoptóza, autofagie & oxidativní stres – prof. J. Vondráček**

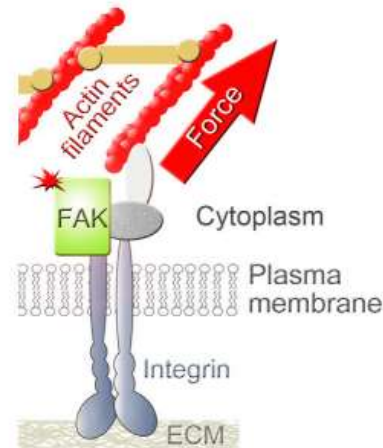
# Cytoskelet jako regulátor signalizace

- ➔ cytoskelet reguluje sílu, lokalizaci, délku trvání a terminaci signálu

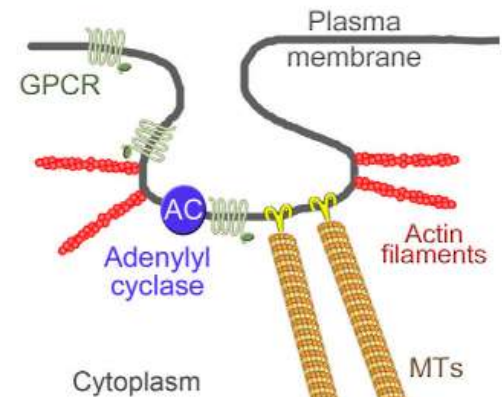


## The Cytoskeleton Controls Signaling

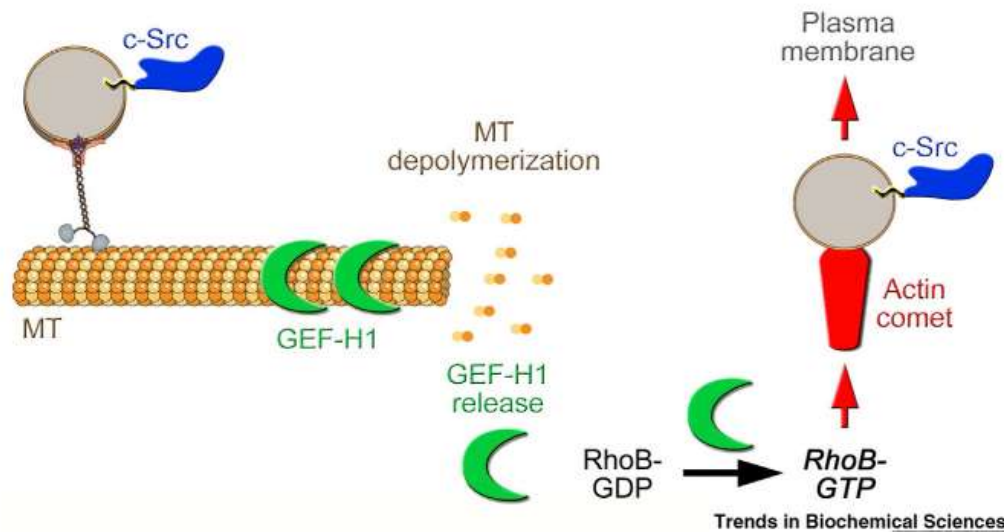
(A) Mechanotransduction: focal adhesions



(B) Plasma membrane: microdomain formation



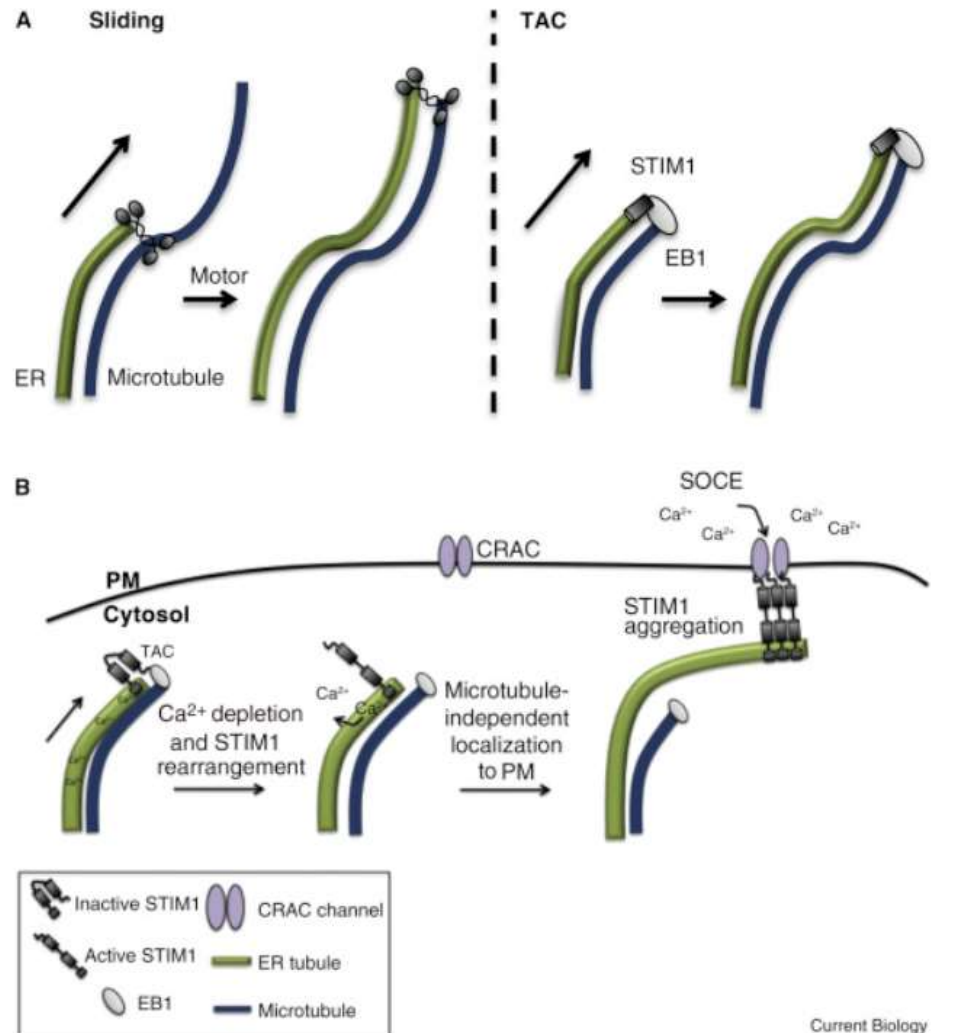
(C) Vesicle trafficking: c-Src delivery to plasma membrane



## Cytoskelet jako buněčný cíl xenobiotik

- xenobiotika ovlivňující dynamiku cytoskeletu deregulují signální transdukcí na mnoha úrovních
- cytoskelet představuje vnitrobuněčné lešení klíčové mj. pro dělení buněk a jejich motilitu, pro transport organel a jejich funkci
- př. mitochondrie - role cytoskeletu v apoptóze zprostředkované mitochondriemi, jejich dynamika a biogeneze
- translokace organel po cytoskeletální síti – endoplazmatické retikulum, váčky

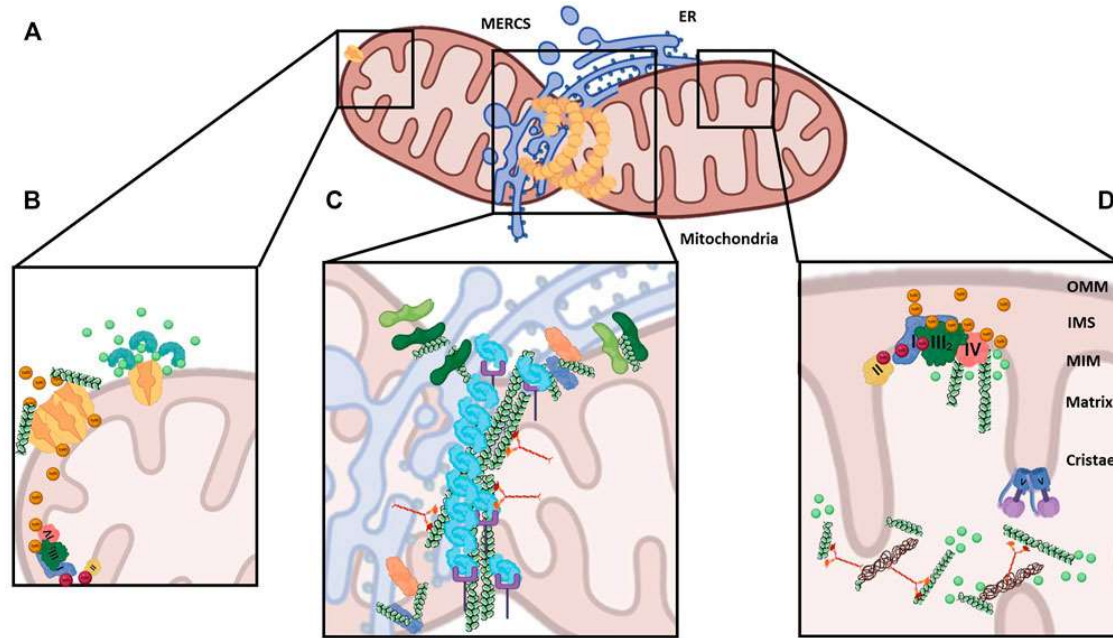
# Cytoskelet jako regulátor signalizace



Current Biology




# Cytoskelet jako regulátor signalizace



## Mitochondrial apoptosis





-  VDAC1
-  Cytochrome c

## Actin cytoskeleton and ABPs

-  INF2
-  Spire1C
-  F-actin
-  G-actin
-  cGSN
-  Myosin II

## Mitochondrial dynamics









### Fission machinery

-  Drp1
-  Drp1 oligomers
-  Drp1 receptors (Fis1, MID49/50, Mff)
-  Dynamin

### Fusion machinery

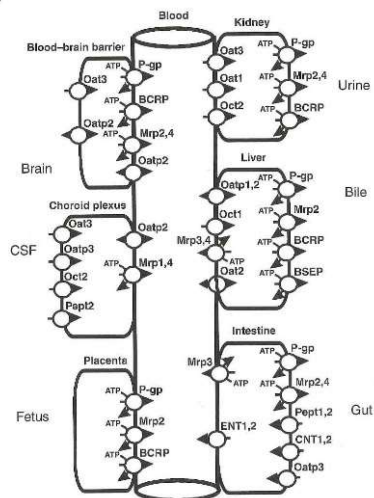
-  MFN1
-  MFN2

## Mitochondrial biogenesis

-  Nucleoid
  -  I NADH dehydrogenase (complex I)
  -  II Succinate dehydrogenase (complex II)
  -  III<sub>2</sub> Coenzyme Q – cytochrome c reductase (complex III)
  -  IV Cytochrome c oxidase (complex IV)
  -  V ATP synthase (complex V)
  -  Ubiquinone or Coenzyme Q (CoQ)
  -  Cytochrome c
- MRC  
OXPHOS

# Fyziologie působení farmak a toxických látek

## KONTEXT !



862 | 25 Molecular Mechanisms of Developmental Toxicity

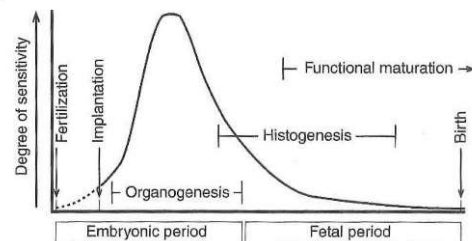
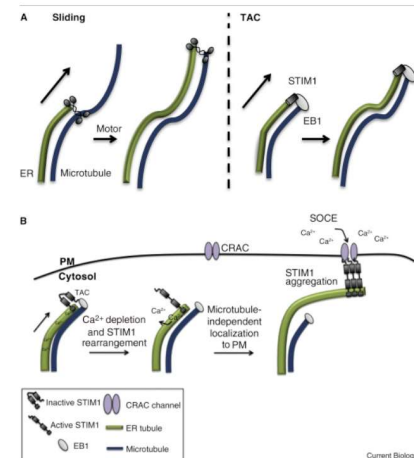
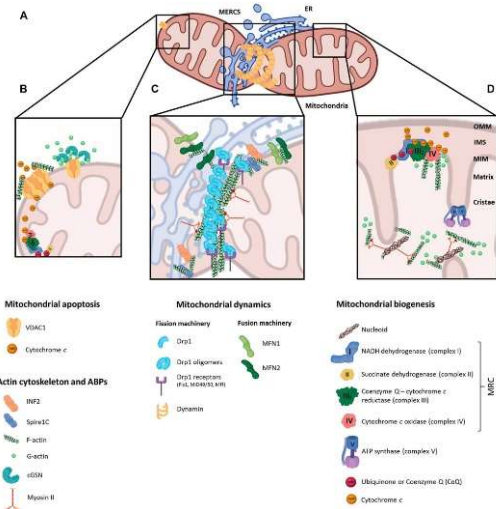
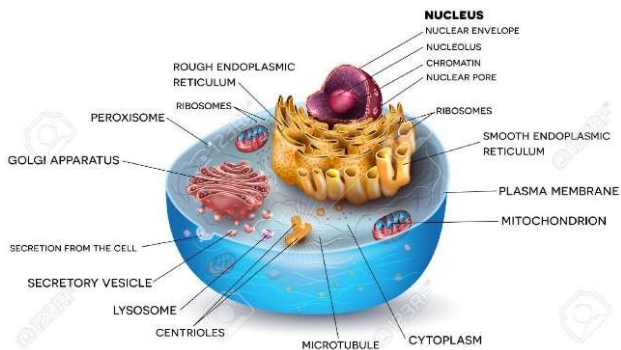
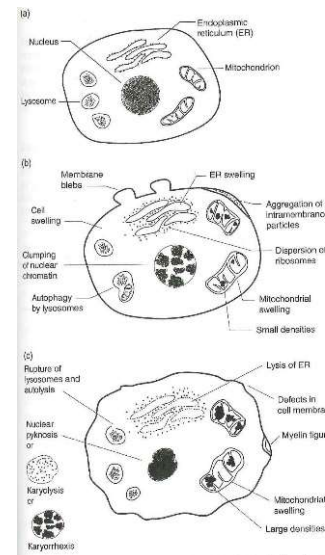


Figure 25.1 Sensitivity of the developing mammalian fetus to structural defects by xenobiotics over the course of gestation. Source: Wilson, J. G. (1973) *Environment and Birth Defects*. Academic Press, New York. Reproduced with permission of Academic Press.



## Příklady různých kategorií xenobiotik

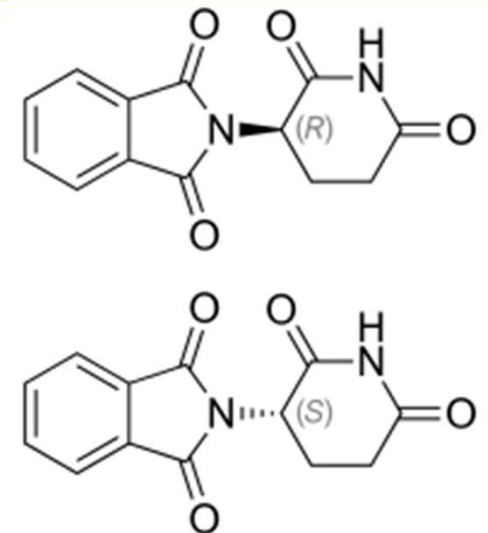
- ▶ **Léčiva**
  - androgenní agens, některá ATB (tetracykliny), protinádorová léčiva, antikonvulsiva...
- ▶ **Environmentální polutanty**
  - PCBs, PAHs, těžké kovy, PFAS...
- ▶ **Návykové látky**
  - kokain, alkohol, ketamin...

## Vývojová toxicita – deregulace signalizace

Period During Development	Signaling Pathway Used
Early development (before organogenesis and cytodifferentiation) and later (during growth and tissue renewal)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Wingless-Int pathway</li> <li>2. Transforming Growth Factor <math>\beta</math> (receptor serine and threonine kinase) pathway</li> <li>3. Hedgehog pathway</li> <li>4. Receptor tyrosine kinase (small G proteins) pathway</li> <li>5. Notch-Delta pathway</li> <li>6. Cytokine receptor (cytoplasmic tyrosine kinases) pathway (STAT pathway)</li> </ol>
Middle and late development (during organogenesis and cytodifferentiation) and later (during growth and tissue renewal)	<ol style="list-style-type: none"> <li>7. Interleukin-1-Toll Nuclear Factor-Kappa B pathway</li> <li>8. Nuclear hormone receptor pathway</li> <li>9. Apoptosis pathway</li> <li>10. Receptor phosphotyrosine phosphatase pathway</li> </ol>
Larval and adult physiology (after cell types have differentiated)	<ol style="list-style-type: none"> <li>11. Receptor guanylate cyclase pathway</li> <li>12. Nitric oxide receptor pathway</li> <li>13. G-protein coupled receptor (large G proteins) pathway</li> <li>14. Integrin pathway</li> <li>15. Cadherin pathway</li> <li>16. Gap junction pathway</li> <li>17. Ligand-gated cation channel pathway</li> </ol>

## Léčivo - Thalidomid

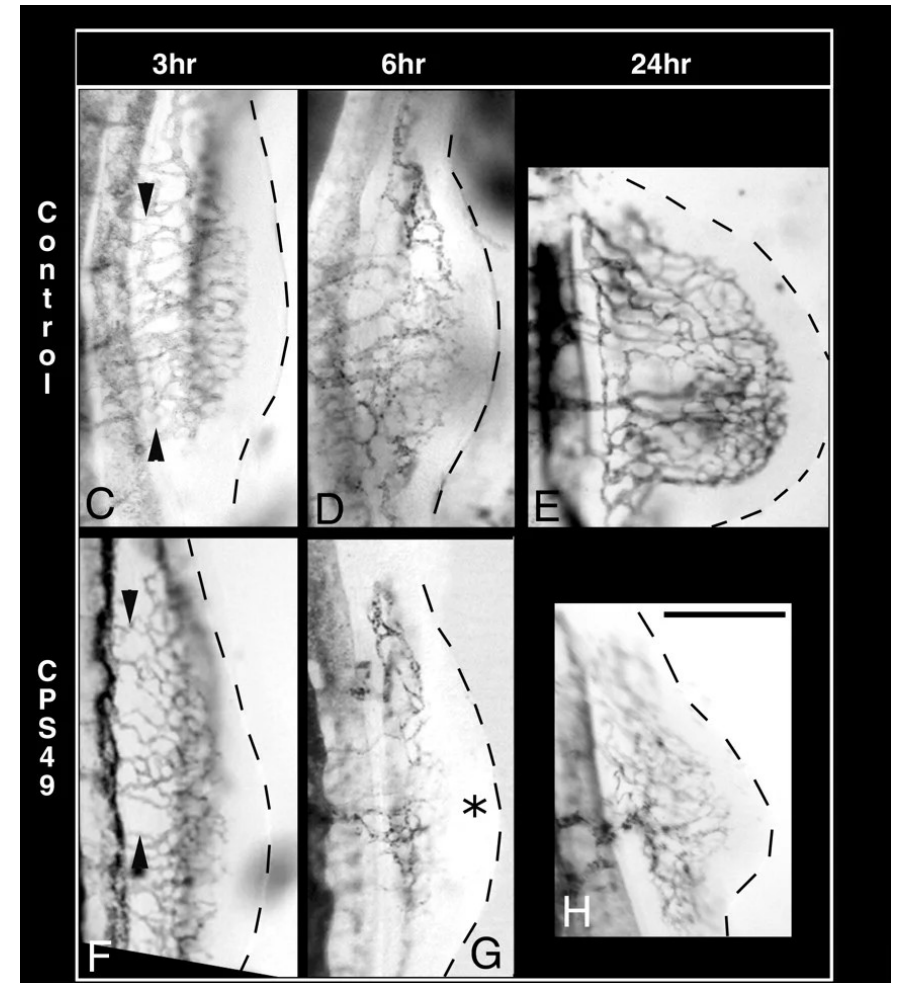
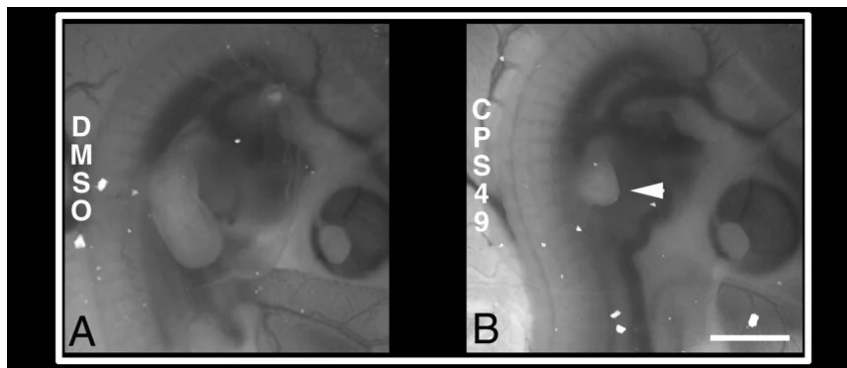
- embryotoxicita
  - nedovyvinuté končetiny
  - 1957 – lék Contergan (Grünenthal)
- inhibice angiogeneze, indukce sedace a periferní neuropatie
- imunomodulátor, protizánětlivý efekt
- protinádorová léčba – mnohočetný myelom



*Mellin, 1962, N Engl J Med*

*Franks, 2004, The Lancet*

# Léčivo - Thalidomid



# Deregulace NF- $\kappa$ B a HIF1a signalizace

► př. thalidomide

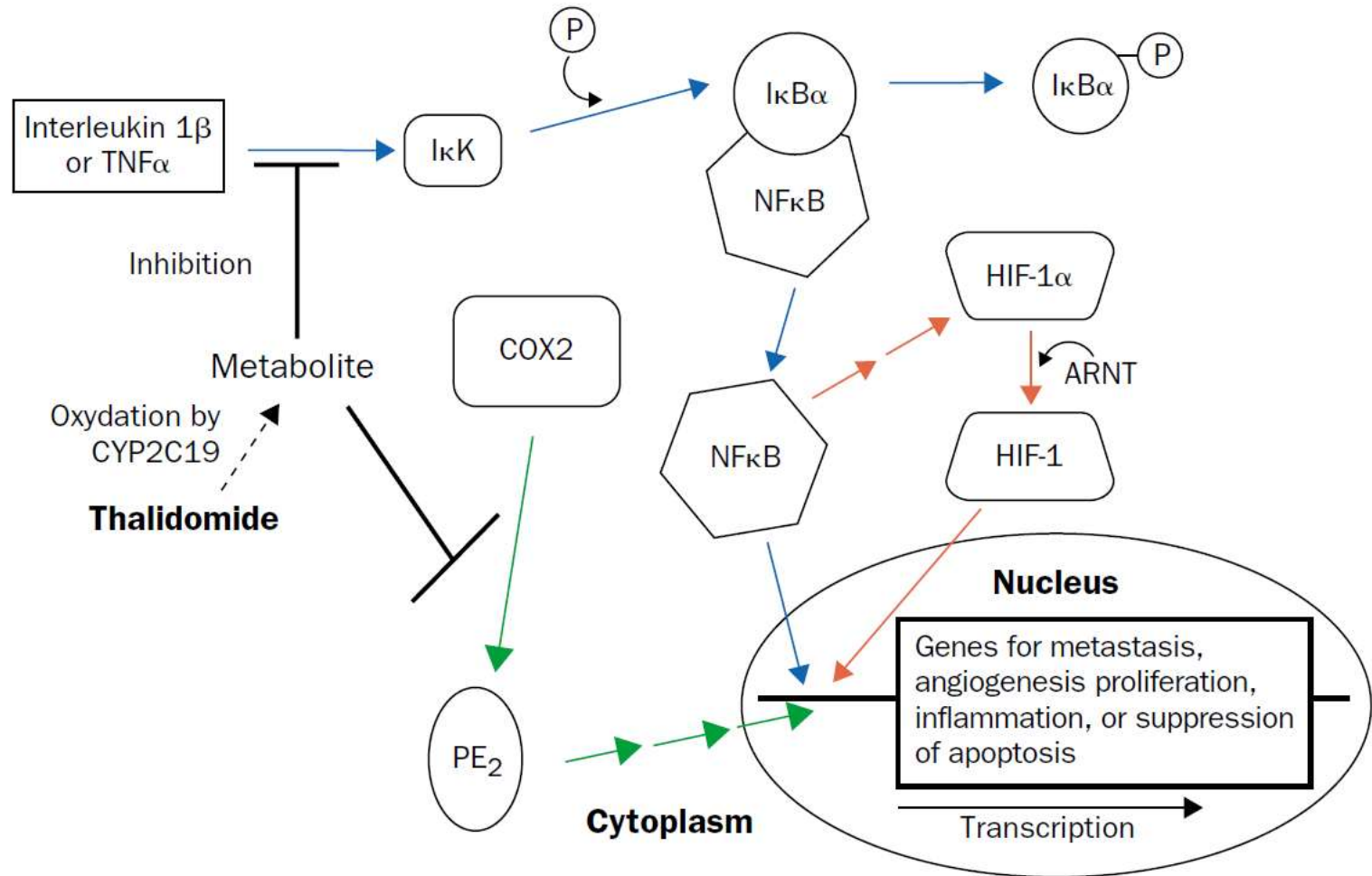
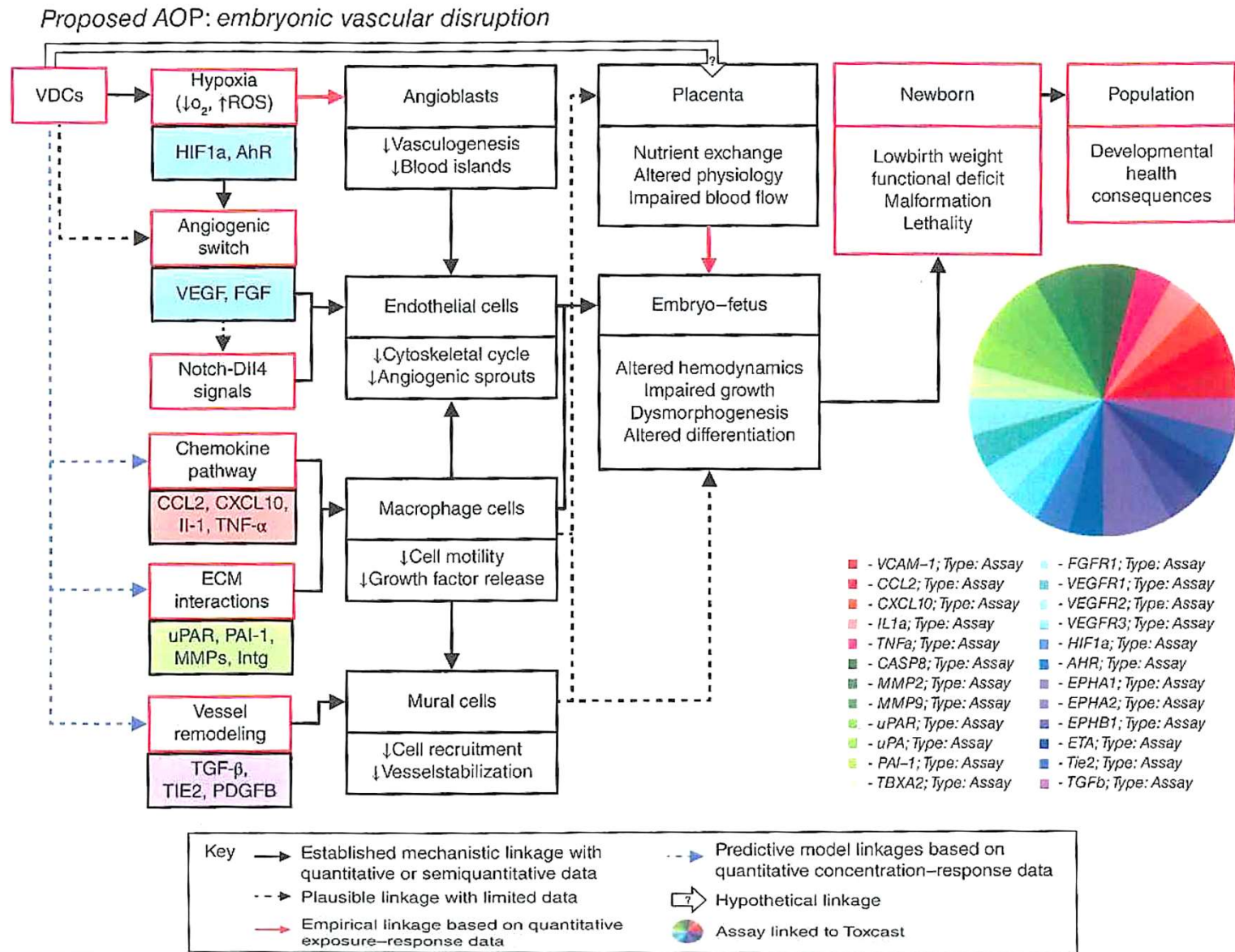


Figure 3: **Mechanisms by which thalidomide modulates immune responses and angiogenesis**

*Mellin, 1962, N Engl J Med*

*Franks, 2004, The Lancet*

## AOP koncept v praxi



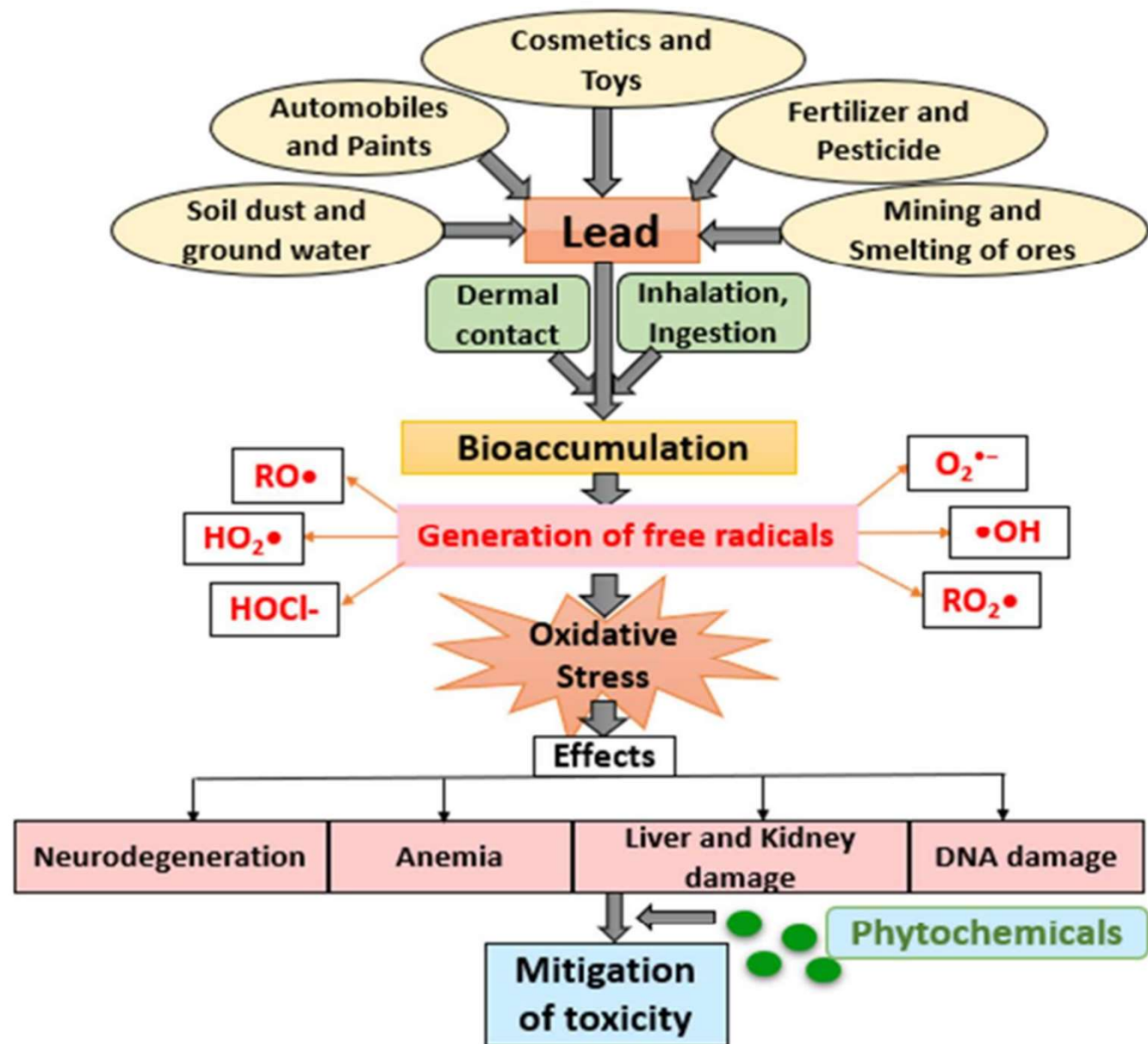


## Těžké kovy - př. Olovo

- Dosažení vyšší hladiny olova v těle v důsledku chronické expozice - měsíce, roky
- Prachové částice ve starých budovách, průmysl (barvy, renovace, baterie)
- Významně negativnější dopad otravy u dětí do 6 let věku
- Orgánové deposity - CNS, ledviny, krev, játra, kosti/zuby
- Buněčně specifické signální disrupce
- mimikuje ionty železa a vápníku

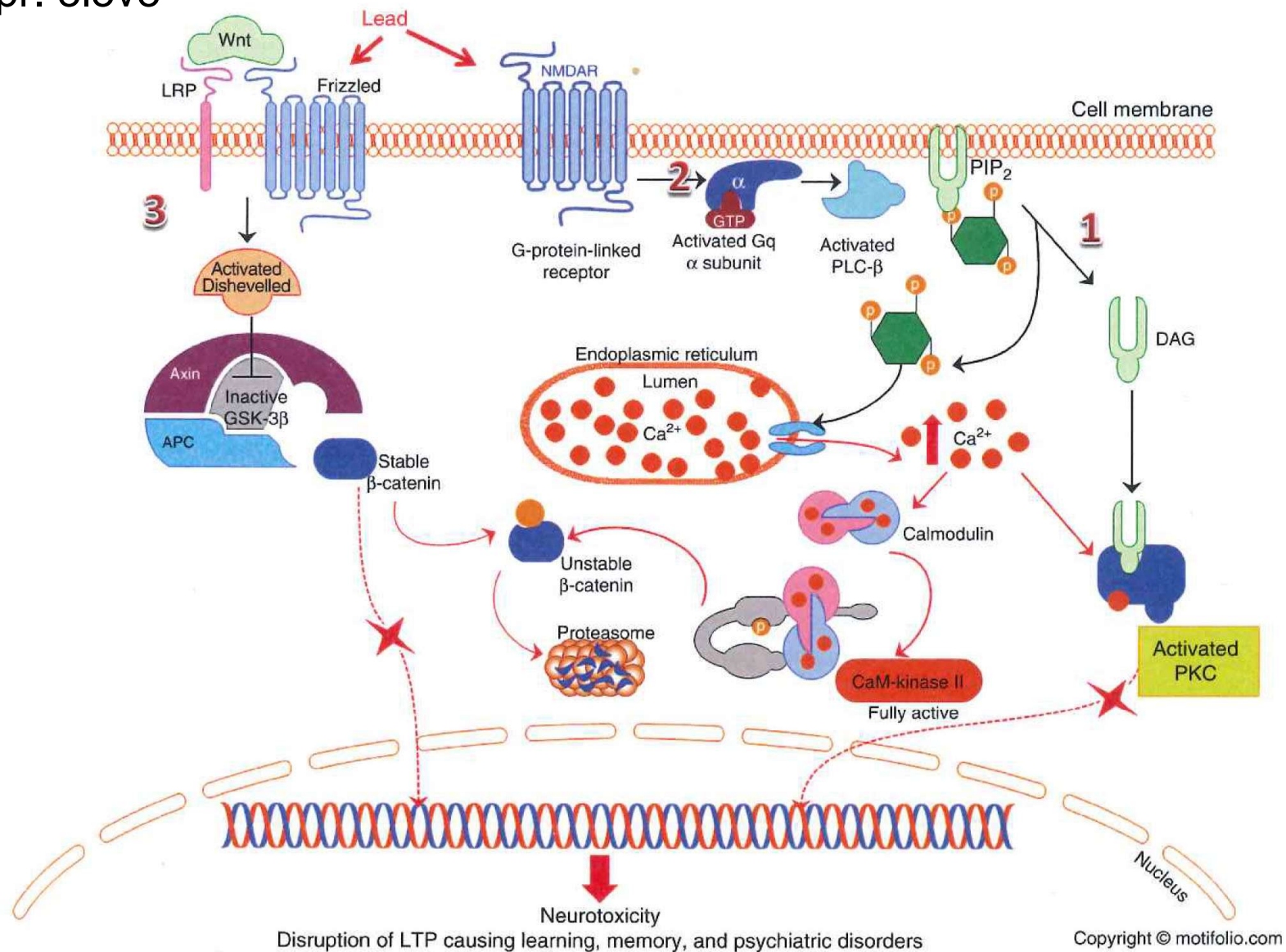
# Indukce oxidativního stresu

➔ př. olovo



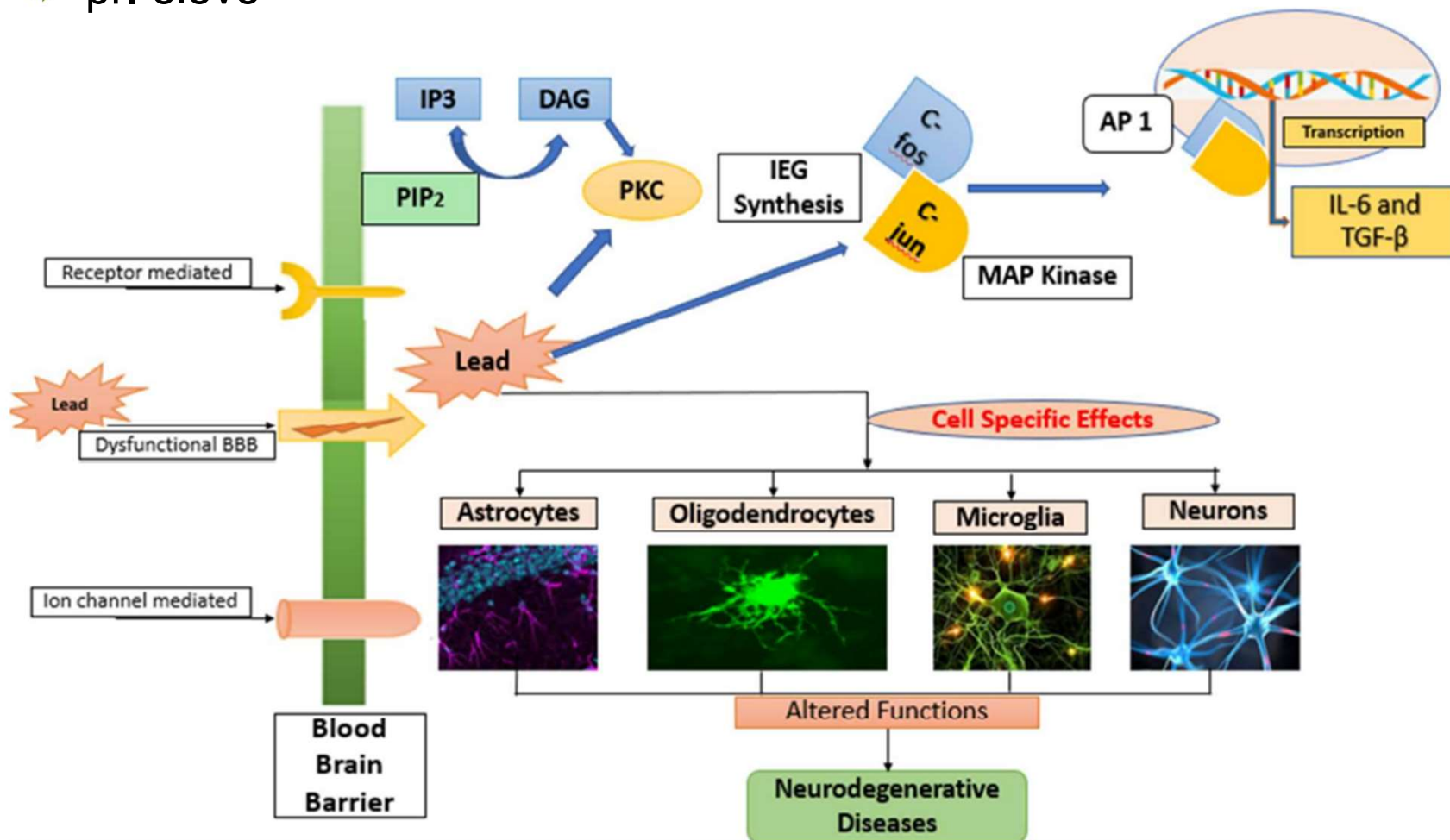
# Deregulace Wnt signalizace a G-proteinů

► př. olovo



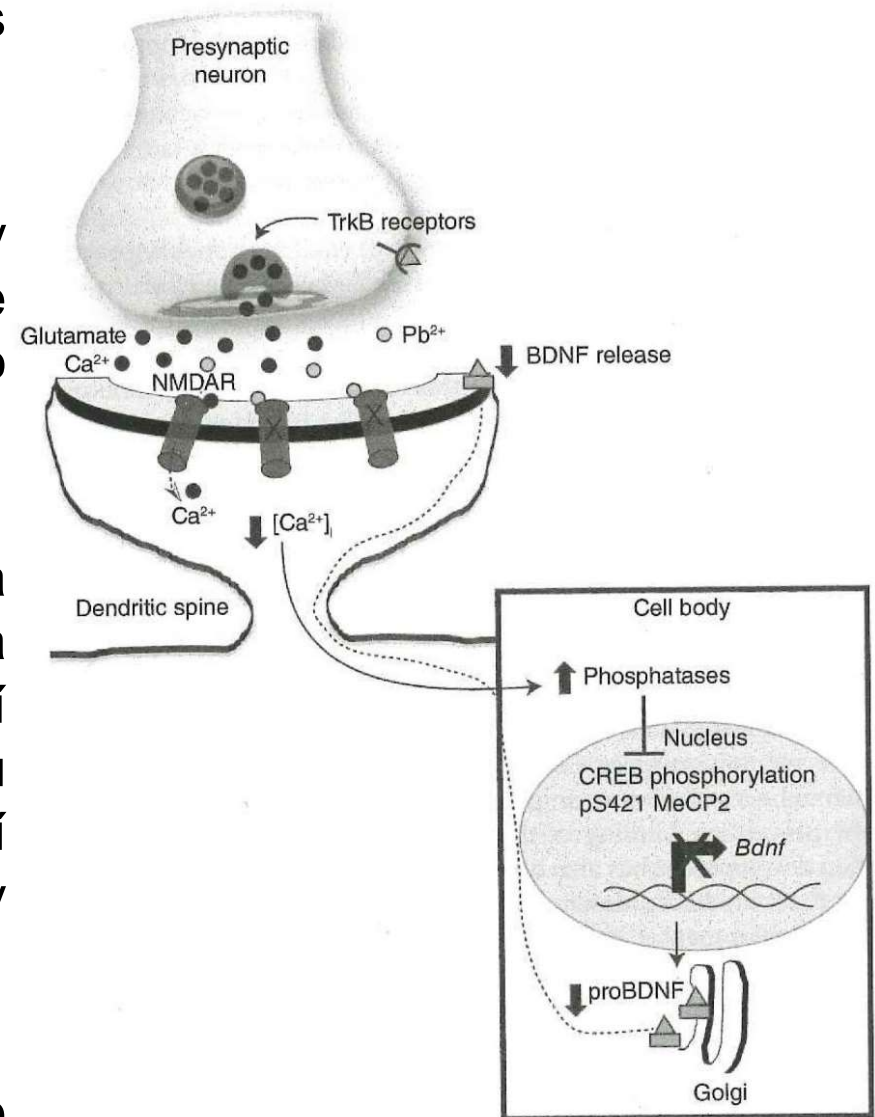
# Deregulace Ca<sup>2+</sup> signalizace a aktivace AP1

► př. olovo



# Deregulace synaptické receptorové signalizace

- ▶ př. specifický mechanismus vývojové neurotoxicity olova
- ▶ vazba olova na receptory glutamátu (NMDAR) vede ke snížení fluxu vápníku do postsynaptického neuronu
- ▶ snížená hladina vápníku má za následek oslabení CREB a MeCP2 transaktivace, snížení exprese jejich cílových genů (*Bdnf*), které regulují uvolňování neurotransmitérů v synaptických váčcích
- ▶ podobně fungují disrupce navozené anestetiky např. ketamin

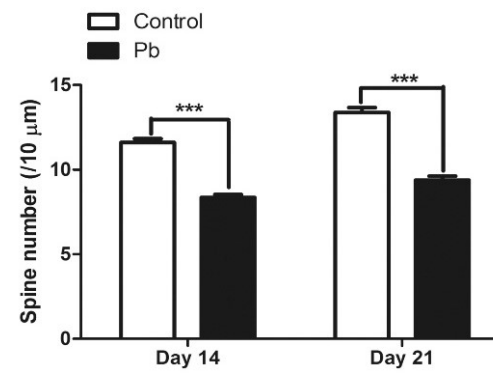
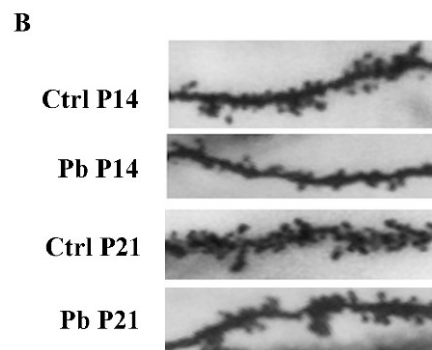
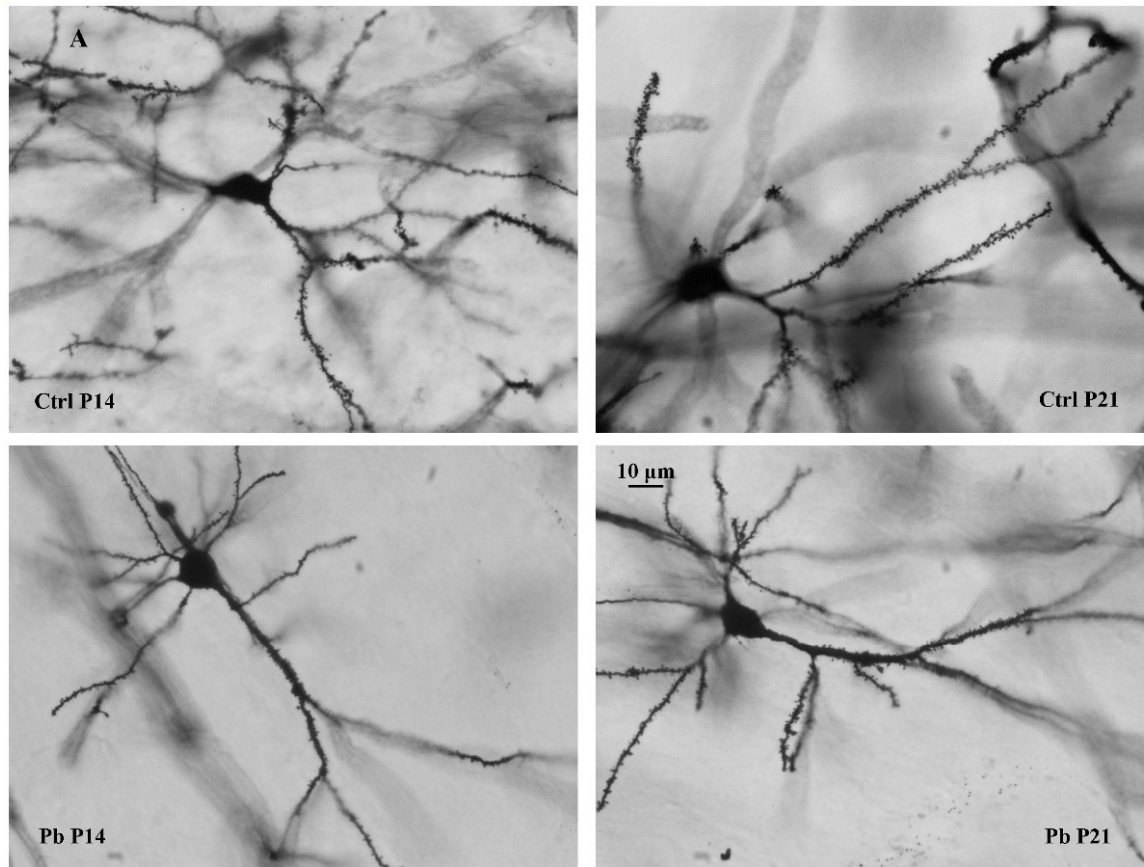


*Hu, 2014, Plos One*

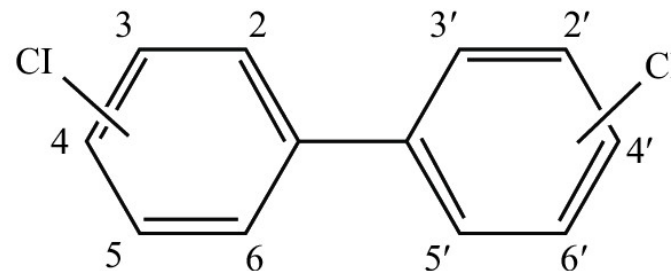
*Neurotoxicity of Metals, 2017, Advances in Neurobiology*

# Deregulace Wnt/b-catenin signalizace

- ▶ př. deregulace synaptogeneze developmentální expozicí olovem



## Polutanty - PCBs



- Různé zdroje kontaminace jdou ruku v ruce s různě dlouhou dobou expozice
- Ač výroba zakázána, stále přítomny v prostředí
- Různý dopad expozice dle délky trvání, dávky a stáří organismu

## Polutanty - PCBs

- ▶ Orgánové deposity - tuková tkáň, játra, kůže
- ▶ Signální disrupce specifické pro buněčný typ a typ kongeneru (209)
- ▶ PCBs dioxinového (DL-PCB) a nedioxinového typu (NDL-PCB)

ATSDR

WHO

EPA

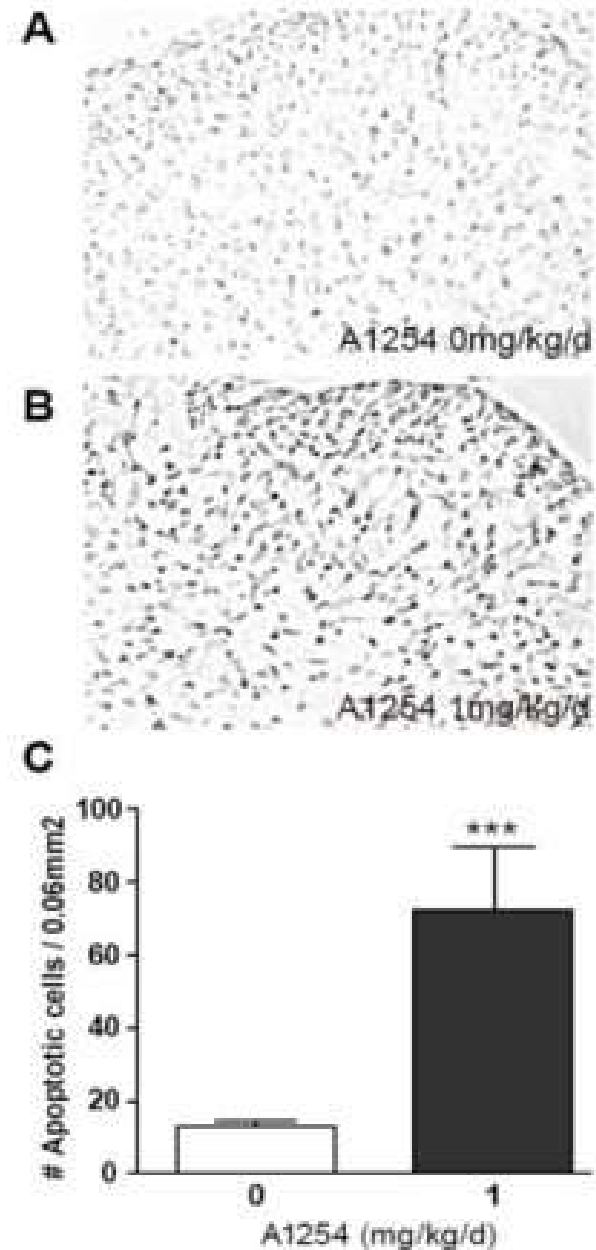
Wayman, 2012, Environ Health Perspect



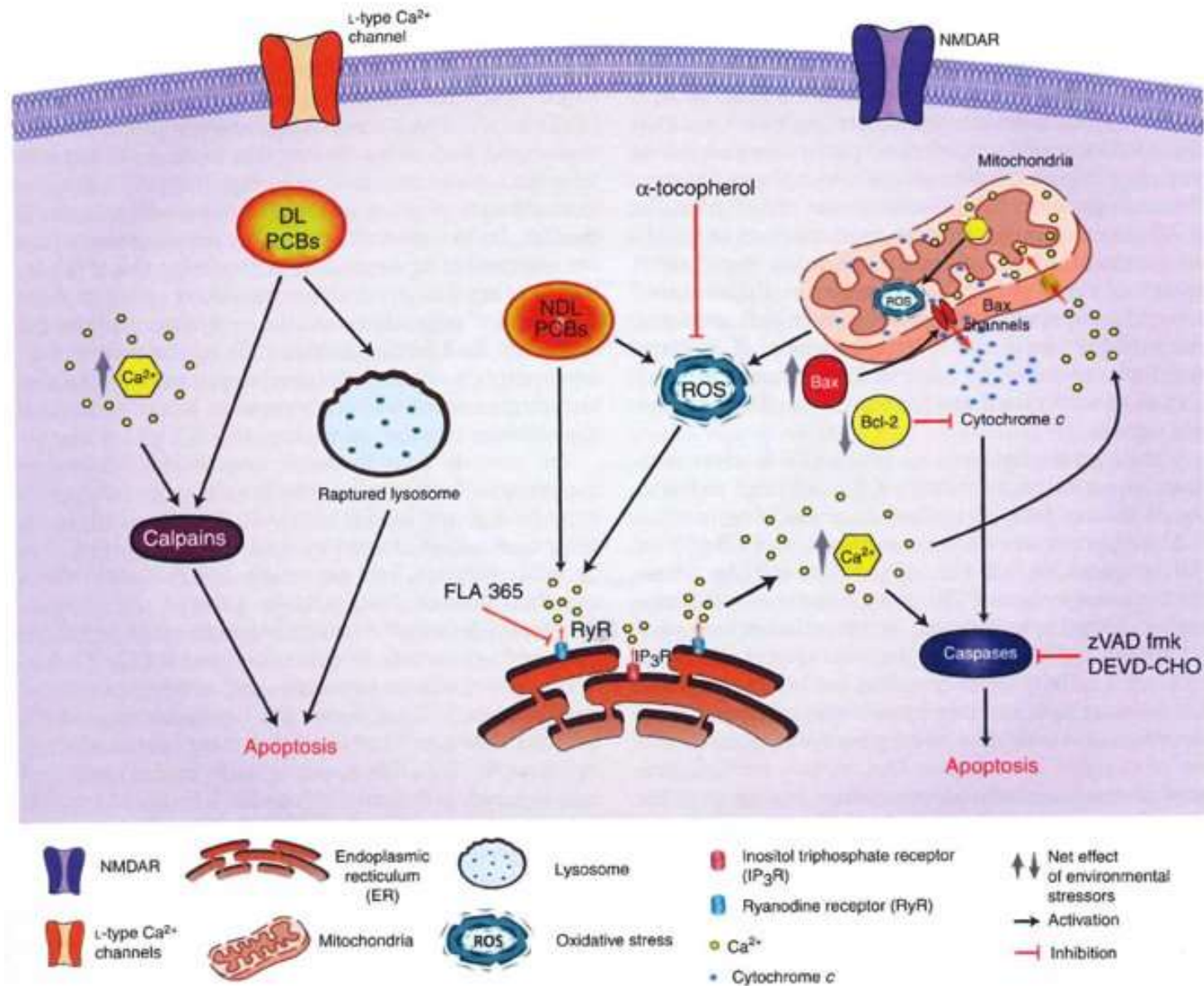
## Ca<sup>2+</sup> homeostáza vs. apoptóza

- spuštění signalizace pro programovanou buněčnou smrt přes deregulaci homeostázy Ca<sup>2+</sup> iontů
- DNT expozice Aroclor1254 a detekce apoptózy

Yang, 2010, *Curr Neuro*

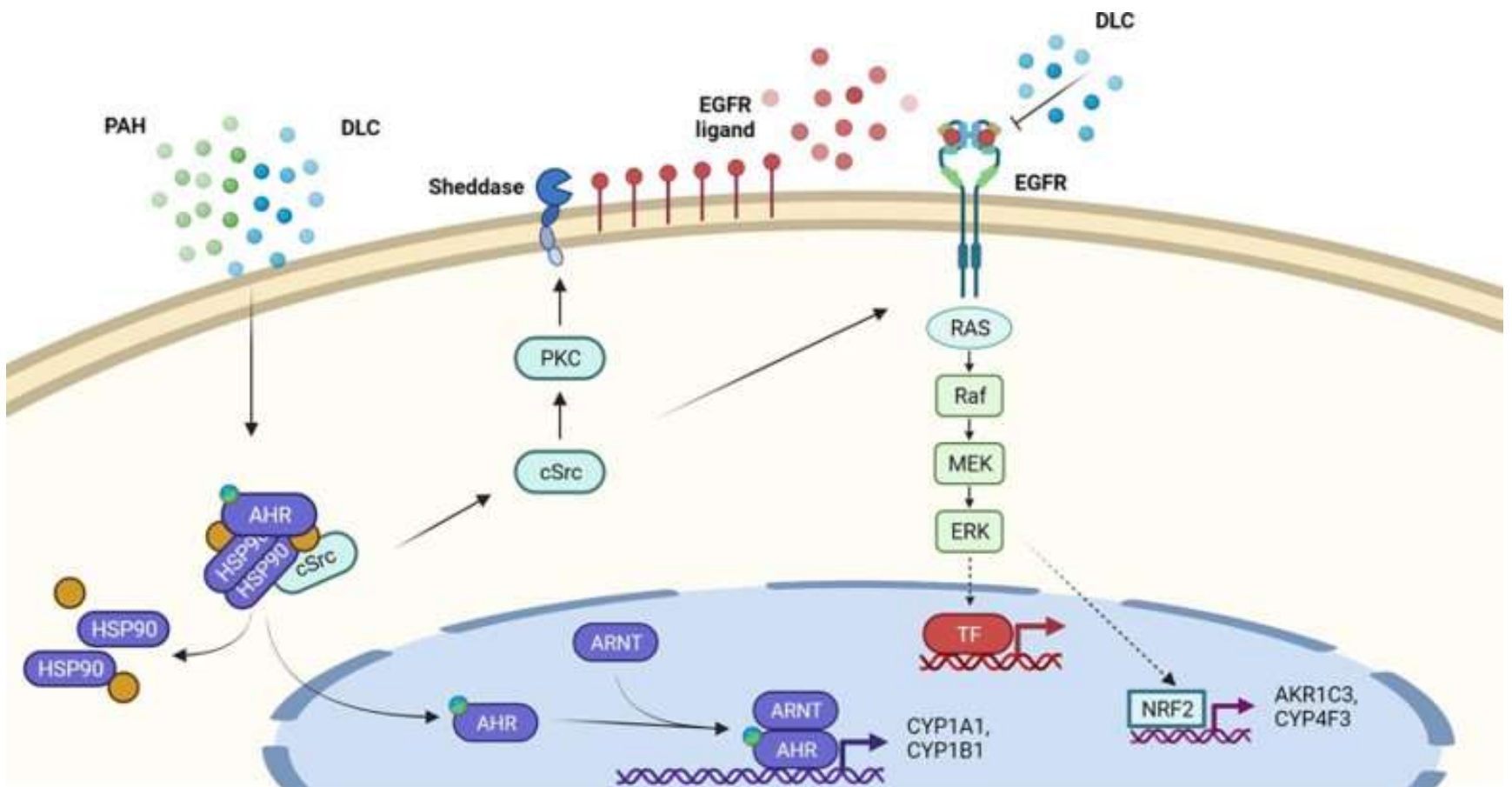


# Ca<sup>2+</sup> homeostáza vs. apoptóza



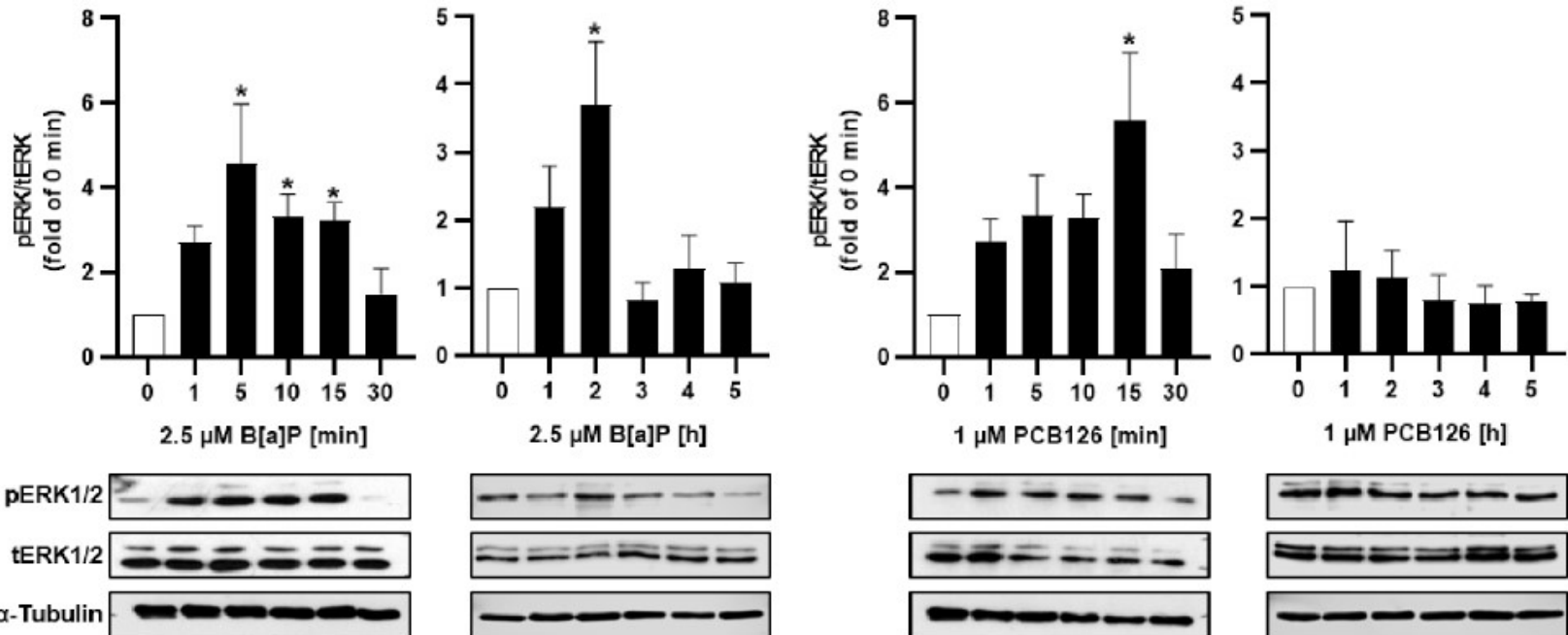
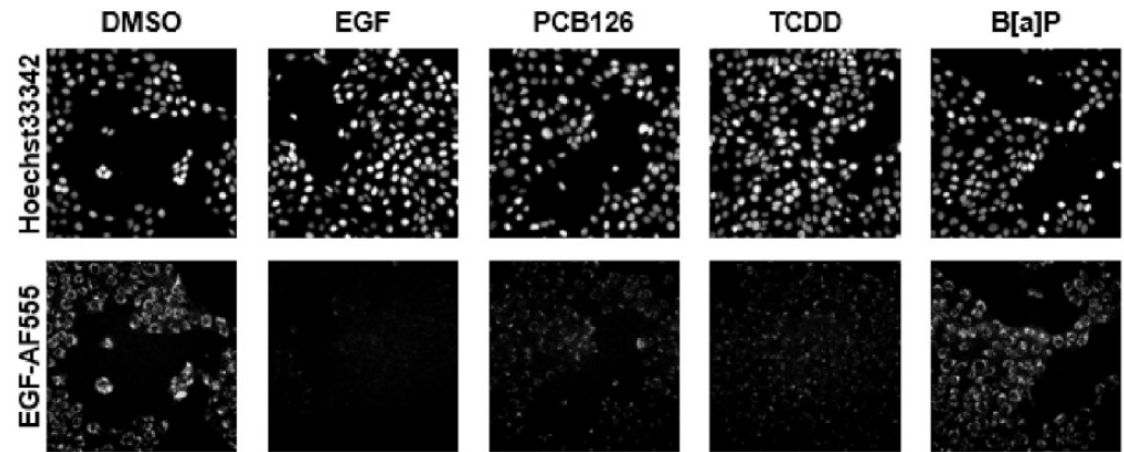
## AhR, EGFR, MAPK signalizace

- ▶ př. DL-PCBs a PAHs aktivujících AhR



## AhR, EGFR, MAPK signalizace

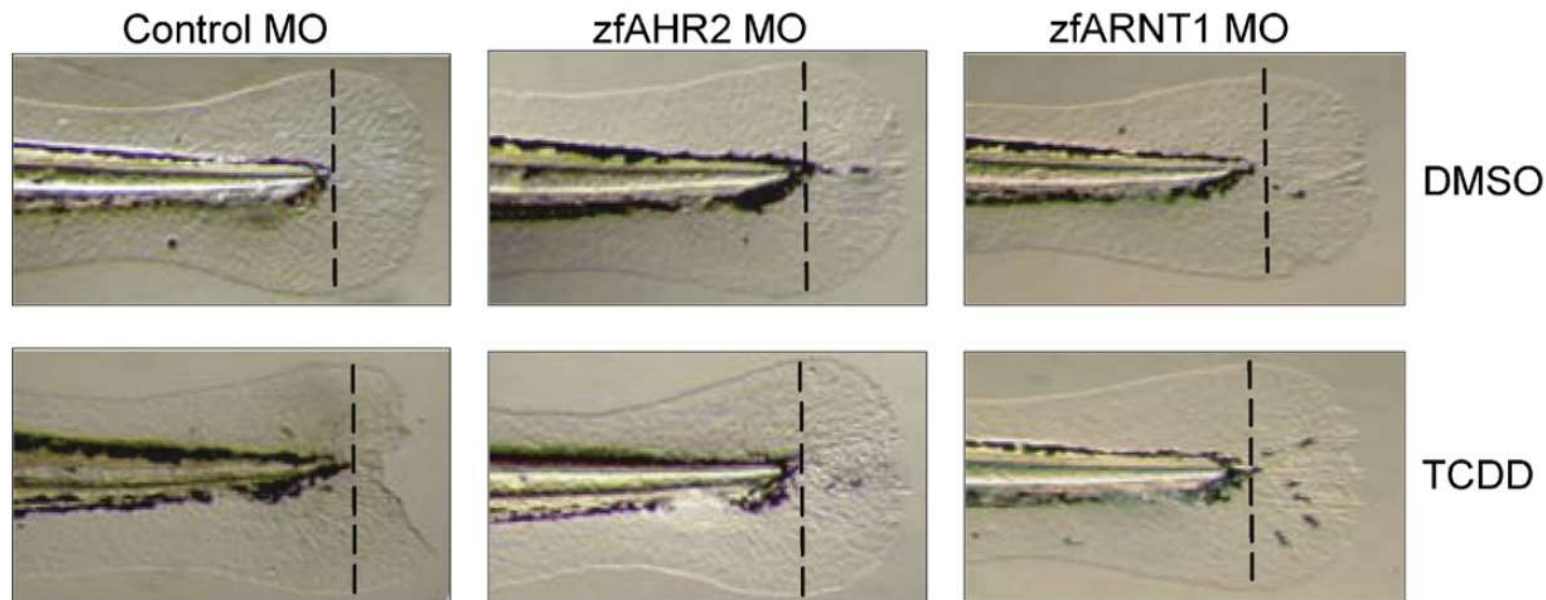
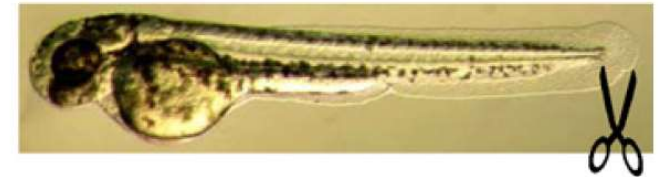
- ▶ aktivace AhR
- ▶ suprese EGFR
- ▶ aktivace MAPK



# Aktivace AhR a deregulace Wnt signalizace

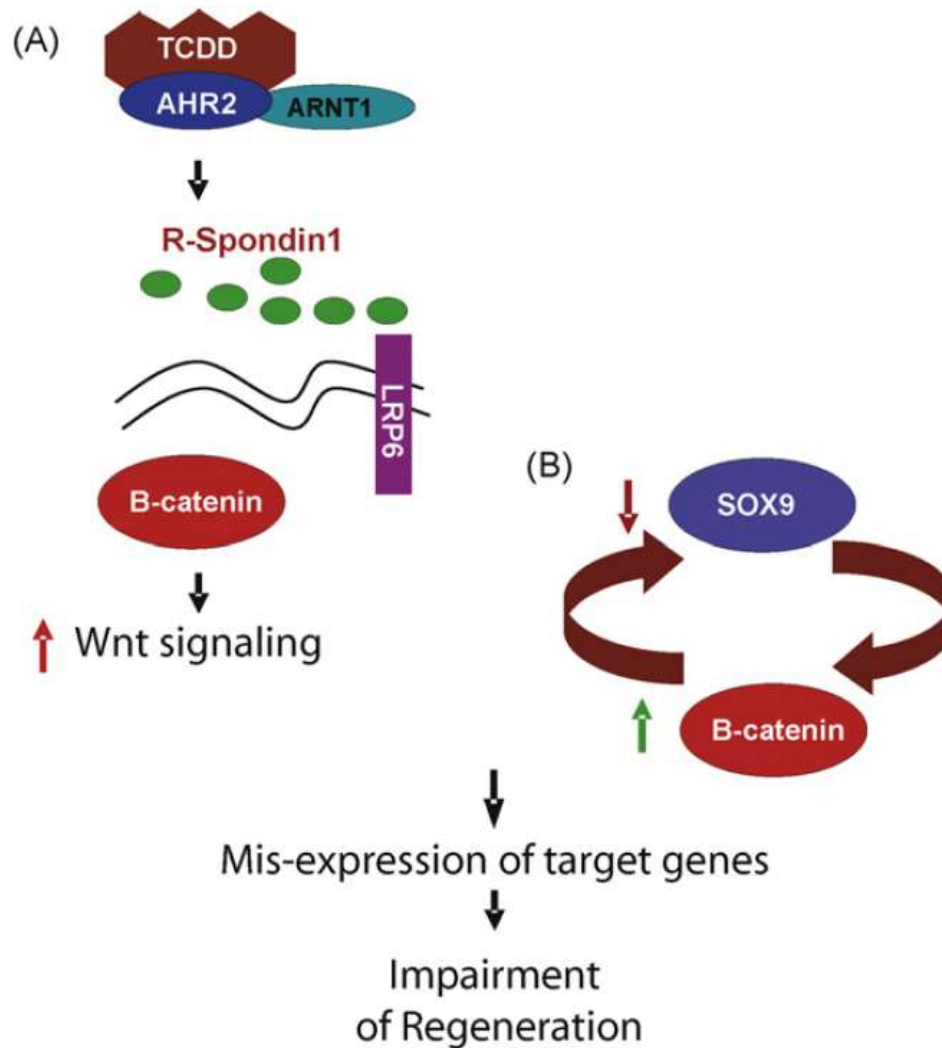
- ▶ př. AhR ligand TCDD
- ▶ disrupce tkáňové regenerace

48 hr Old Larvae



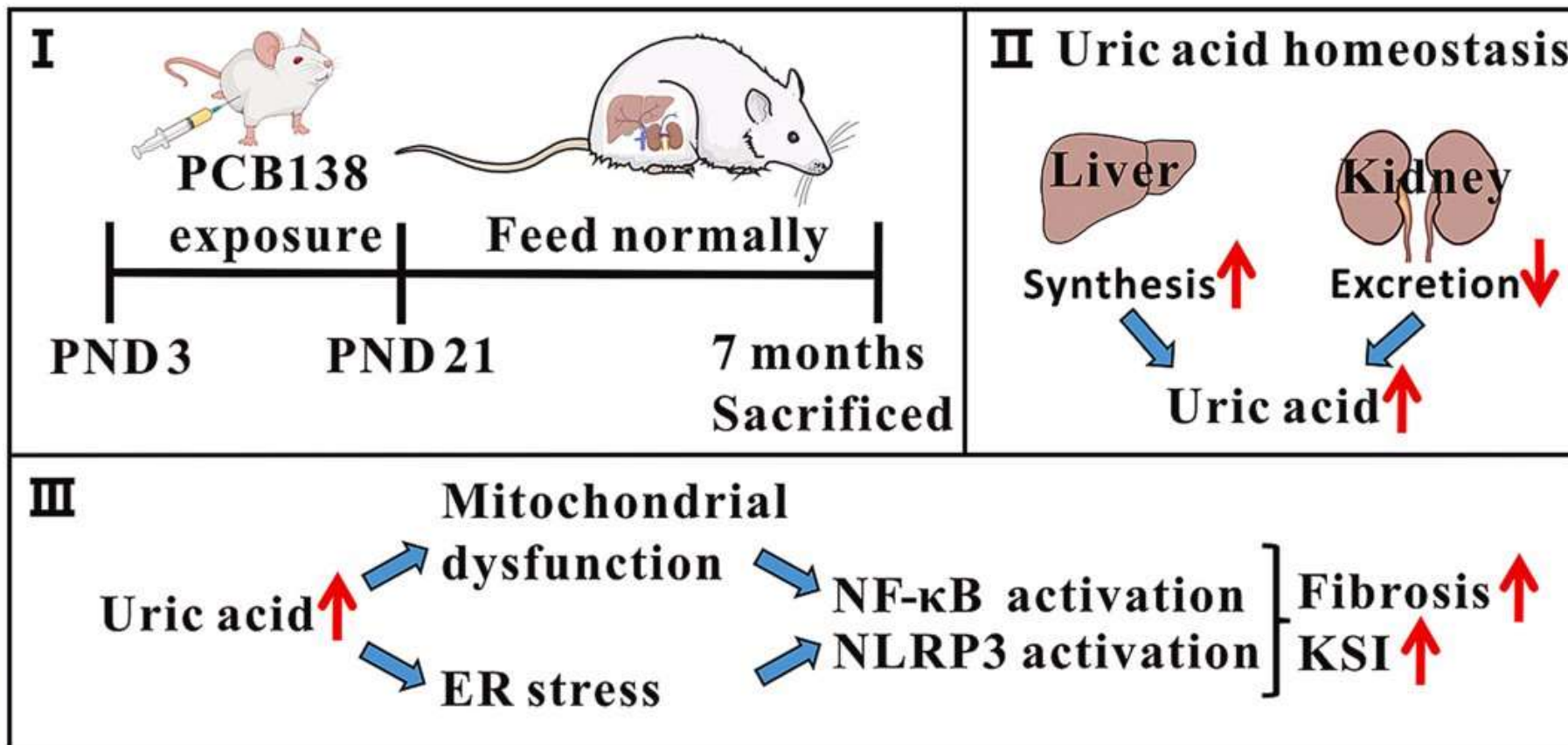
# Aktivace AhR a deregulace Wnt signalizace

➤ disrupce tkáňové regenerace



# Indukce TGFbeta/SMAD3 signalizace a fibrózy

➤ nefrotoxicita



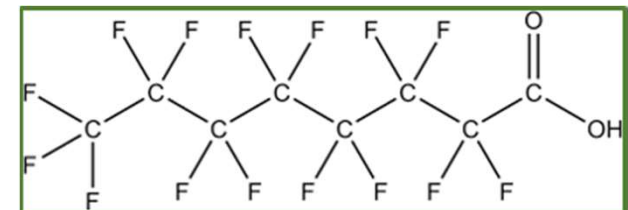
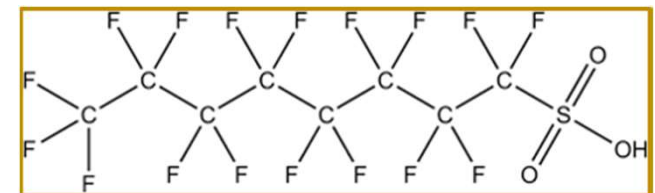
## Polutanty - PFAS

- ▶ per- a poly-fluoroalkylované látky-  
př. PFOA, PFOS
- ▶ oblečení, nábytek, obaly,  
nepřilnavé povrchy, kuchyňské  
náčiní...
- ▶ karcinogeny (testes, slinivka,  
játra, štítná žláza)
- ▶ PFOA – aktivace PPARalpha
- ▶ PFOS – disrupce beta-oxidace  
mastných kyselin

CDC

American cancer society

Zeng, 2019, Env Int

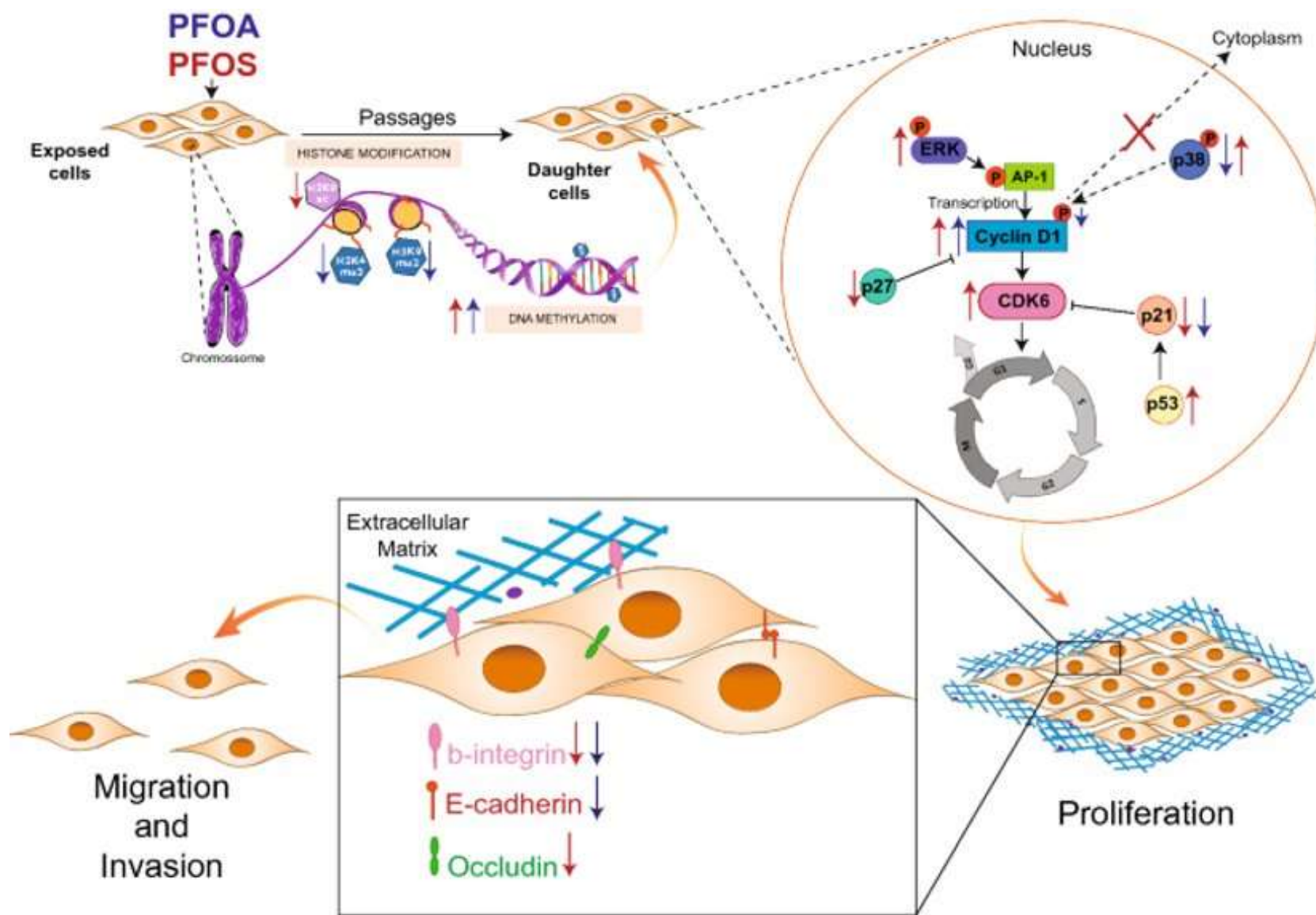




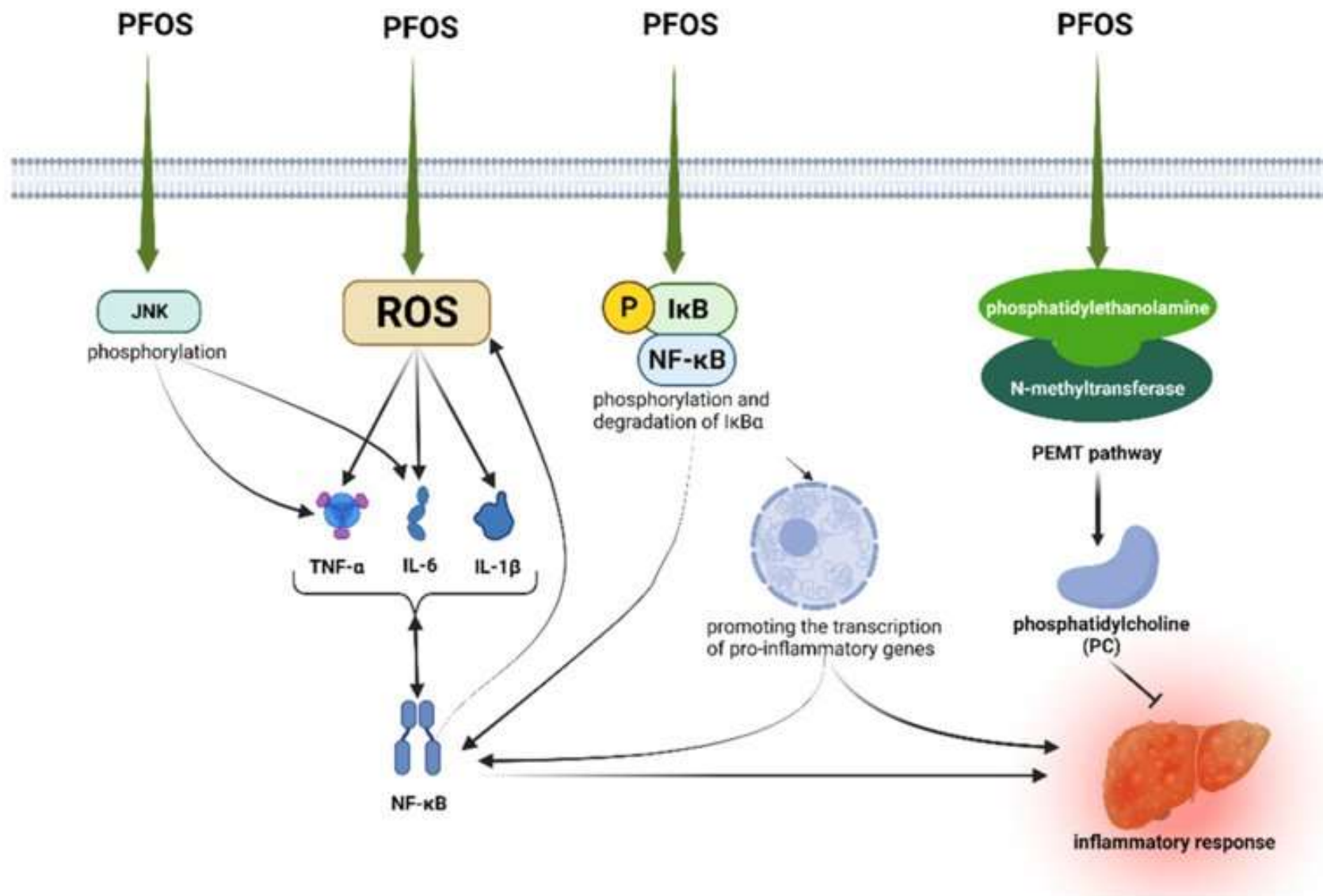
# Epigenetické změny, aktivace AP1 a p53

Pierozan, 2020, Arch Tox

► př. karcinogenní účinek PFAS

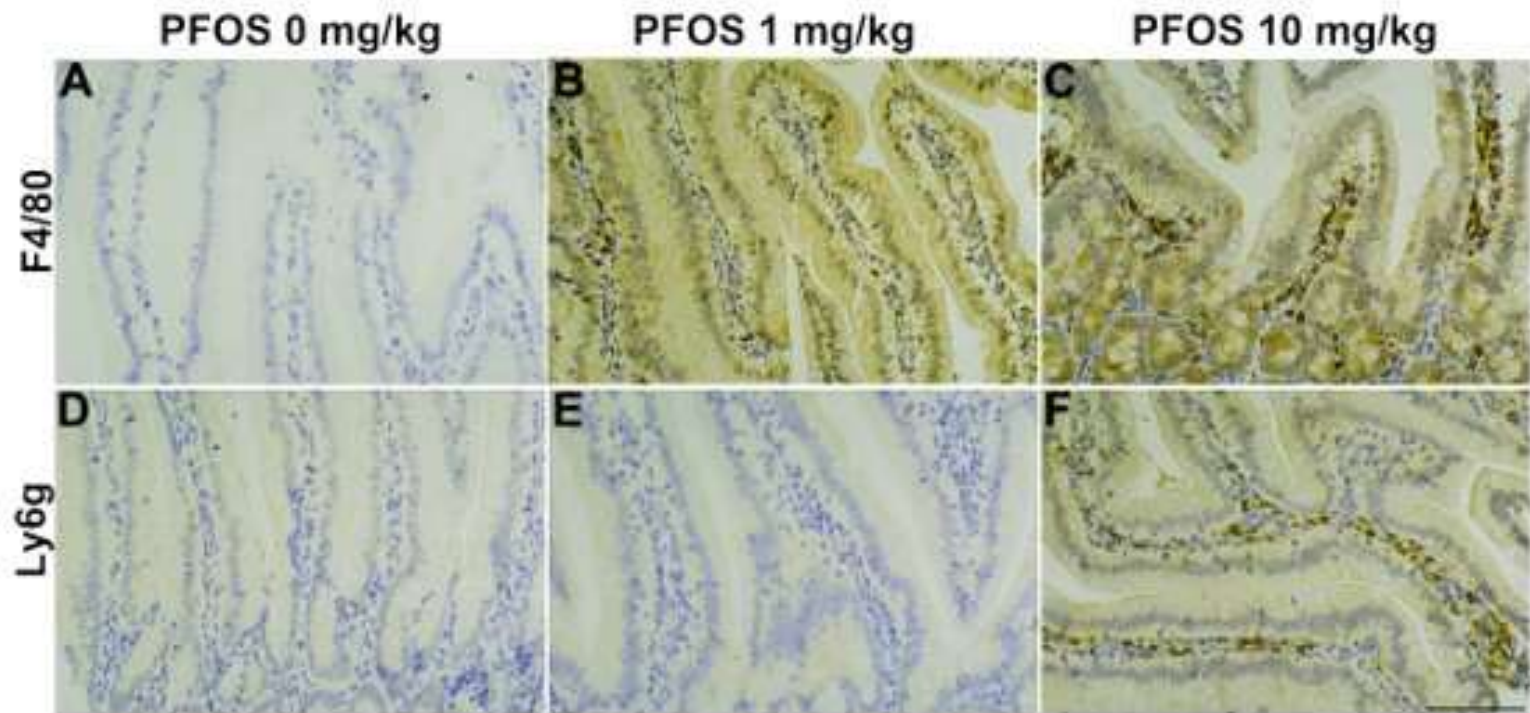


## Víceúrovňová indukce zánětu

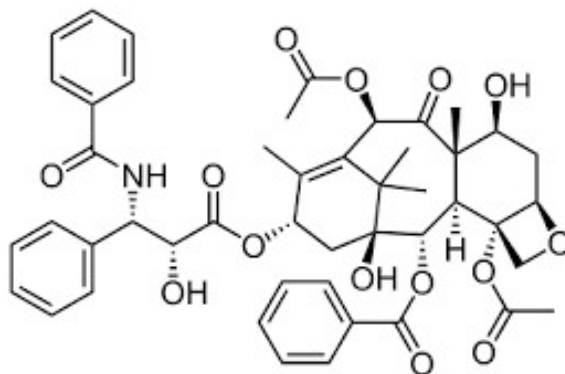


## Infiltrace buněk IS

- ▶ př. indukce infiltrace makrofágů do tkáně jejuny exponované PFOS

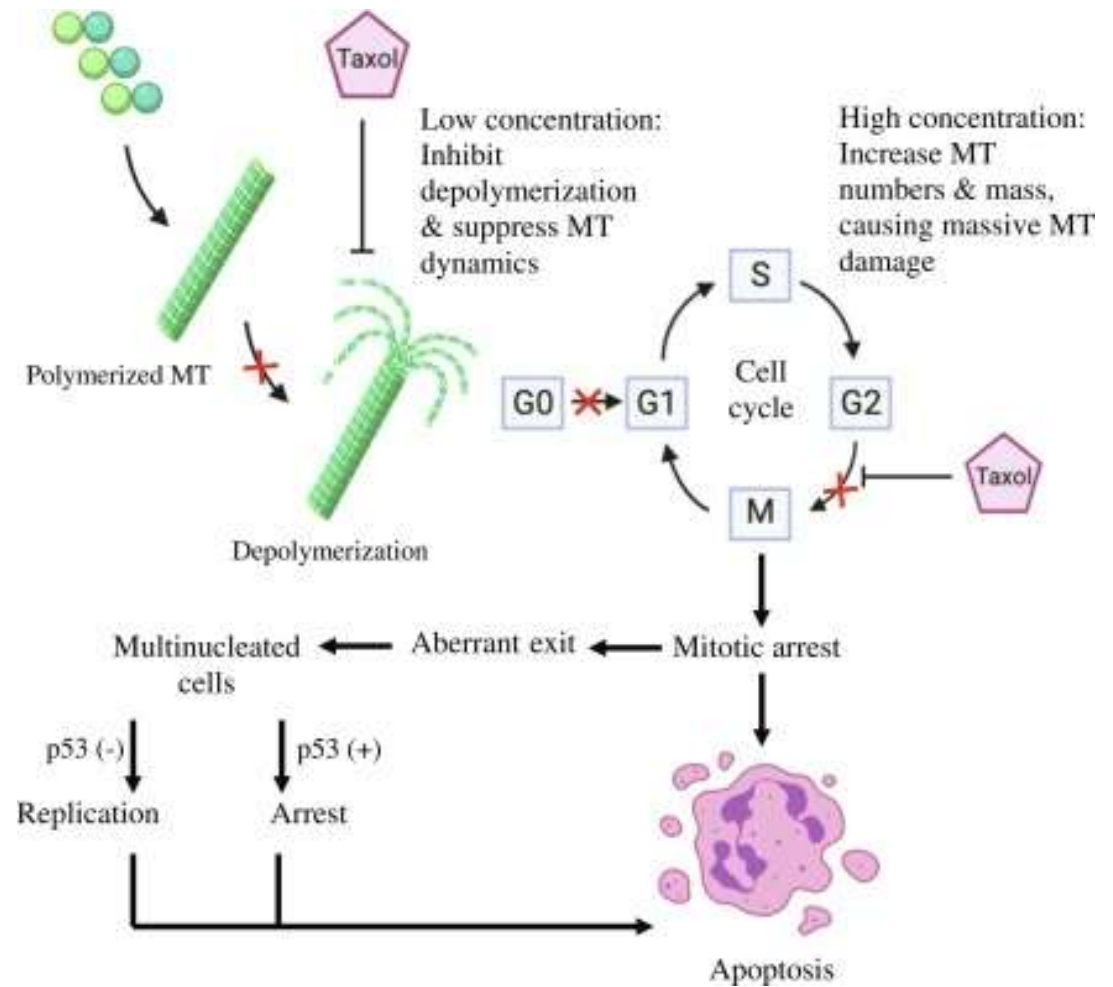
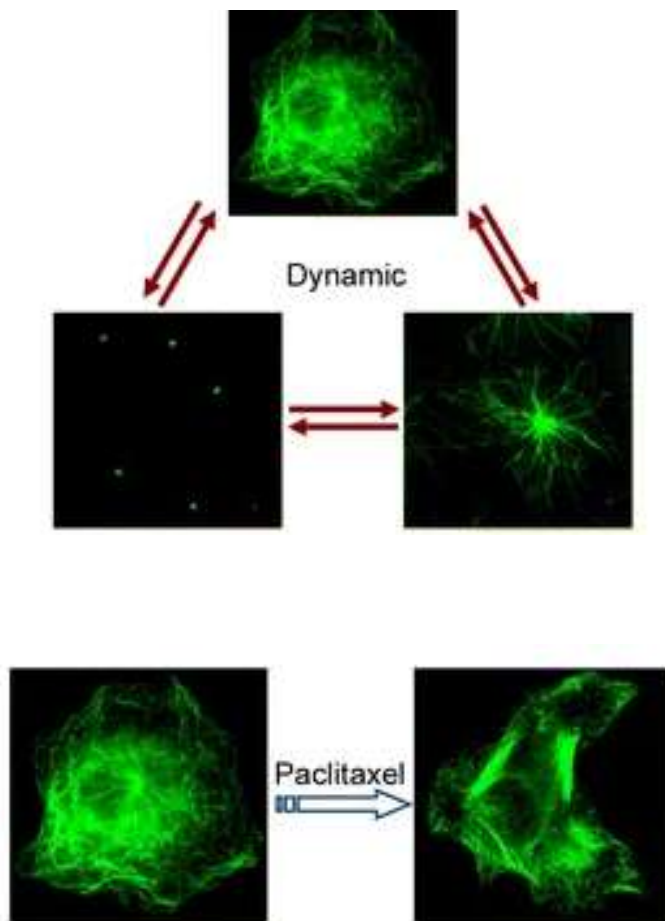


## Léčivo - Paclitaxel



- inhibuje depolymerizaci mikrotubulů
- následkem je zástava cyklu
- deregulace signálních drah např. p53

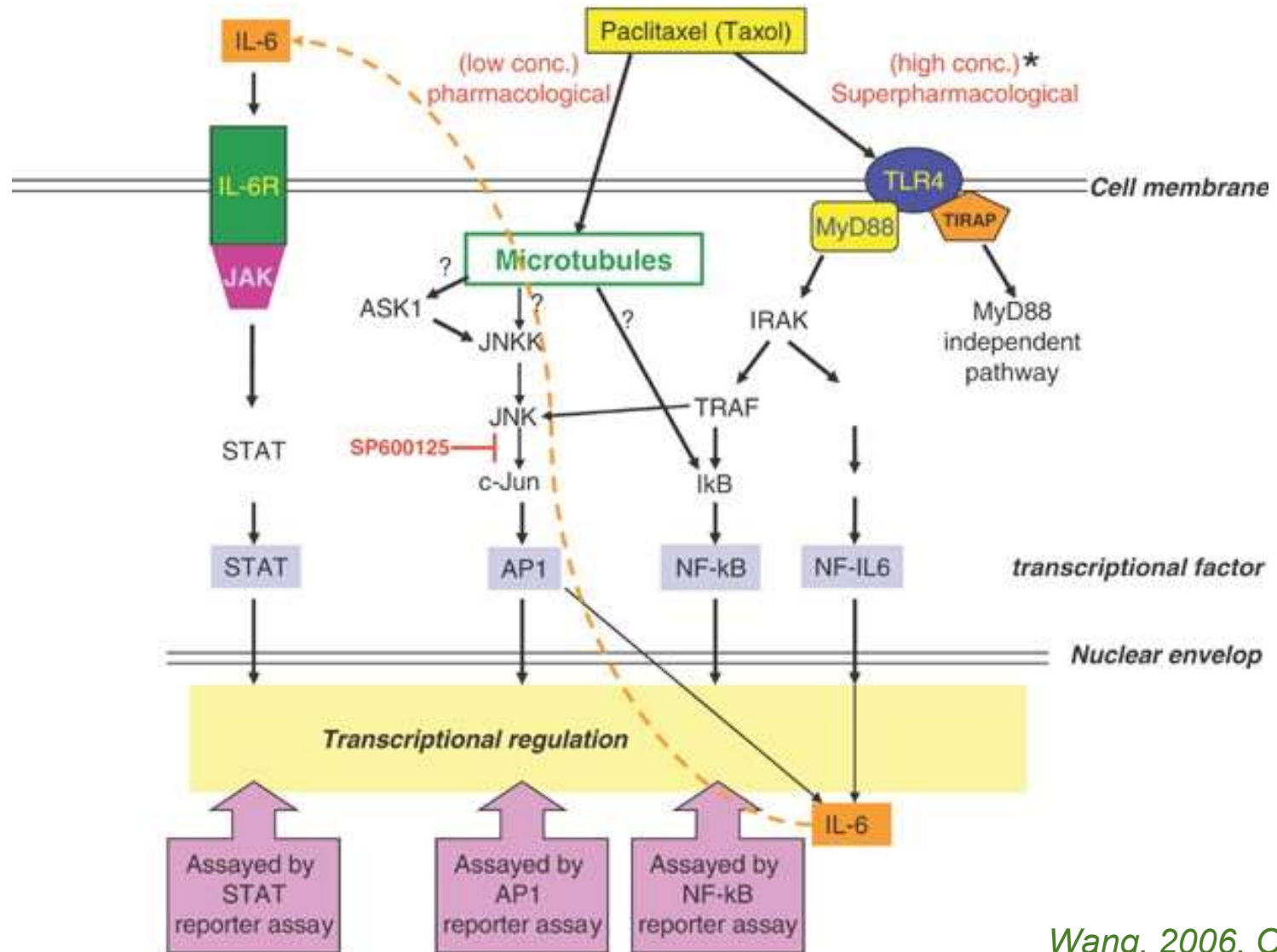
# Léčivo - Paclitaxel



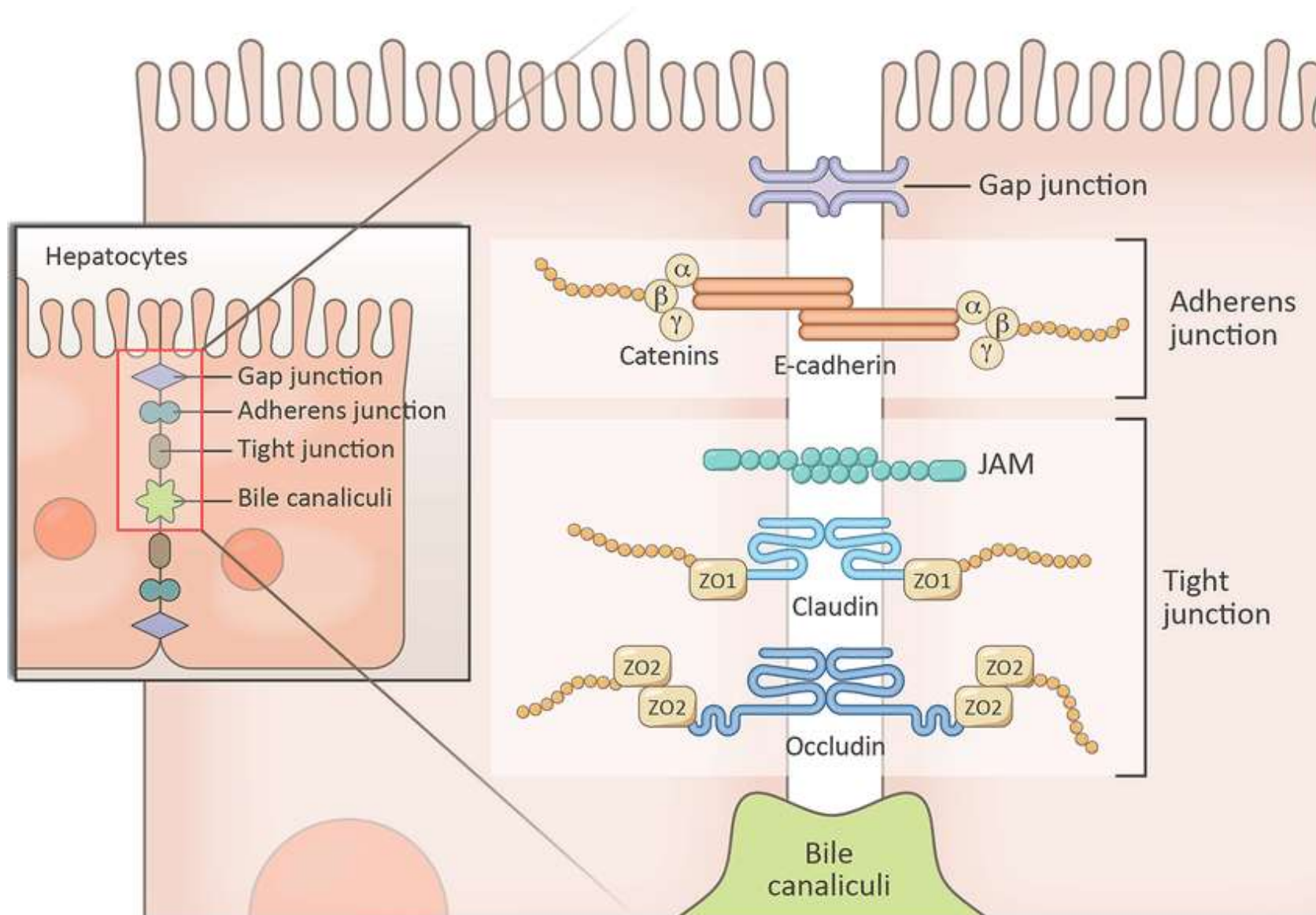
- [Lim, 2022, Paclitaxel](#)
- [Andre, 2002, FEBS Lett](#)
- [Shi, 2017, Cancer Chem Pharm](#)

# Aktivace IL6, TLR, AP1 signalizace

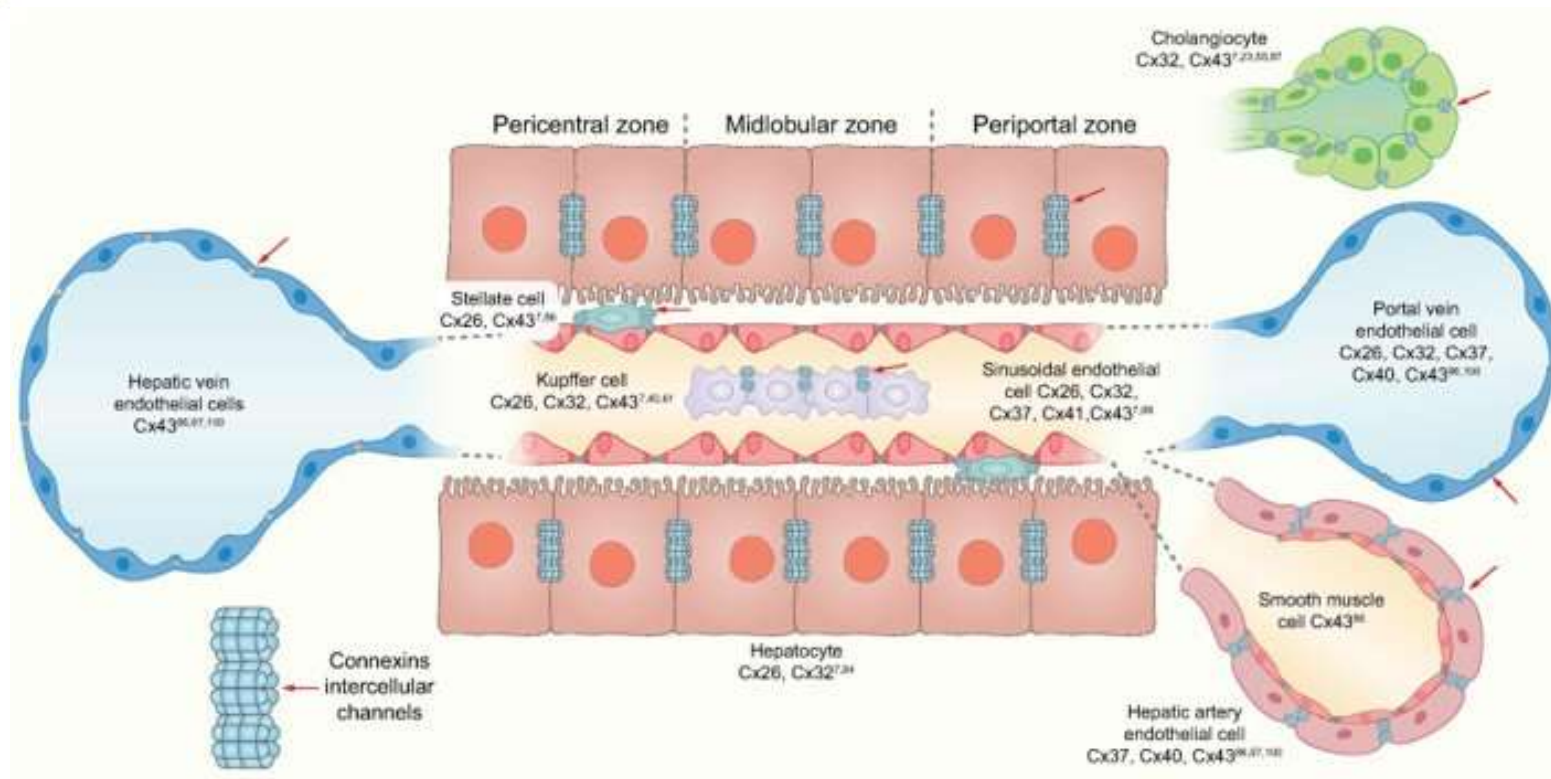
➤ př. paclitaxel



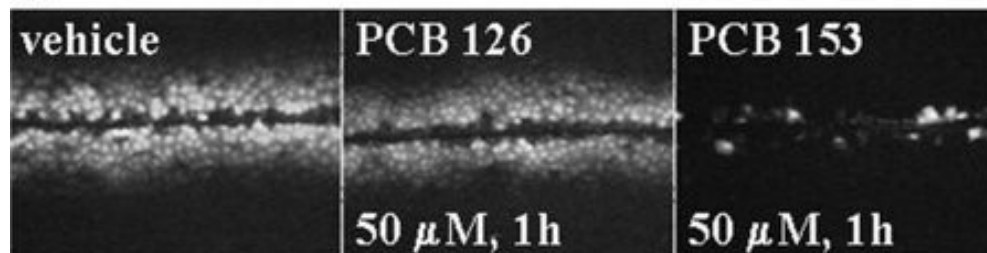
# Mezibuněčná spojení



# Inhibice komunikace GJ



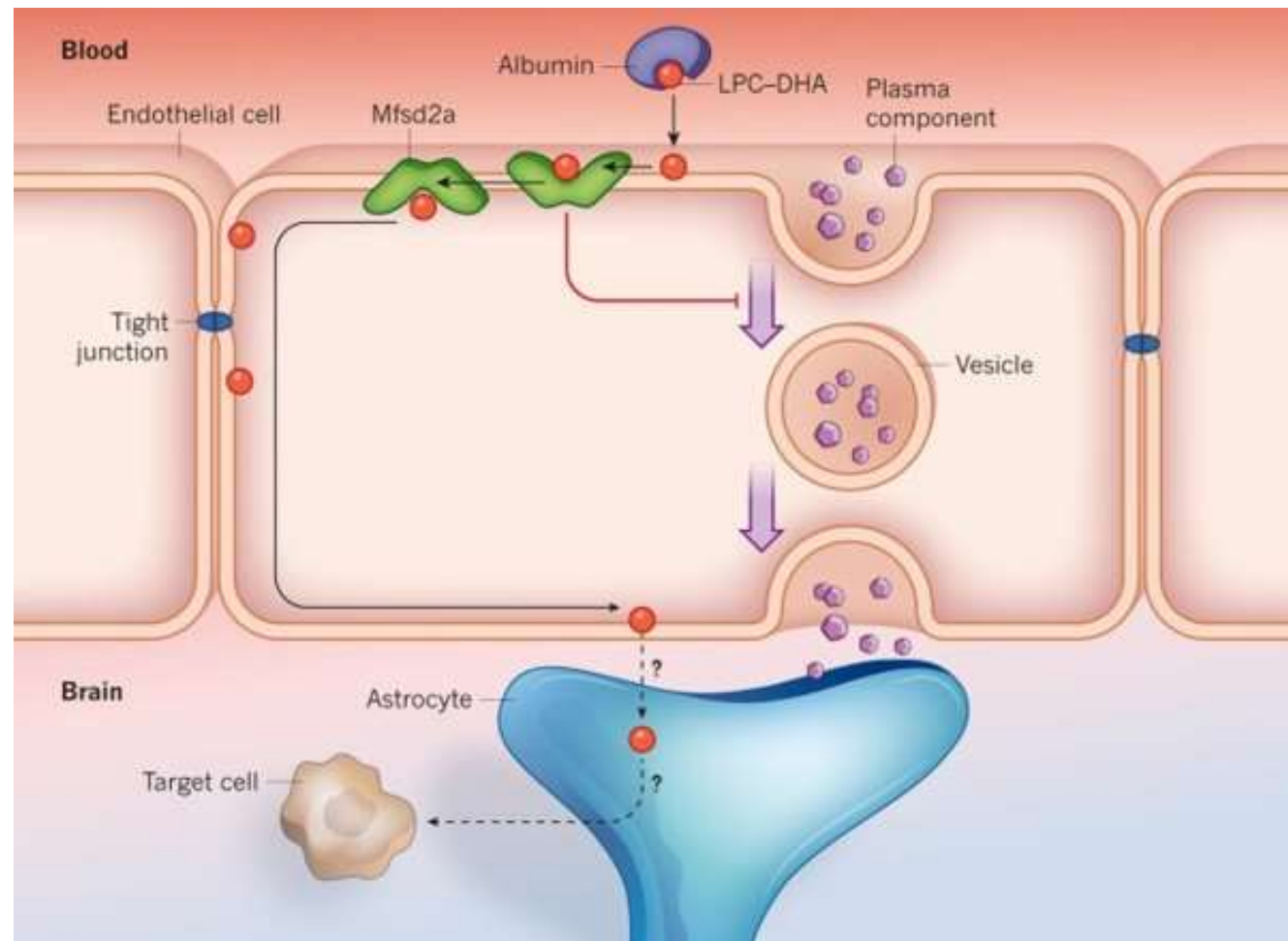
➔ př. NDL-PCBs



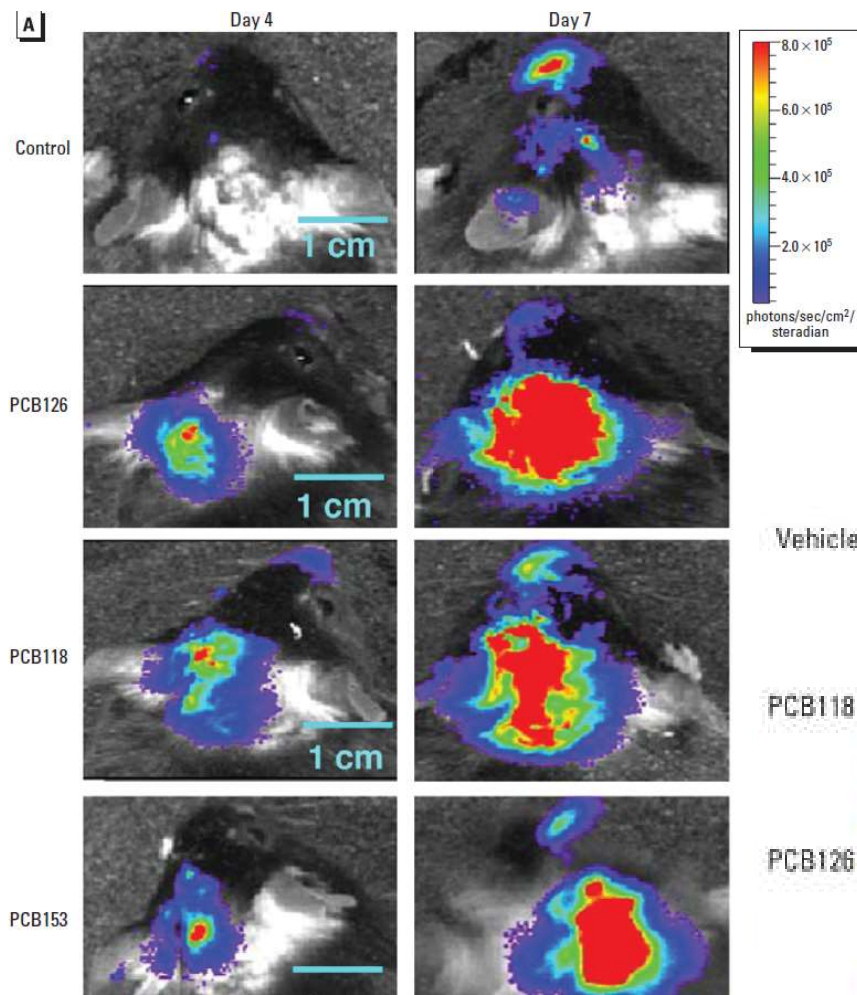


## Deregulace komunikace TJ

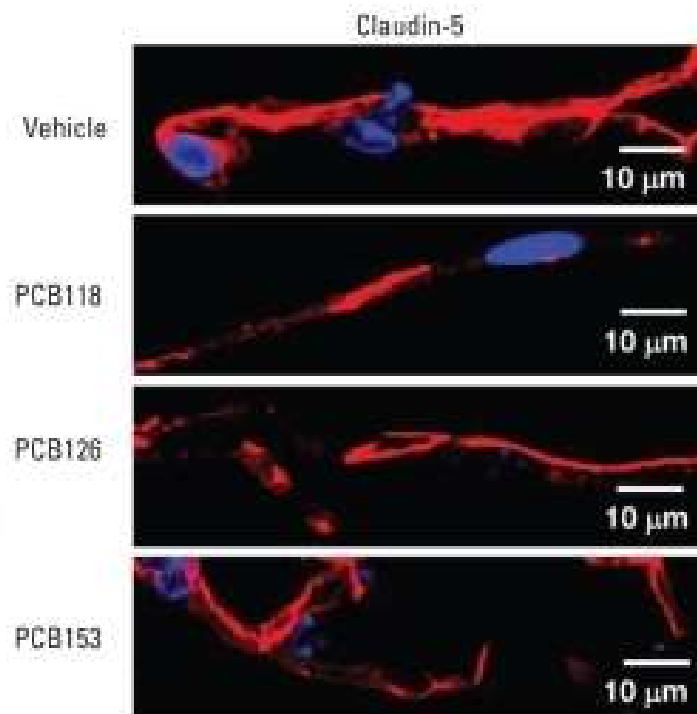
- ▶ př. Blood-brain barrier



# Deregulace komunikace TJ

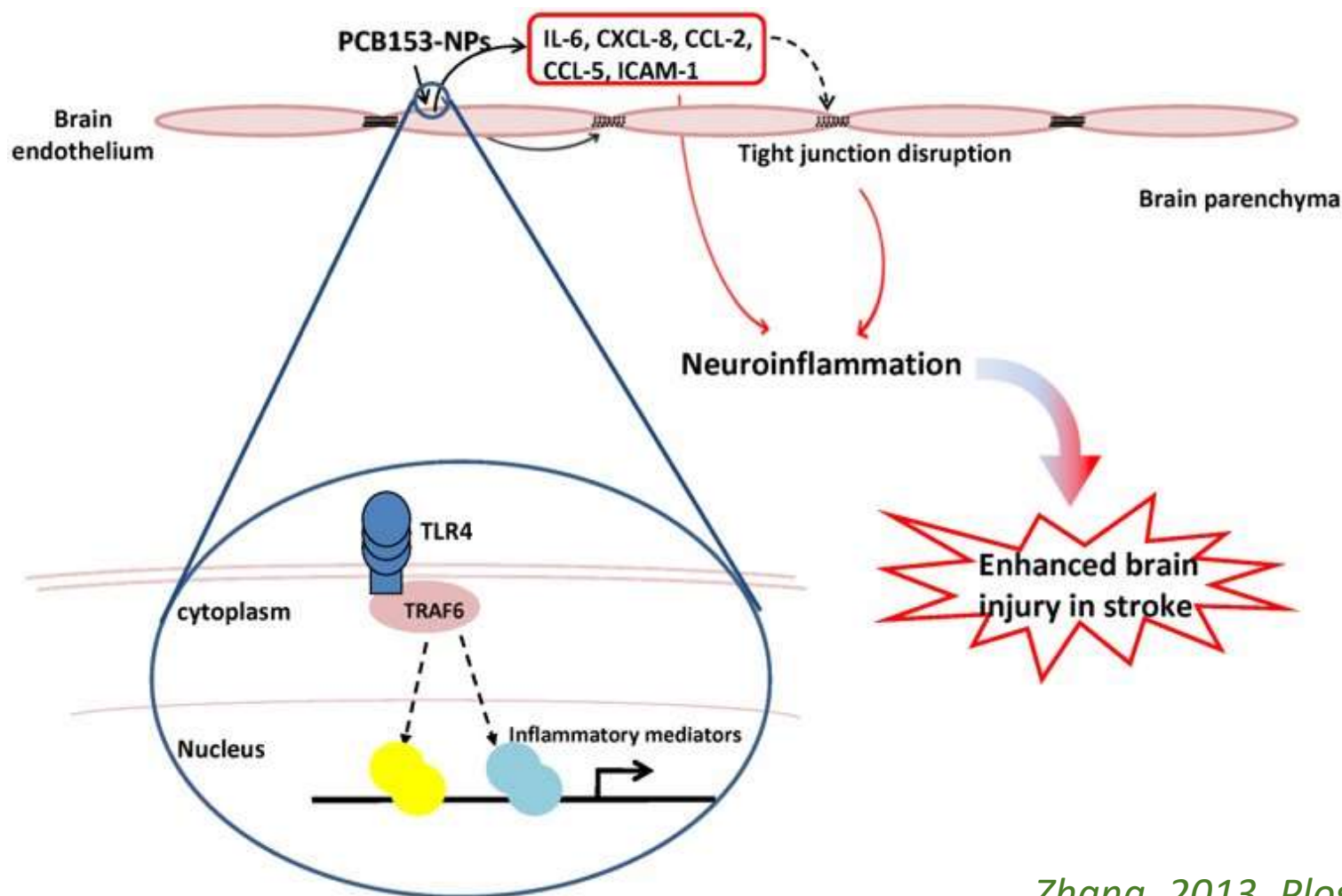


➔ př. PCBs



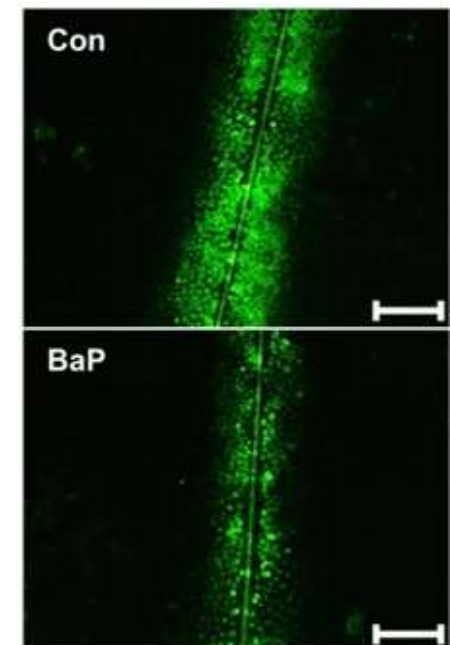
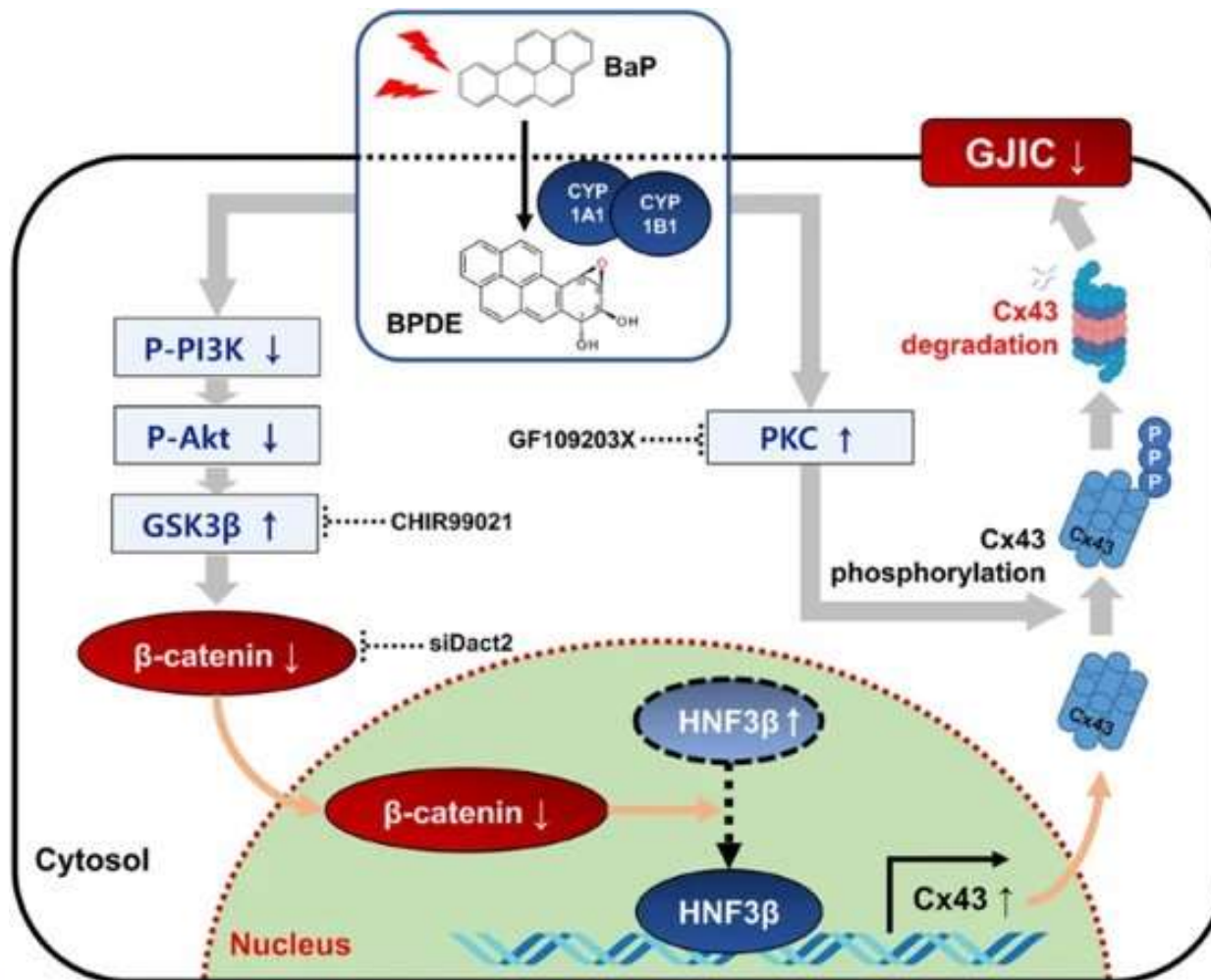
## Deregulace komunikace TJ

- ▶ př. nanočástice s navázanými polutanty na povrchu a prostup přes BBB



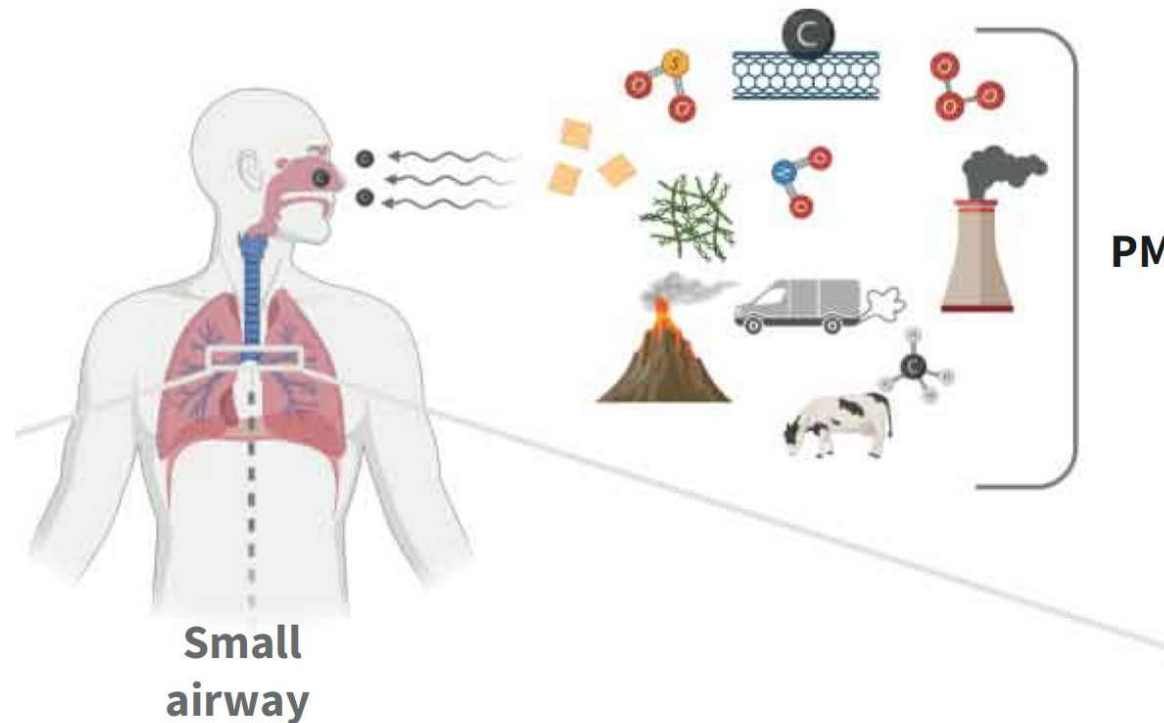
# Disrupce mezibuněčné komunikace AJ, GJ

- ▶ př. AhR ligand Benzo[a]pyrene (BaP)



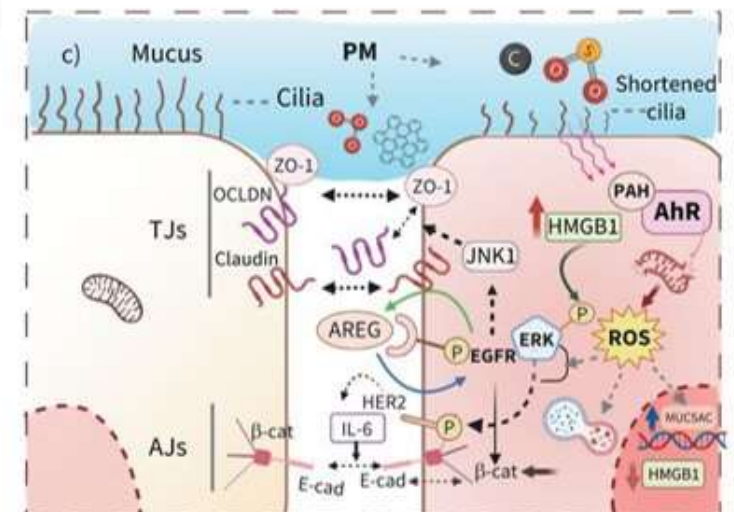
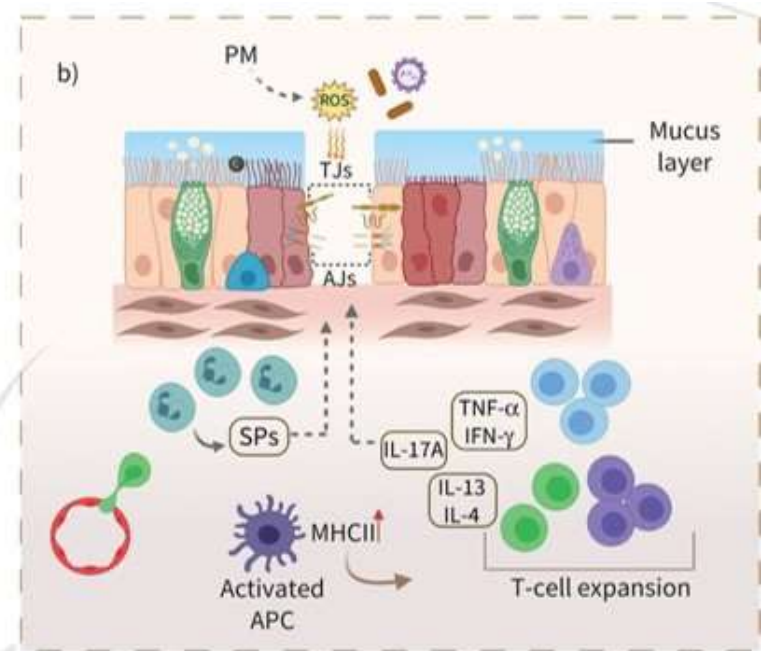
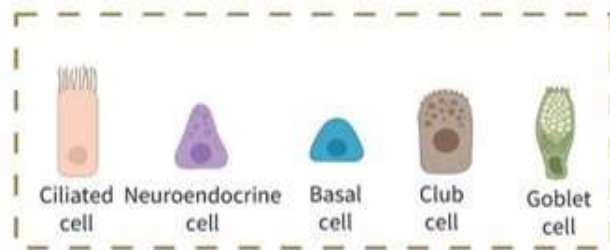
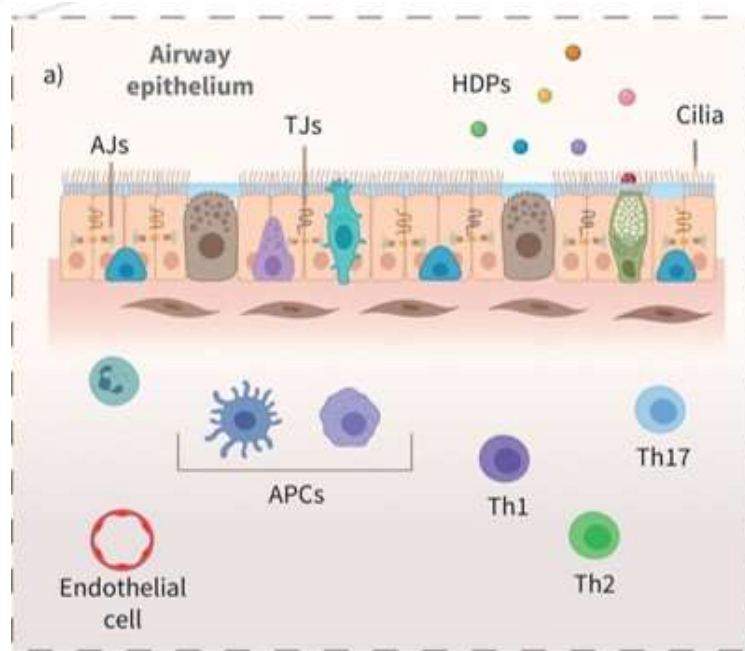
## Pevné částice (PM)

- ▶ př. dysfunkce epiteliální bariéry plic indukovaná pevnými částicemi produkovanými různými zdroji



- ▶ deregulace mezibuněčných spojů, EGFR/ERK a AhR signalizace, indukce oxidativního stresu, prozánětlivé odpovědi

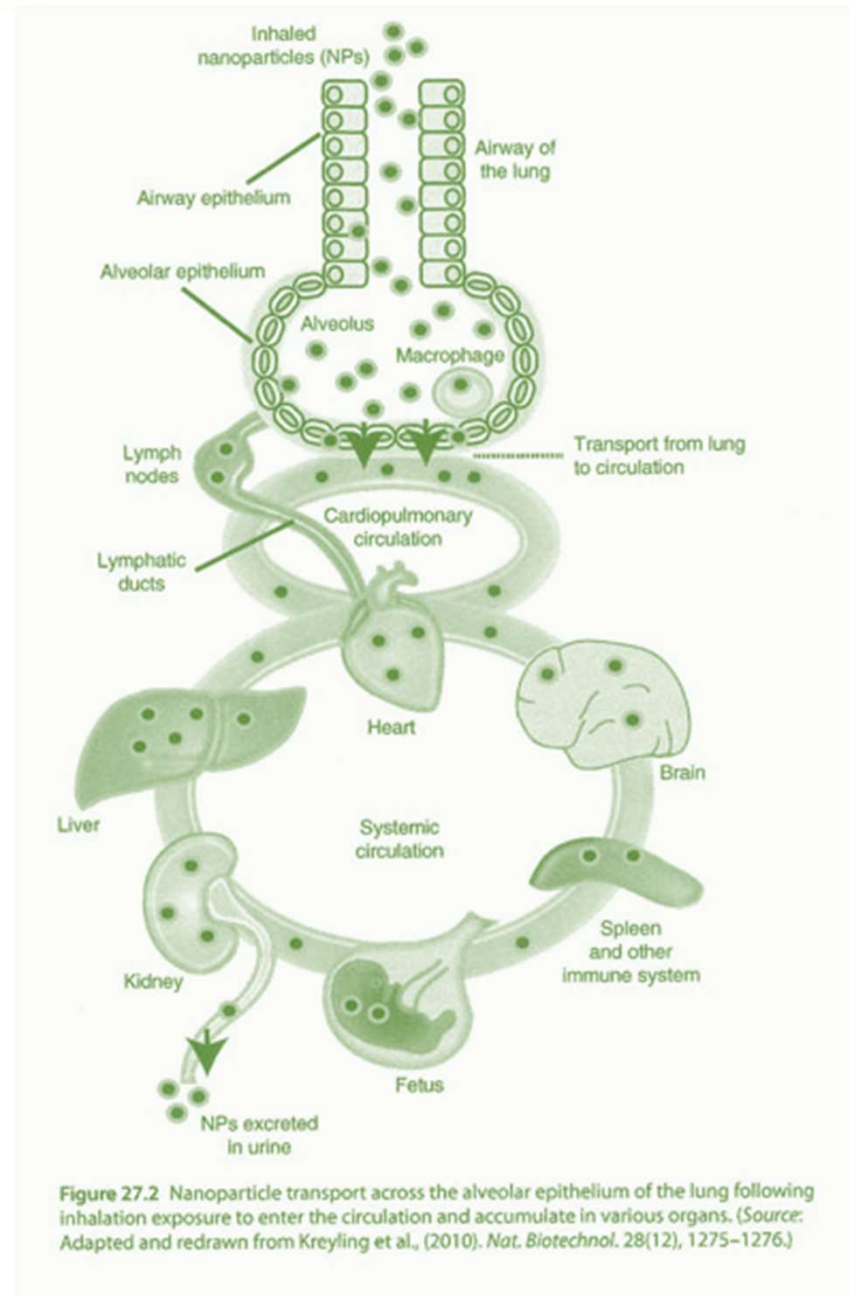
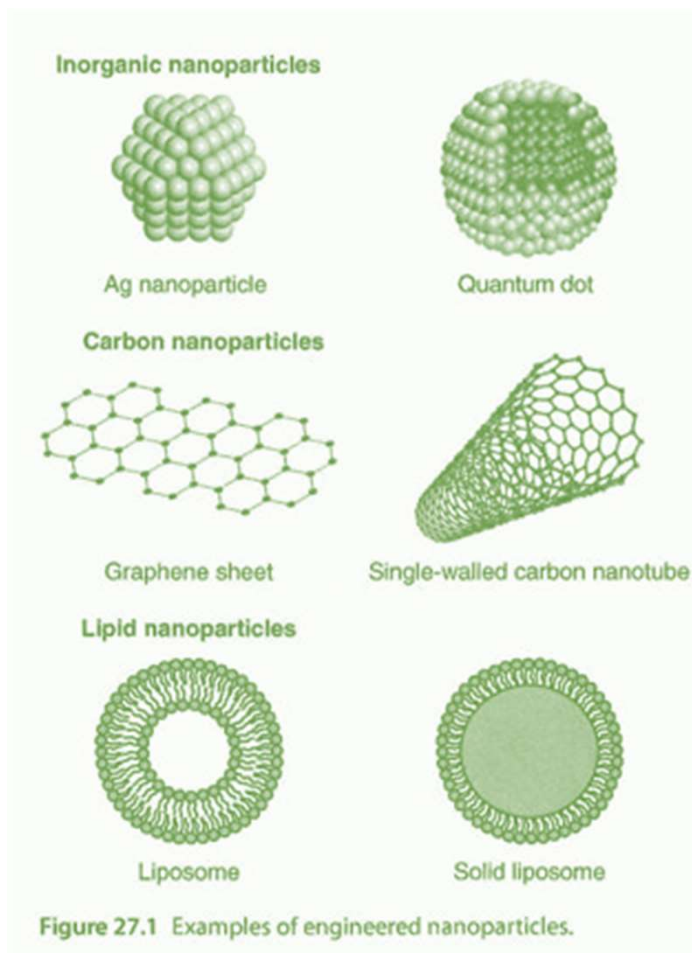
# Multiúrovňová deregulace signalizace



## Nanočástice (NP)

- 100 nm a méně
- průmysl, lékařství
- nanočástice kovu/oxidu kovu (př. Mn, Au, Ag, SiO<sub>2</sub>, ZnO<sub>2</sub>, TiO<sub>2</sub>, C)
- akumulace v tkáních – př. plíce, gastrointestinální trakt, nervový systém
- indukce oxidativního stresu, interference mitochondriální activity atp.

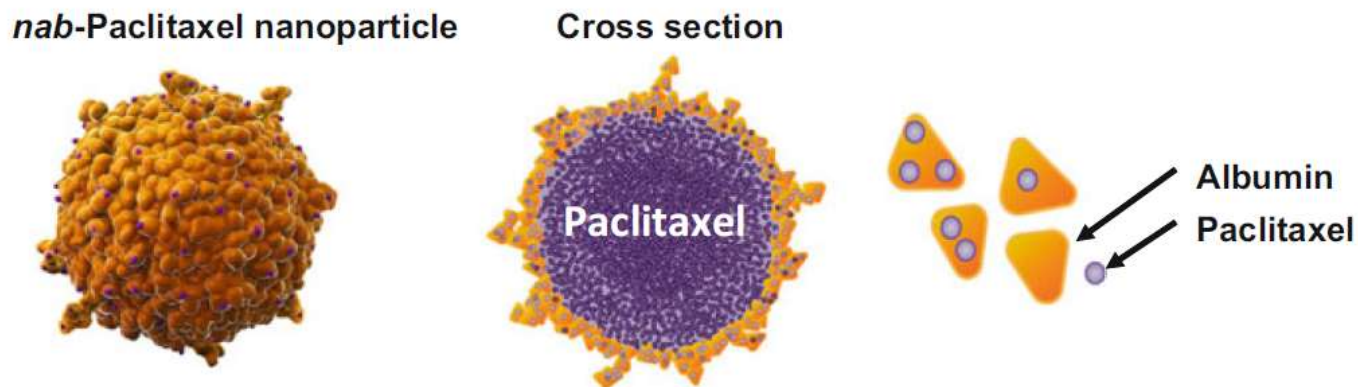
# Nanočástice (NP)





## Terapeutické NP

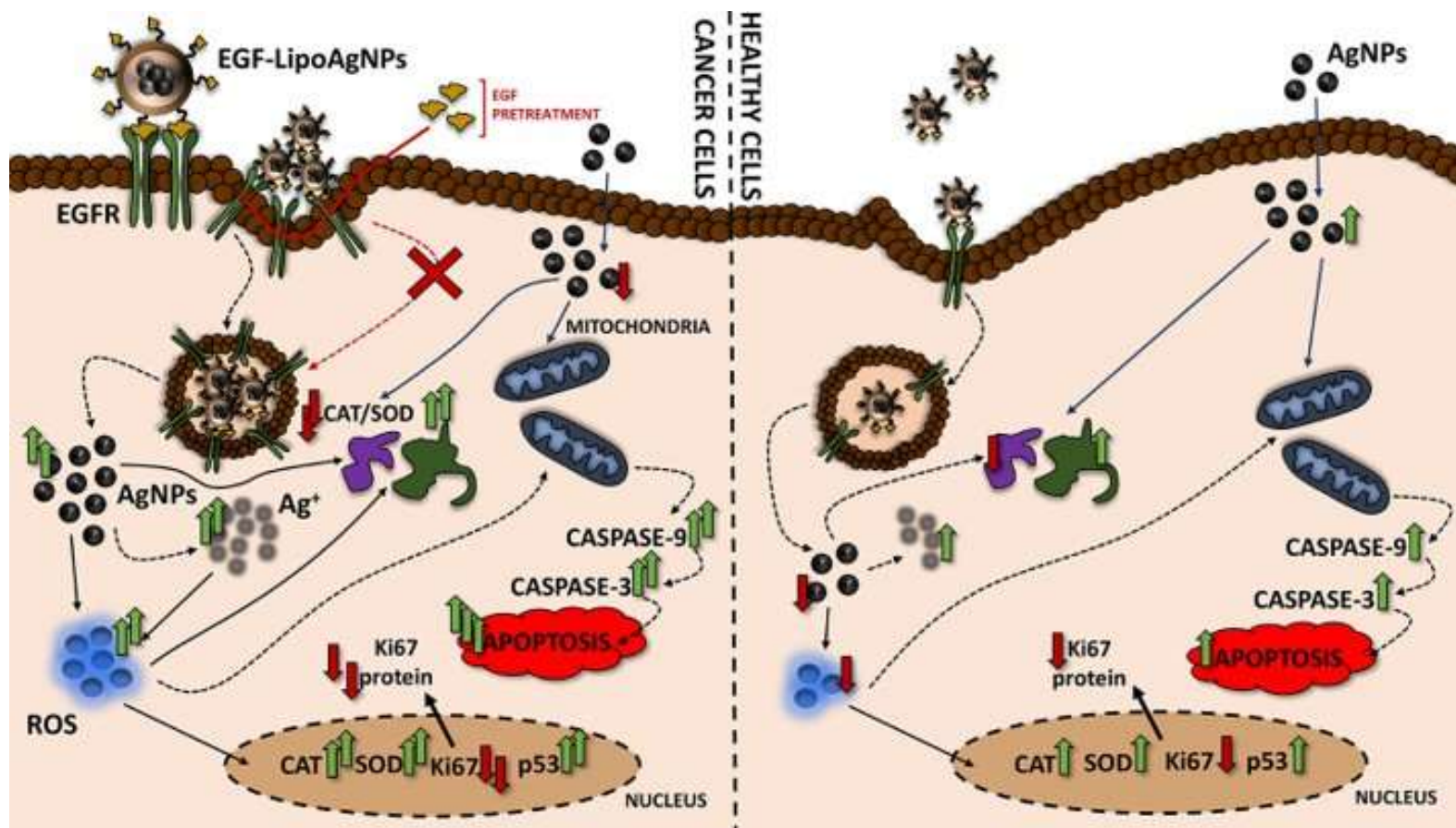
- ▶ př. Abraxane - stabilizace léčiva při průchodu krevním řečištěm



**Fig. 6.1** Schematic representation of a *nab*-paclitaxel nanoparticle. Albumin-bound paclitaxel nanoparticle has a mean particle size of 130 nm. The interaction between albumin and paclitaxel is non-covalent. The cross-section view shows that a layer of albumin molecules with a certain level of cross-linking forms the nanoparticle surface, which surrounds a hydrophobic core containing amorphous and noncrystalline paclitaxel

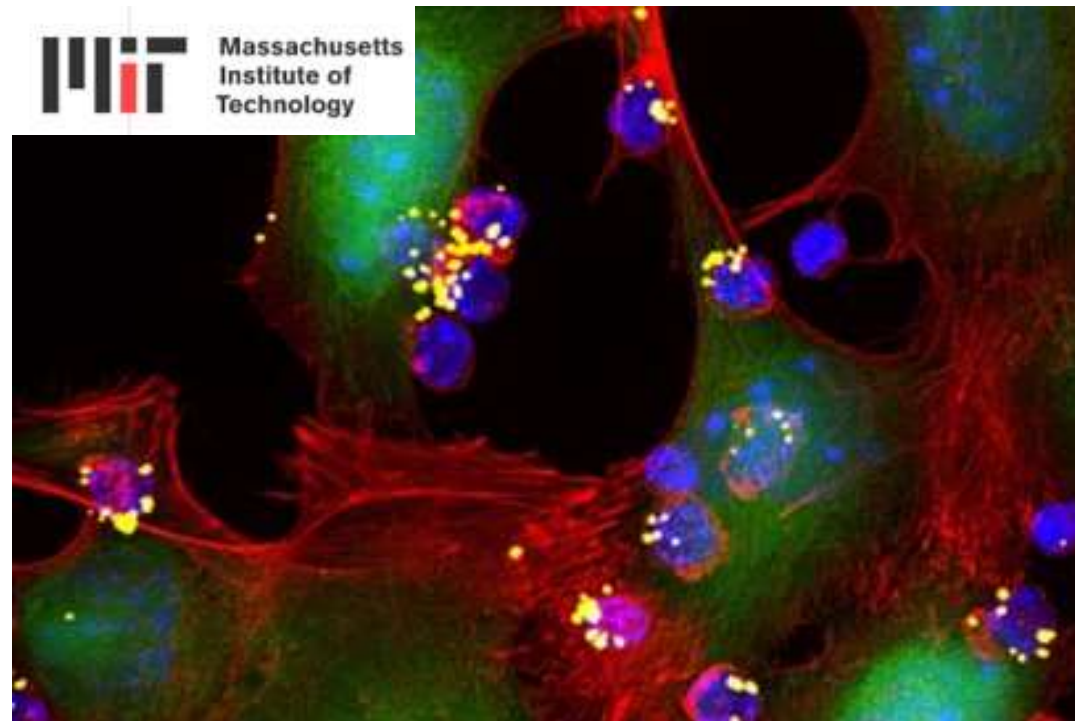
# Indukce oxidativního stresu a apoptózy

- ▶ př. terapeutická nanočástice EGF-LipoAgNPs

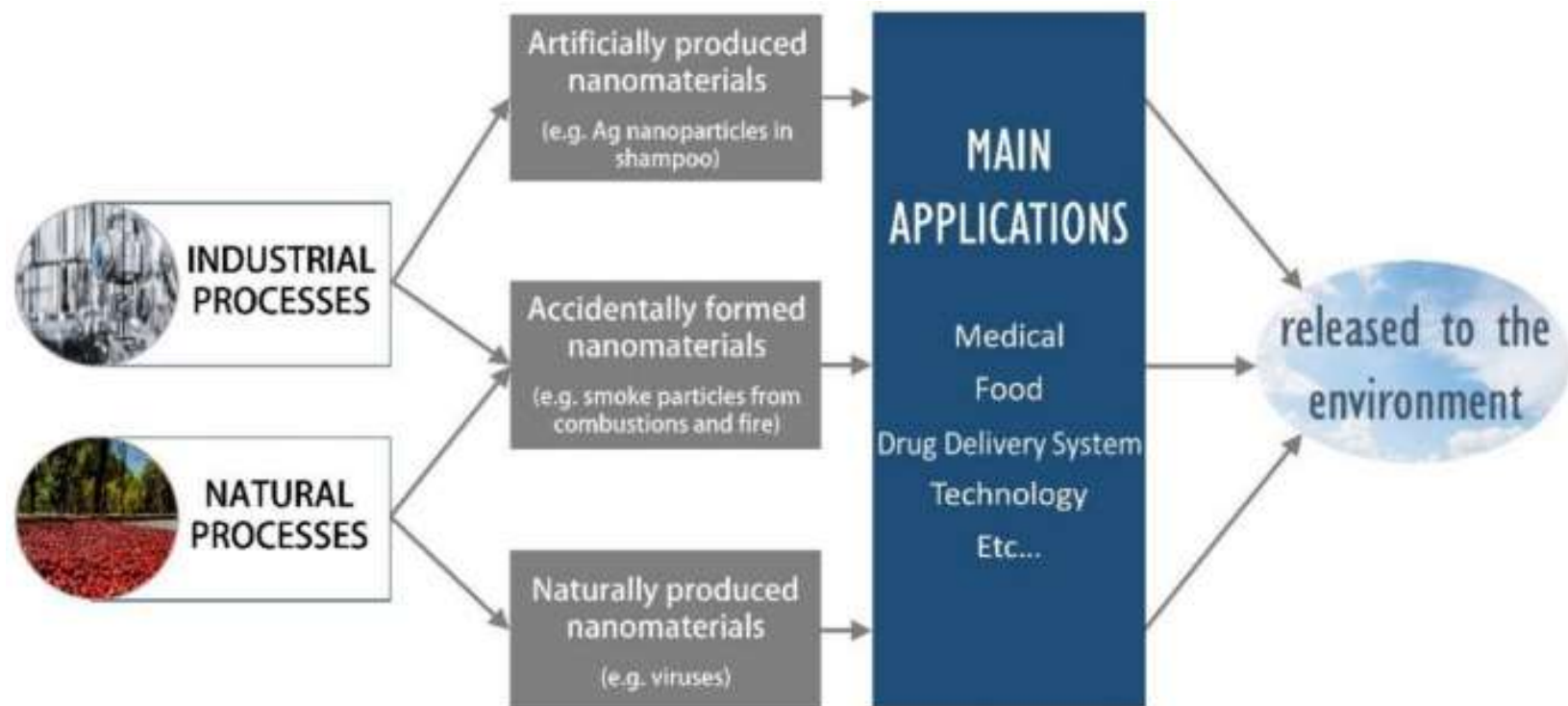


## Terapeutické NP

- ▶ př. NPs jako terapeutické „batůžky“ proti-nádorových T-buněk
- ▶ vs. nechtěná interakce NP se složkami IS – imunotoxicita (makrofágy, APC, žírné buňky, lymfocyty)



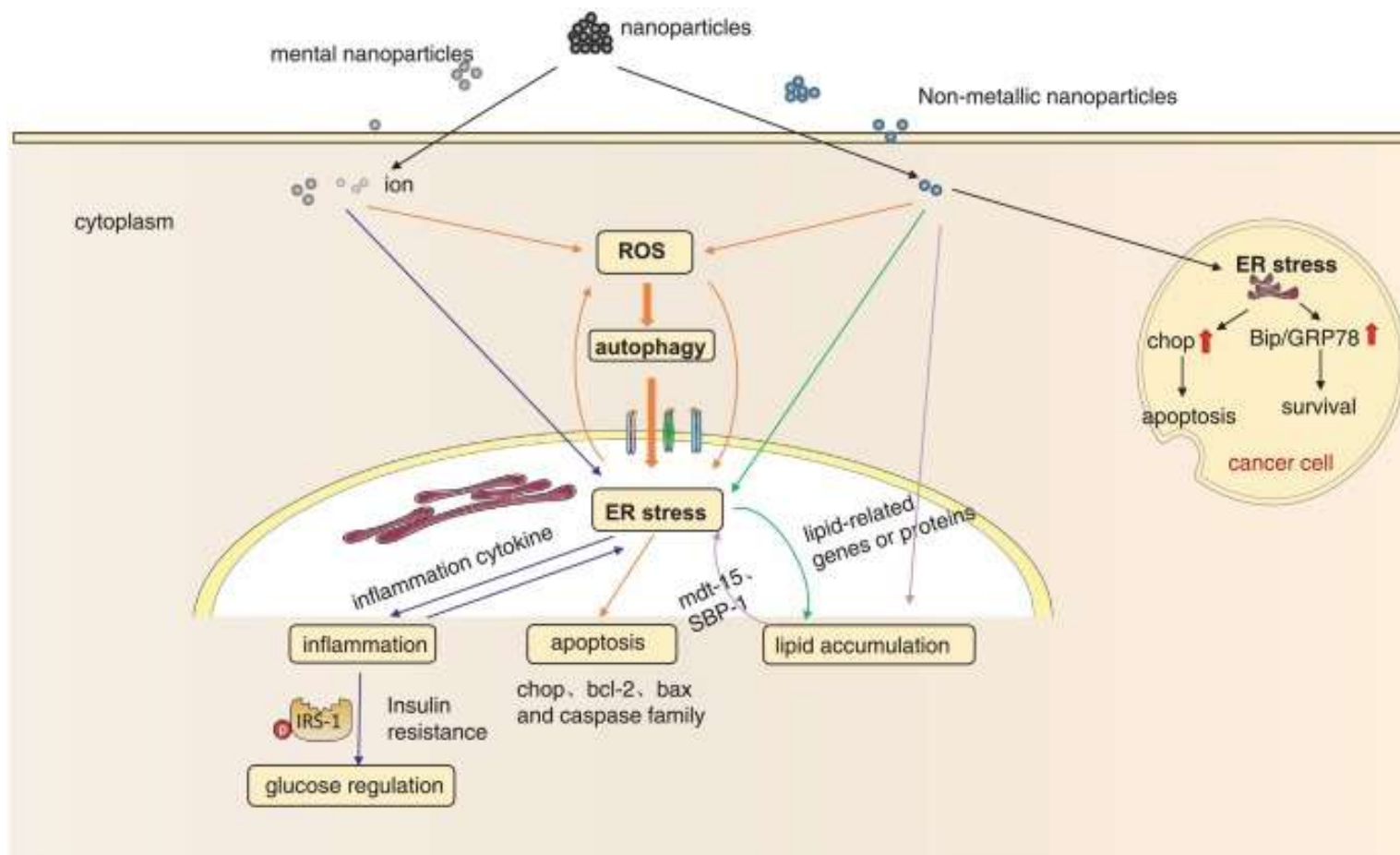
## Environmentální NP



- široké spektrum NP = široké spektrum signálních deregulací
- př. ROX, zánět (TLRs, lipidy), endocytóza (“efekt trójského koně”), EGFR, VEGFR, ER stres, Ca<sup>2+</sup> signalizace

# ER stres

➔ př. nanočástice

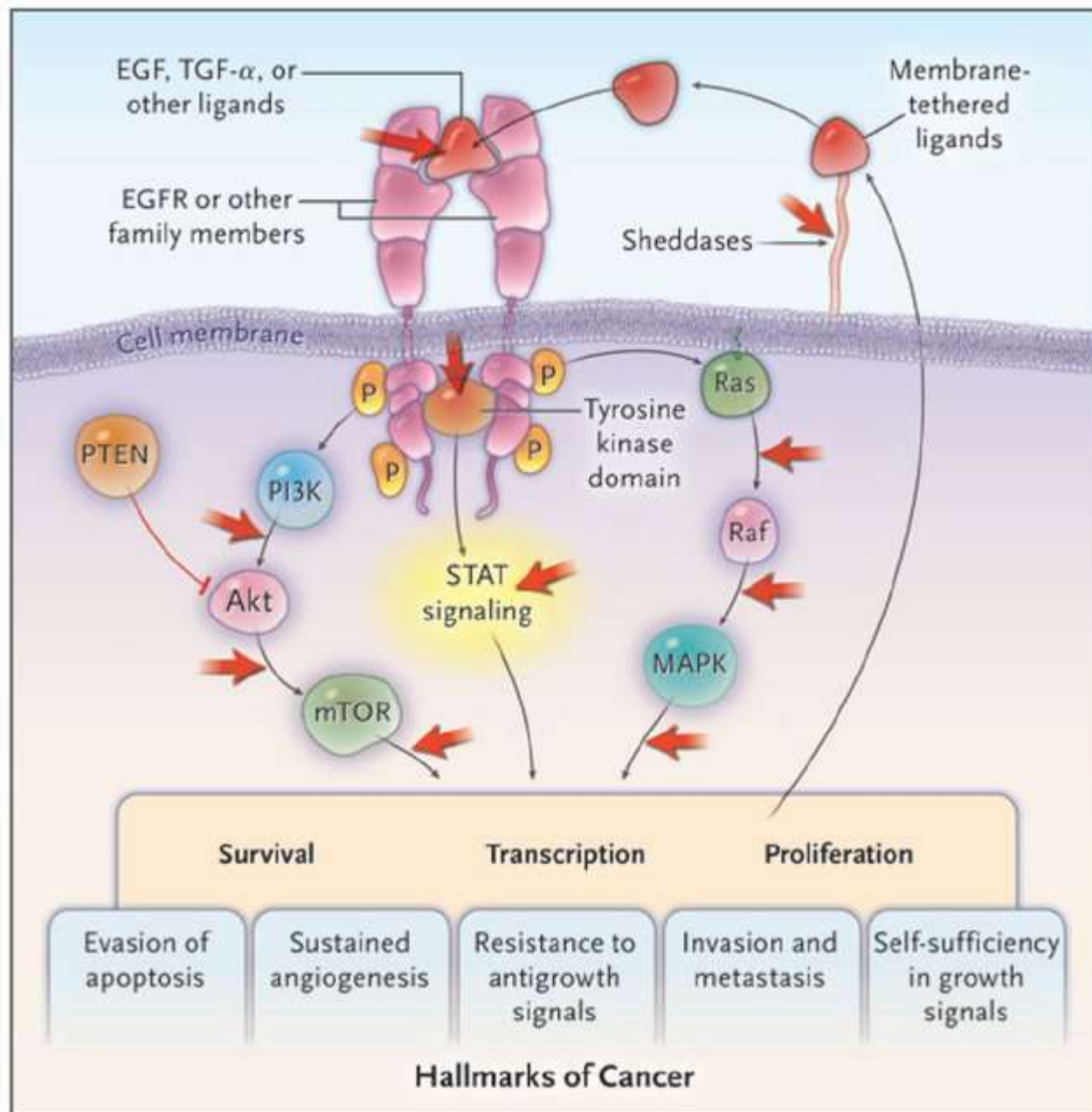


## Shrnutí kvízem

- ▶ mezi nejčastěji deregulované signální transdukce cizorodými látkami patří: ( ) doplň příklady drah
  1. signalizace ionty ( )
  2. signalizace spojená s oxidativním stresem a poškozením DNA ( )
  3. deregulace receptorové signalizace ( )
  4. deregulace buněčného dělení ( )
  5. deregulace mezibuněčné komunikace ( )
  6. deregulace signalizace vedoucí k zánětu ( )
  7. signalizace jadernými receptory

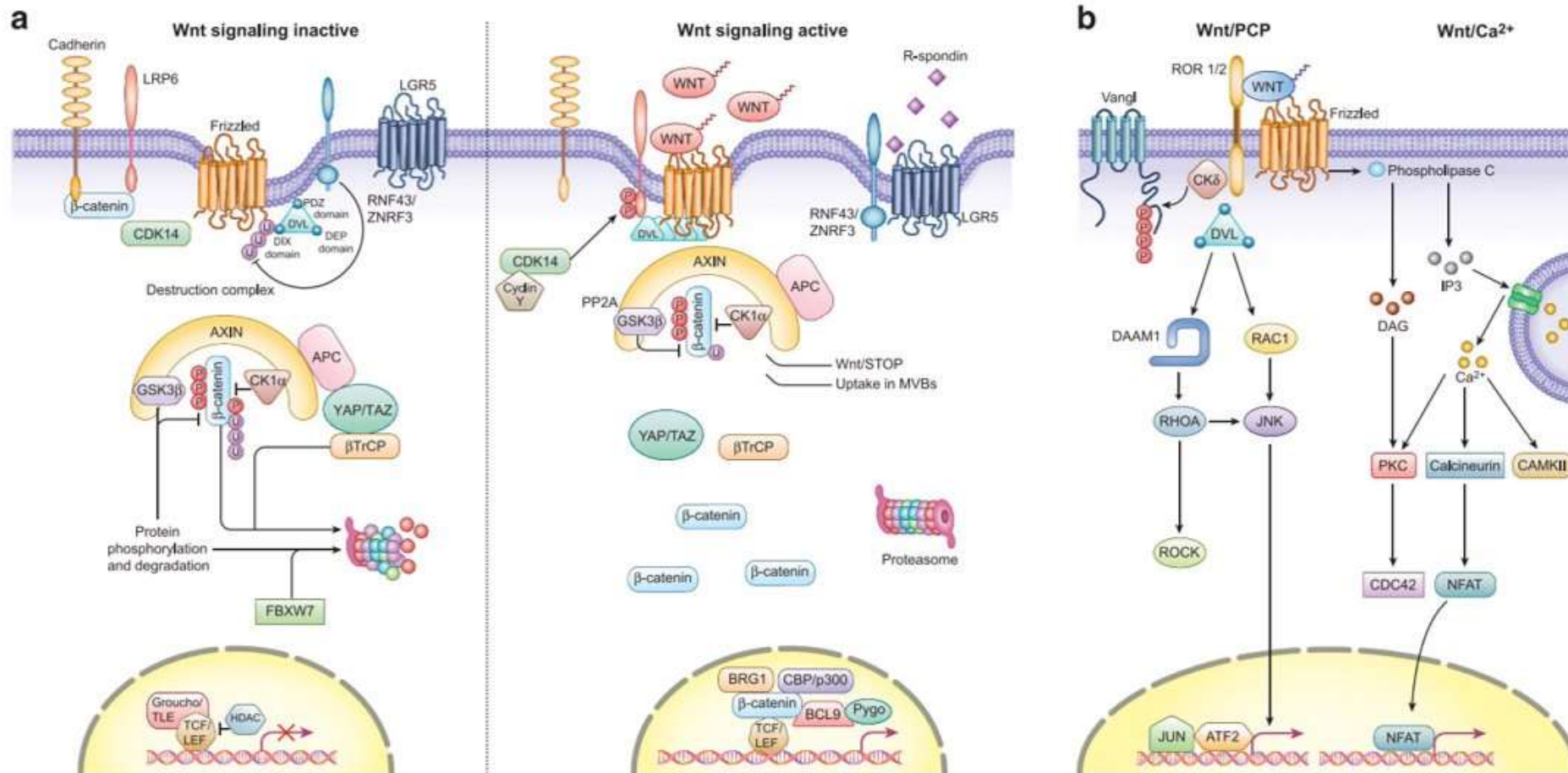
## **Obrazový rejstřík diskutovaných signálních drah**

# EGFR signalizace

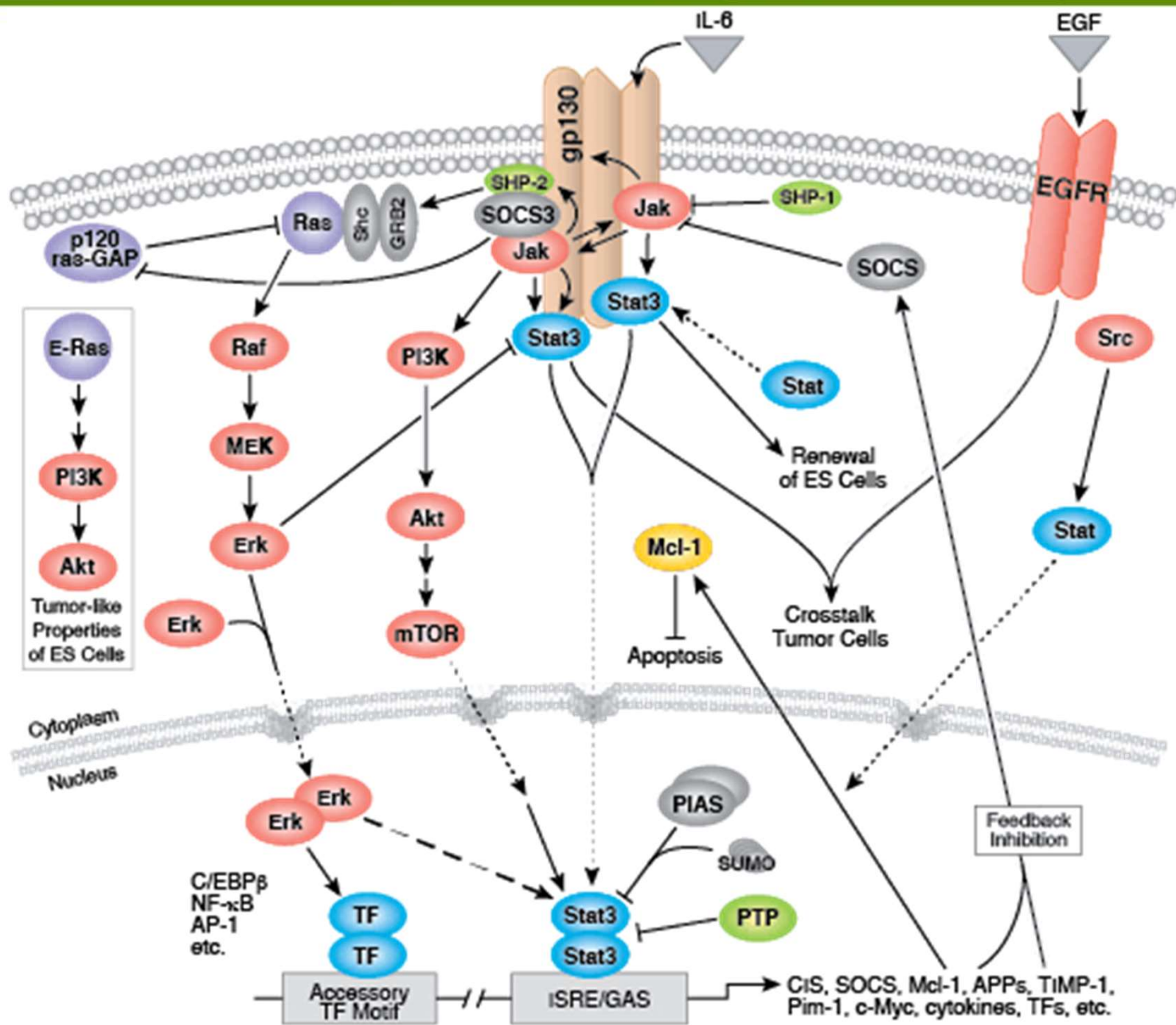




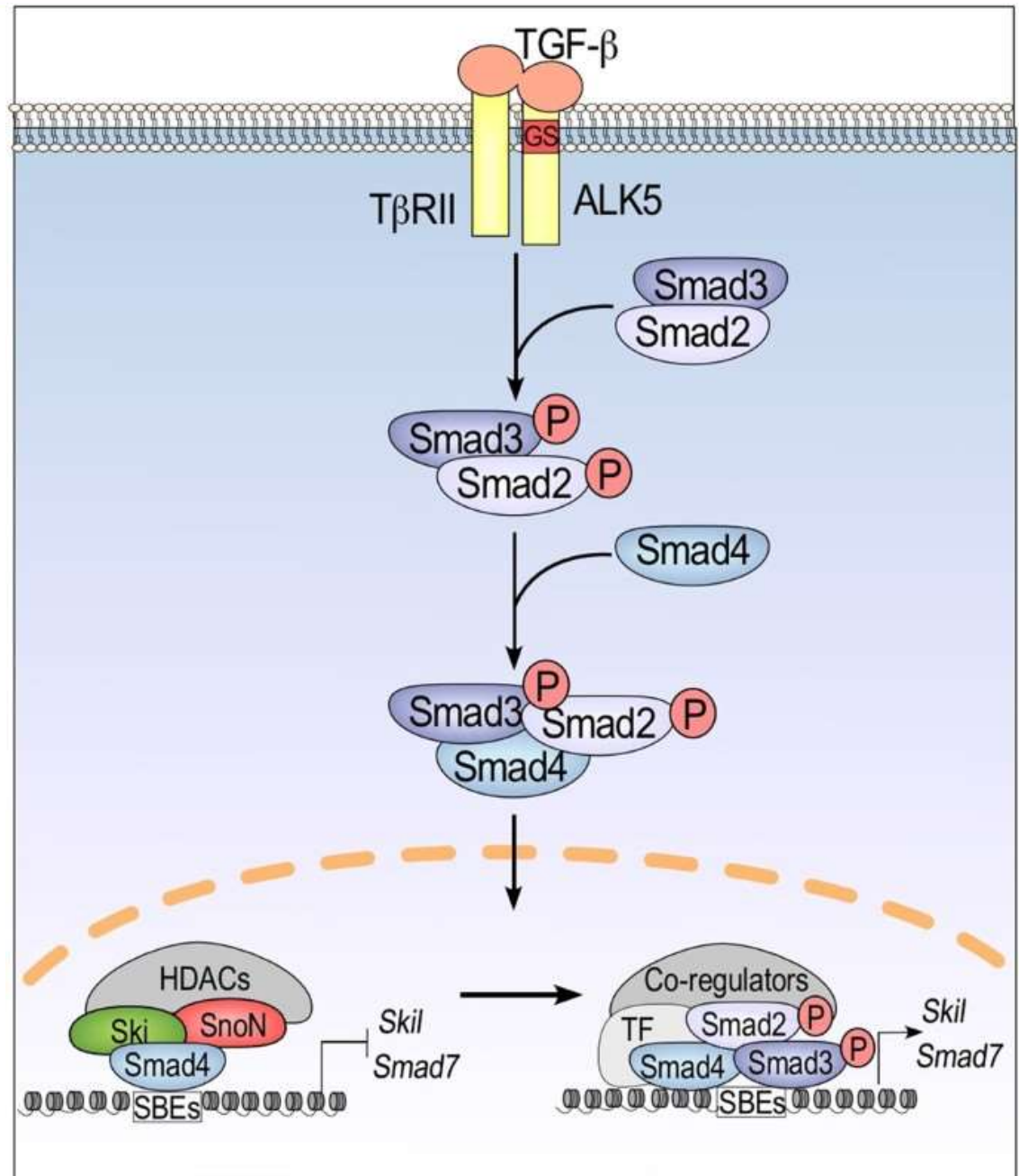
# Wnt signalizace



# IL-6/JAK-STAT signalizace



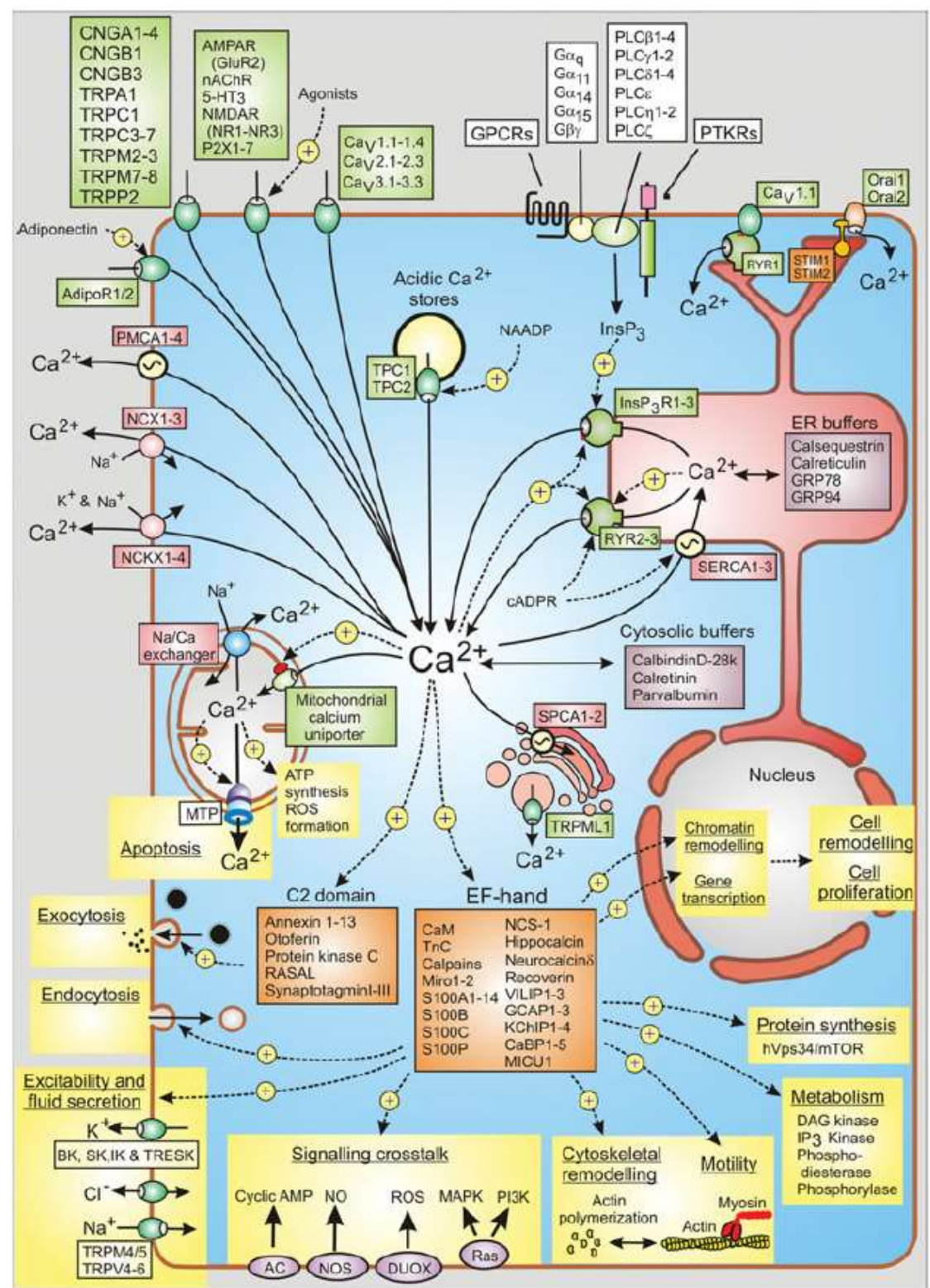
# TGFbeta/SMAD signaling



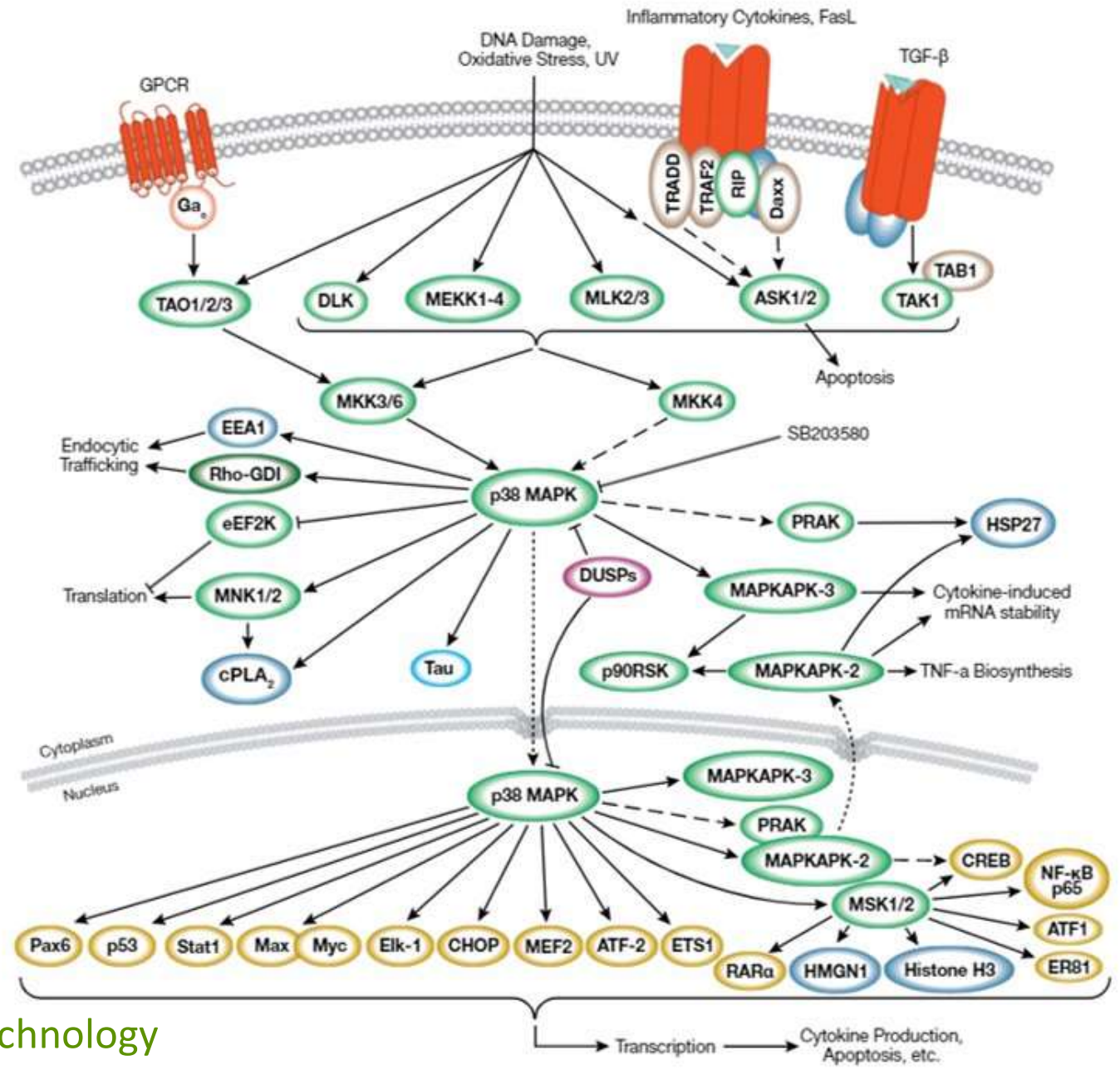
# Fyziologie působení farmak a toxických látek

## Signalizace ionty $Ca^{2+}$

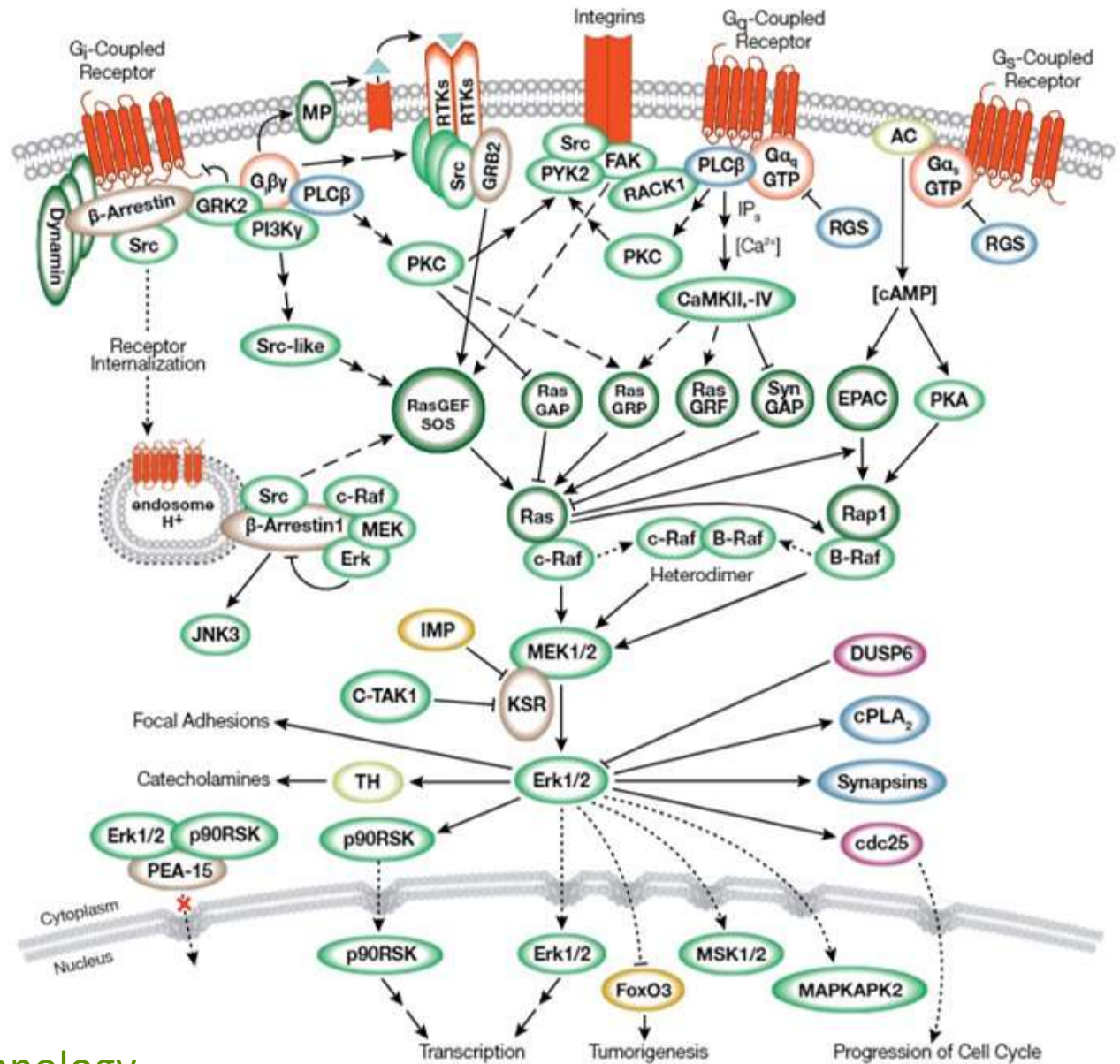
Berridge, 2012



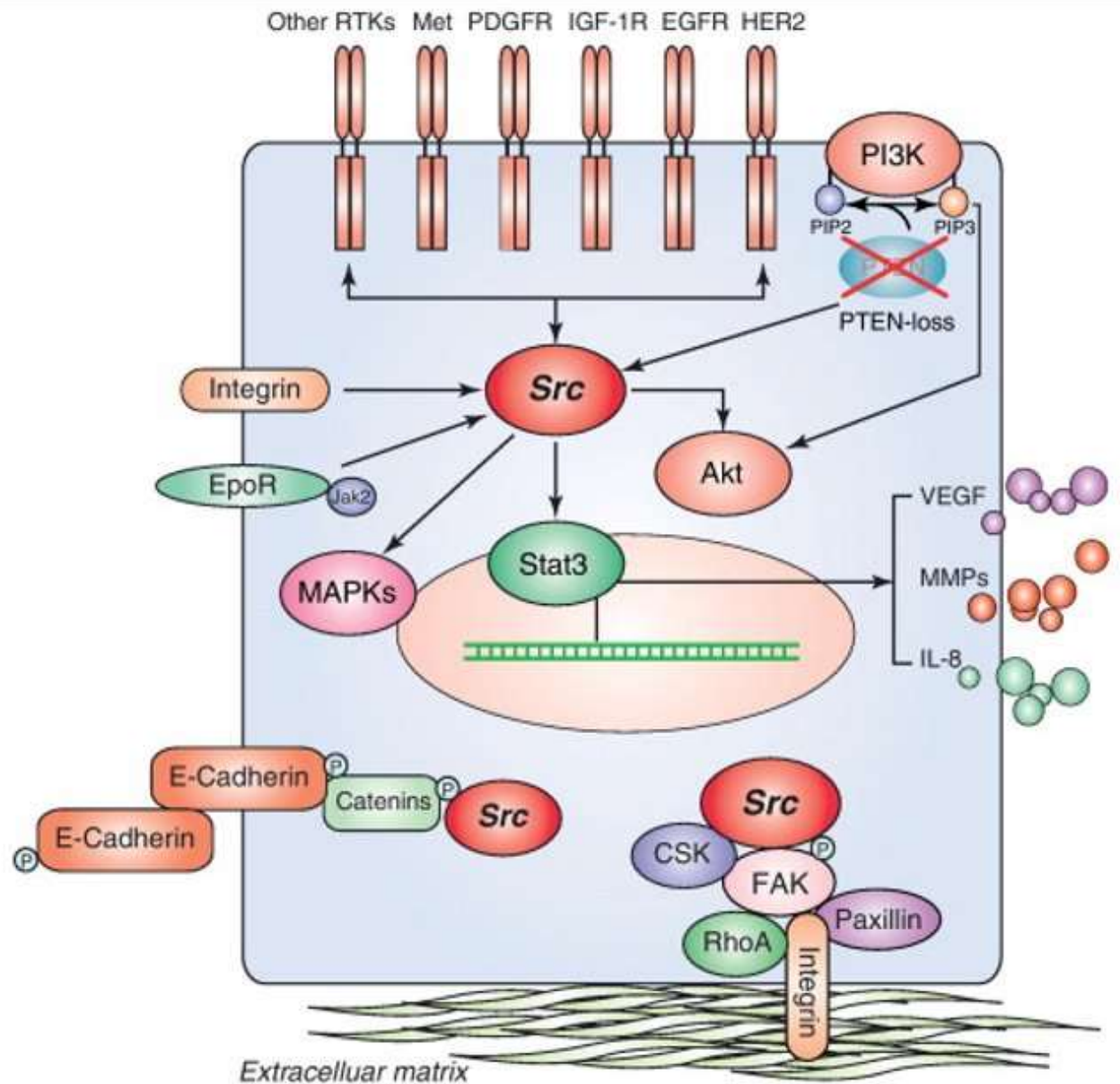
# MAPK/p38 signalizace



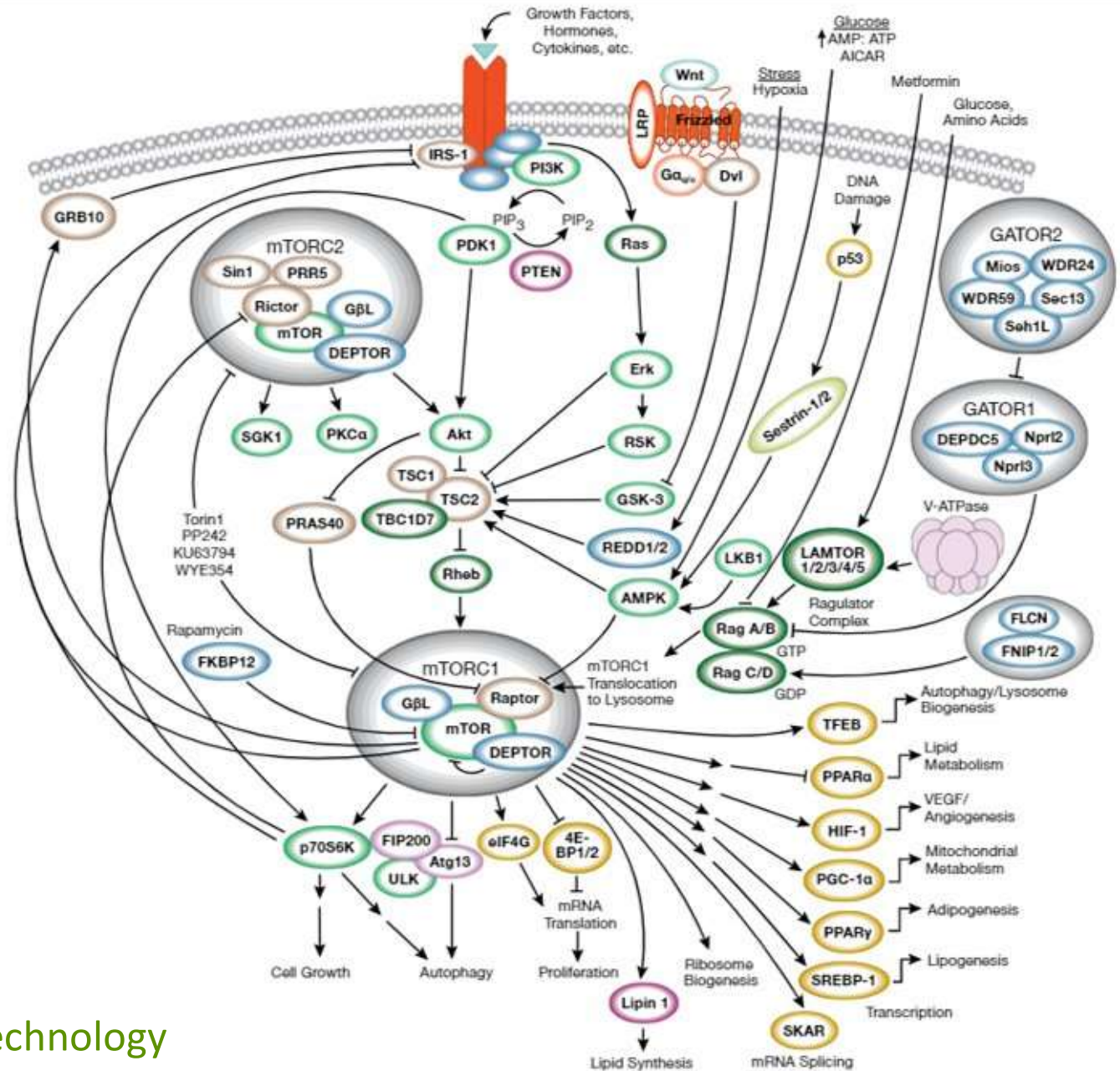
# MAPK/ERK kinázy



# Signální dráha SRC kinázy

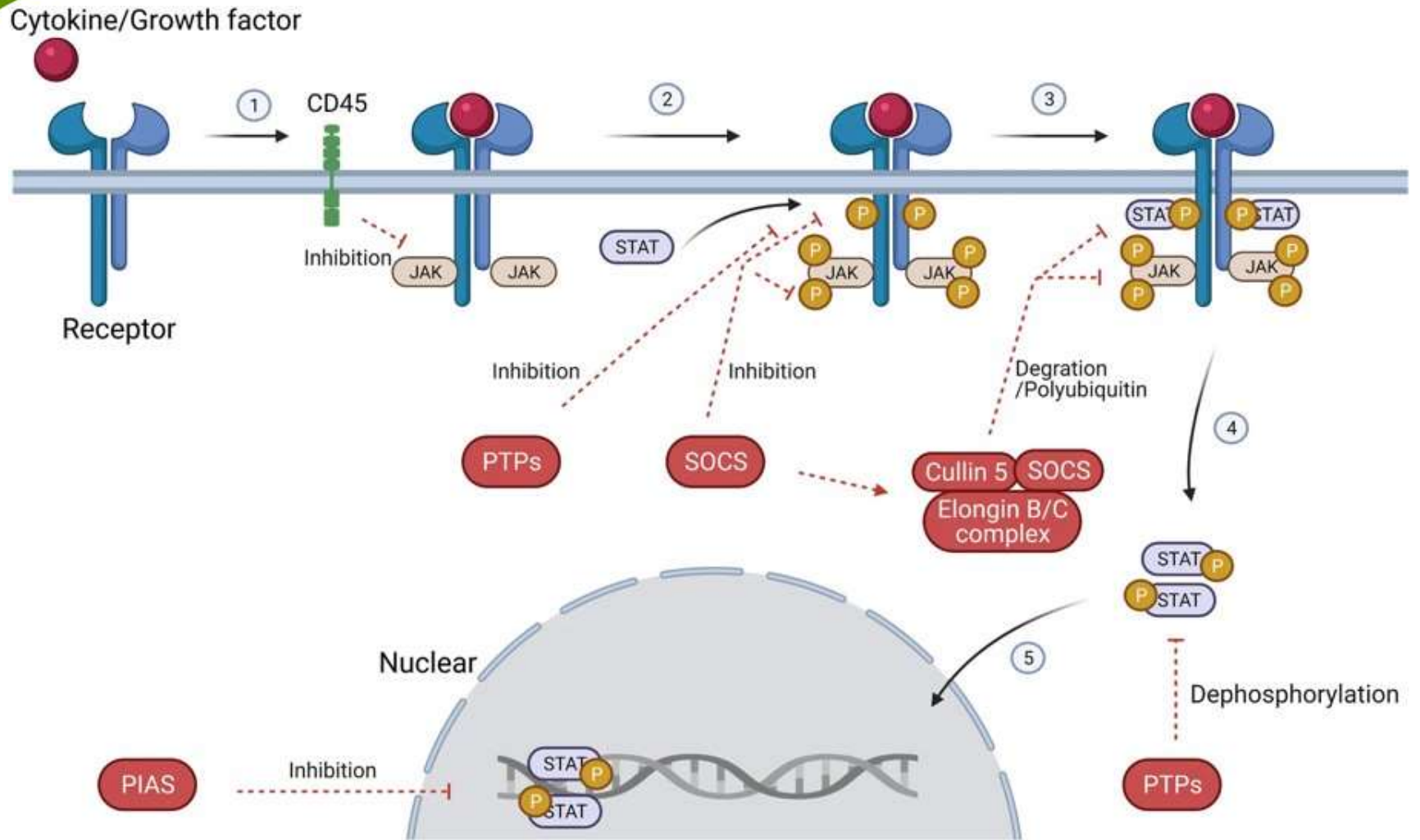


# mTOR signalizace

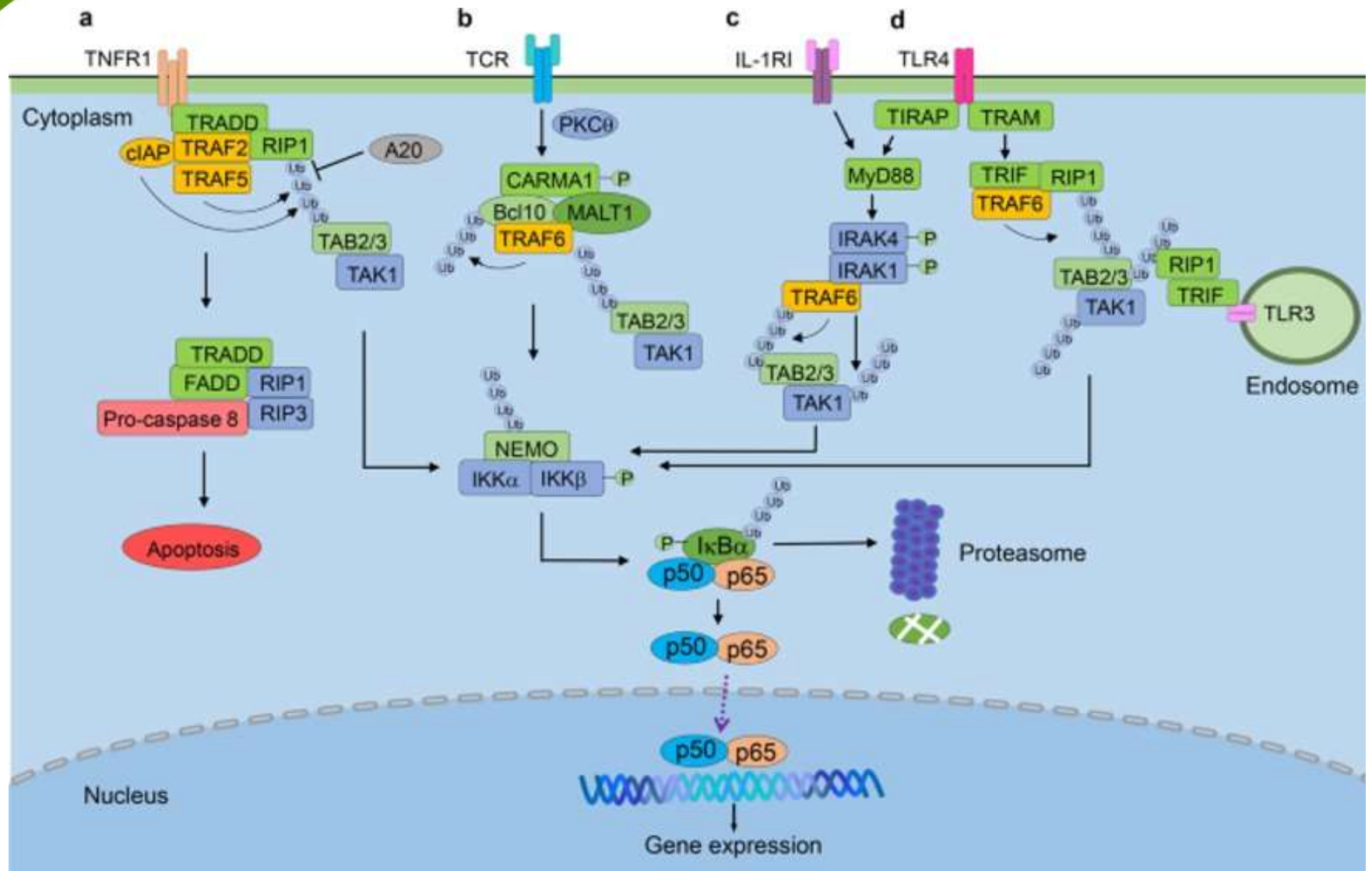




# JAK/STAT signalizace

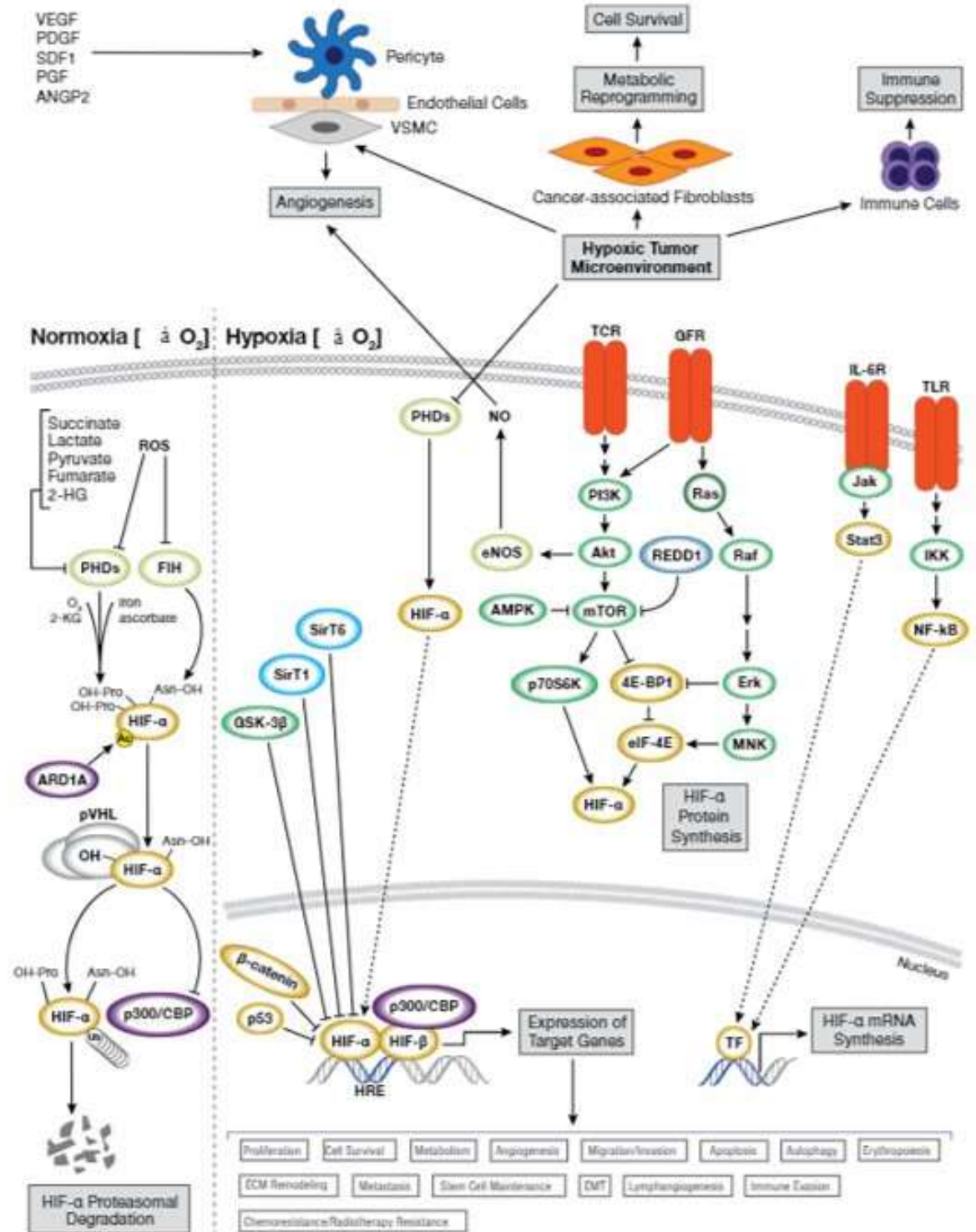


# NF- $\kappa$ B signalizace

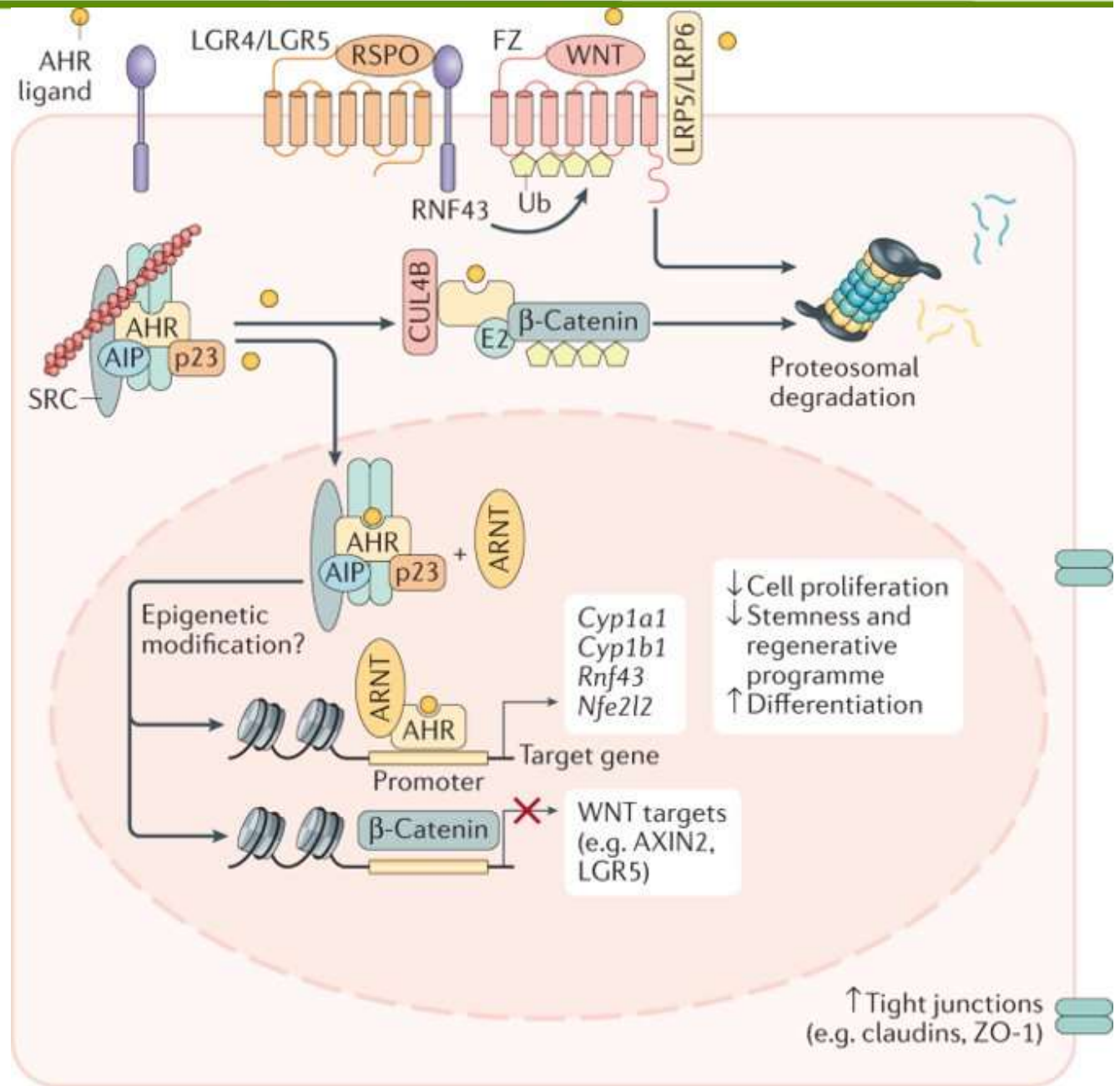


# Signalizace HIF1a

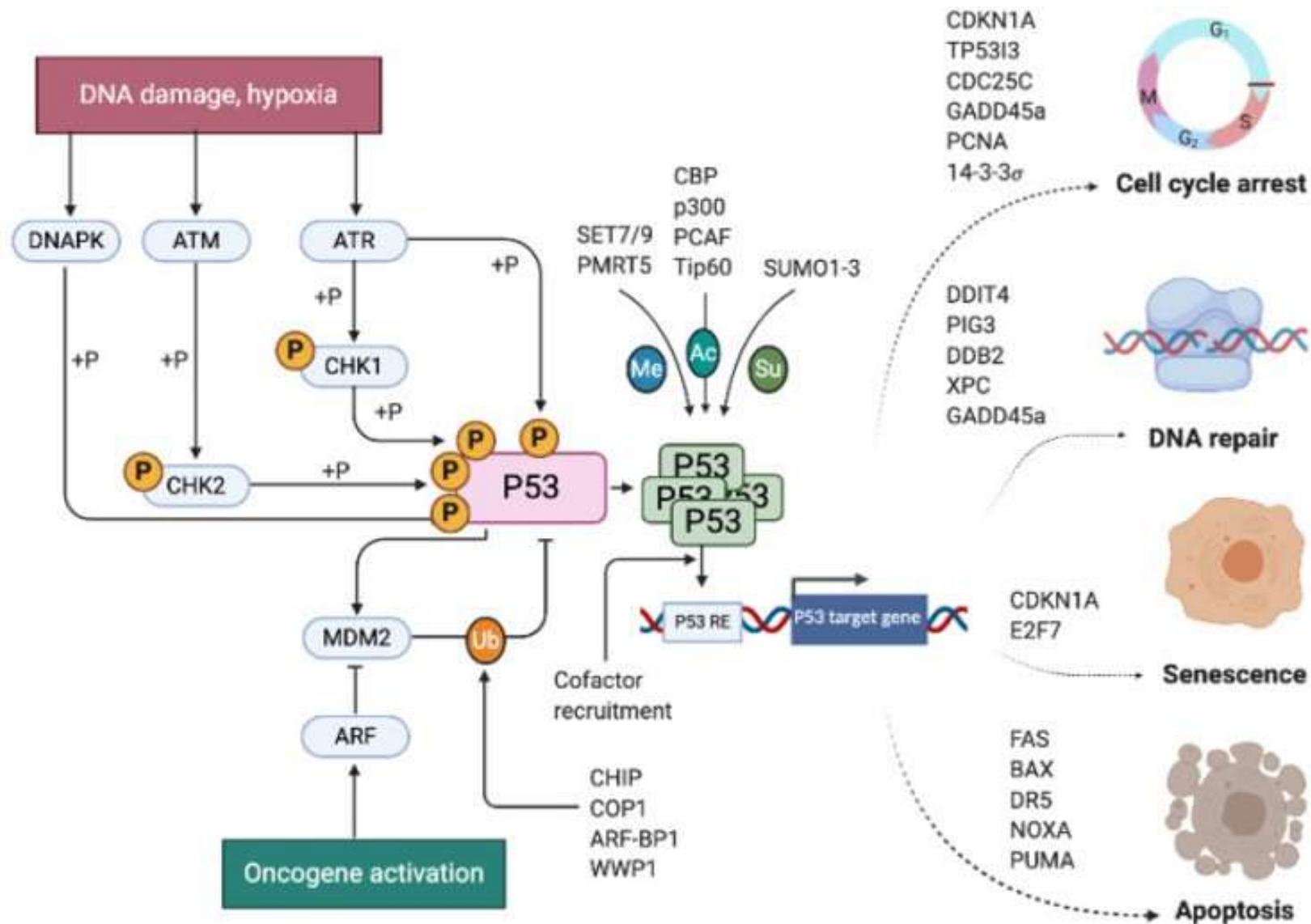
Cell Signaling Technology



# AhR signalizace



# p53 signalizace



# ER stres

